

SÔNIA MACHADO ROCHA RIBEIRO

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE
MANGAS (*Mangifera indica* L.) CULTIVADAS NO ESTADO DE MINAS
GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

R484c
2006

Ribeiro, Sônia Machado Rocha, 1957-

Caracterização e avaliação do potencial antioxidante de mangas (*Mangifera indica* L.) cultivadas no Estado de Minas Gerais / Sônia Machado Rocha Ribeiro.

– Viçosa : UFV, 2006

xv, 149f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: José Humberto de Queiroz

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Antioxidantes. 2. Polpa de frutas - Análise.
 3. Resíduos industriais. 4. Manga - Composição.
 5. Ensaio biológico. 6. Testes químicos e reagentes.
- I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 572.6

SÔNIA MACHADO ROCHA RIBEIRO

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE
MANGAS (*Mangifera indica* L.) CULTIVADAS NO ESTADO DE MINAS
GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 25 de agosto de 2006.

Prof^a. Maria do Carmo G. Peluzio
(Co-Orientadora)

Prof^a Maria Eliana L. R. de Queiroz
(Co-Orientadora)

Prof^a. Marli Lourdes de Oliveira

Prof^a. Maria Cristina de A. Barbosa

Prof. José Humberto de Queiroz
(Orientador)

O Senhor é o meu pastor, nada me falta.

Agradeço a Deus por tudo.

Especialmente por ter me dado dois talentos: a fé e a coragem, com os quais tenho conseguido superar as adversidades dessa vida.

Por ter colocado em meu caminho pessoas que me auxiliaram na minha caminhada durante os quatro anos de treinamento e com as quais fortaleci o aprendizado sobre a prática da bondade humana. Com elas divido algum êxito que, porventura, tenha este trabalho.

Por ter colocado em meu caminho pessoas que dificultaram a minha caminhada durante os quatro anos de treinamento e com as quais fortaleci o aprendizado sobre a humildade e a superação de limites.

Dedico à Brenda, à Carolina, ao Renan e ao Guido.

Aos meus pais (in memoriam); em especial ao papai, que de maneira serena e repentina voltou ao Pai e não me esperou terminar este trabalho para termos mais tempo de convivência.

Aos meus irmãos.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização dos cursos de graduação e de doutorado.

Ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela acolhida para o treinamento no curso de Bioquímica Agrícola.

Ao Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa, pelo apoio durante o meu afastamento.

À TIAL – Tropical Indústria de Alimentos em Visconde do Rio Branco e aos produtores de manga da ABANORTE em Janaúba, pela colaboração no fornecimento de amostras.

Ao Prof. José Humberto de Queiroz, pela orientação, pelo apoio, pela amizade, pelos ensinamentos e pela compreensão de minhas limitações.

Às professoras Maria do Carmo Gouveia Peluzio e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, pela amizade, pela colaboração, pelas valiosas sugestões, pelas informações técnicas e pela cessão de laboratórios e equipamentos.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, pela amizade, pela colaboração, pelos ensinamentos sobre identificação de compostos naturais, pela cessão de laboratório e equipamentos e, ainda, pela mediação na interação com o grupo de pesquisadores do Institute of Food Technology, na Alemanha.

Aos Drs. Andreas Schieber e Mathias Knödler, do Institute of Food Technology, Hohenheim University, na Alemanha, pela realização das análises por CL-EM.

À Profa. Helena Maria Pinheiro-Sant'Ana, pela amizade e cessão de laboratório e equipamentos.

Aos Profs. Efraim Lázaro Reis e Carlos Roberto Bellato, pela colaboração na determinação de minerais.

Às Profas. Sylvia do Carmo Franceshini e Silvia Eloiza Priore, pela amizade e pelos ensinamentos de estatística aplicada à área biológica.

Ao Prof. Flávio Couto d'Araújo, pelos ensinamentos sobre mangicultura no Brasil.

Aos seguintes pesquisadores da UFV, pela colaboração: Antônio Augusto Neves, Antônio Jacinto Demuner, Cláudio César Fonseca, Fátima Aparecida Ferreira Leite, George Henrique Kling de Moraes, Izabel Regina dos Santos Costa Maldonado, Luiz Carlos Chamhum Salomão, Maria Inês de Souza Dantas, Maurílio Alves Moreira, Neuza Maria Brunoro Costa, Paulo César Stringheta, Ricardo Natalino, Rita de Cássia Gonçalves Alfenas, Rolf Puschman, Rosângela Minardi Mitre Cotta, Sebastião Tavares de Rezende, Sérgio Luis Pinto da Matta, Tânia Toledo de Oliveira e Valéria Maria Vitarelli de Queiroz.

A todos que me receberam e me auxiliaram nos laboratórios e setores da UFV: Cassiano e Ricardo (DNS), Sr. Antônio, José Luiz, Viviane e Ricardo (DEQ), Adão e Juliano (Biotério), Dona Lígia e Valério (DTA) e Sr. Monteiro (DZO).

Às estagiárias do curso de Nutrição Daniela, Jakline, Hattane, Damiana, Monise, Isabela, Gardênia; ao Robson, estagiário do Laboratório LAQUA. Em especial, à Flávia Milagres Campos, pela ajuda nas análises em CLAE; e aos colegas de pós-graduação dos laboratórios LASA e Bioquímica da Nutrição e do curso de Bioquímica Agrícola, pelo excelente tempo de convívio.

Em especial, aos amigos: Silvia Ribeiro de Souza e Silva, pela amizade, pelo auxílio no laboratório e pela valiosa interação que estabelecemos para iniciar o nosso aprendizado sobre os testes antioxidantes; Anderson, Elisa, Jefferson e Patrícia, pela amizade, pelo apoio, pelo auxílio, pelo exemplo de bom senso, pela paciência em me ouvir nos momentos de desânimo e pelos momentos de alegria partilhados, os quais contribuíram para superar as dificuldades.

À minha família, pelo apoio, pelo estímulo e pela paciência durante os transtornos por minha ausência.

A todos aqueles que, no anonimato, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	x
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 A importância da mangicultura	1
1.2 A importância da agroindústria da manga (variedade Ubá) para a região da Zona da Mata mineira.....	3
1.3 Mangas como fonte de antioxidantes.....	4
1.4 O resíduo da agroindústria da manga Ubá	5
2 JUSTIFICATIVA.....	7
3 OBJETIVOS	8
3.1 Geral.....	8
3.2 Específicos	8
4. REFERÊNCIAS.....	9
CAPÍTULO 1	
CARACTERIZAÇÃO DAS QUATRO VARIEDADES DE MANGA CULTIVADAS EM MINAS GERAIS.....	12
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Origem da mangicultura e a produção de mangas no Brasil.....	12
1.2 O estágio de maturação como fator de influência no potencial antioxidante de frutas	14
2. OBJETIVOS	15
2.1 Geral.....	15
2.2 Específicos	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Coleta de matéria-prima	16
3.2 Caracterização da matéria-prima.....	17
3.2.1 Peso total e das partes dos frutos	17
3.2.2 Firmeza da polpa.....	18

	Página
3.2.3 Teor de sólidos solúveis totais – SST	18
3.2.4 Cor	19
3.2.5 Composição química centesimal	19
3.3 Amostragem	19
3.4 Preparo e acondicionamento das amostras para as análises subseqüentes.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Caracterização da matéria-prima.....	20
4.1.1 Tamanho e rendimento dos frutos	20
4.1.2 Firmeza	21
4.1.3 Sólidos solúveis totais - SST	22
4.1.4 Cor	22
5. CONCLUSÃO	23
6. REFERÊNCIAS.....	24
CAPÍTULO 2	
QUANTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES ANTIOXIDANTES NA POLPA DAS VARIEDADES DE MANGA	
	27
1 INTRODUÇÃO	27
1.1 A importância dos antioxidantes da dieta	27
1.2 Compostos antioxidantes da dieta.....	29
1.2.1 Antioxidantes presentes em alimentos vegetais.....	29
1.2.2 Ácido ascórbico	30
1.2.3 Tocoferóis	30
1.2.4 Carotenóides	31
1.2.5 Compostos fenólicos.....	33
1.2.6 Minerais antioxidantes.....	34
1.2.7 Outras vitaminas	35
1.3 A importância dos estudos de composição das frutas em constituintes antioxidantes	35
2 OBJETIVOS	38
3 MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1 Reagentes	38
3.2 Determinação analítica.....	38
3.2.1 Estimativa do teor de fenólicos totais	38
3.2.2 Quantificação de β -caroteno.....	39
3.2.3 Estimativa de carotenóides totais.....	40
3.2.4 Quantificação de ácido ascórbico (AA) e ácido desidroascórbico (ADA).....	40
3.2.5 Quantificação dos minerais antioxidantes	41
3.2.5.1 Digestão	41
3.2.5.2 Quantificação	42
3.3 Análise estatística.....	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 Teor de fenólicos totais	43
4.2 Teores de β -caroteno e de carotenóides totais	44
4.3 Teores de ácido ascórbico e ácido desidroascórbico.....	47
4.4 Teores de minerais antioxidantes	48

	Página
5 VALOR NUTRICIONAL DA MANGA EM CONSTITUINTES ANTIOXIDANTES.....	51
6 CONCLUSÃO	54
7 REFERÊNCIAS.....	54
CAPÍTULO 3.....	62
POTENCIAL ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> DA POLPA DAS QUATRO VARIEDADES DE MANGA.....	62
1 INTRODUÇÃO	62
2 OBJETIVOS	63
3 MATERIAL E MÉTODOS	64
3.1 Reagentes	64
3.2 Obtenção dos extratos	64
3.3 Avaliação do potencial antioxidante	64
3.3.1 Teste do DPPH.....	64
3.3.2 Teste do Poder Redutor (PR).....	65
3.4 Análise estatística.....	65
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.1 Atividade de retirada de radical pelo teste do DPPH.....	65
4.2 Poder redutor.....	68
5 CONCLUSÃO	70
6 REFERÊNCIAS.....	71
CAPÍTULO 4	
IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIS E DE XANTONA NA POLPA DAS QUATRO VARIEDADES DE MANGA.....	73
1 INTRODUÇÃO	73
1.1 A importância dos estudos sobre a composição dos alimentos em compostos fenólicos para a pesquisa sobre antioxidantes da dieta.....	73
1.2 Estudos sobre a composição da polpa de mangas em compostos fenólicos	76
2 OBJETIVOS	77
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	78
3.1 Amostras	78
3.2 Padrões	78
3.3 Preparo de amostras para análise por CLAE-EM	78
3.4 Análises em CLAE.....	79
3.5 Análise em CL-EM	79
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
5 CONCLUSÃO	83
6 REFERÊNCIAS.....	83
CAPÍTULO 5.....	86
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE <i>IN VIVO</i> DA POLPA DE MANGA (variedade Ubá).....	86
1 INTRODUÇÃO	86
1.1 Potencial antioxidante <i>in vivo</i> de compostos da dieta.....	86

	Página
1.2 Sinergismo.....	87
1.3 Estudos sobre o potencial antioxidante de frutas <i>in vivo</i>	88
1.4 Métodos e marcadores bioquímicos para o estudo biológico sobre antioxidantes	89
1.5 Indução do estresse oxidativo por fármacos utilizando animais como modelos experimentais.....	91
2 JUSTIFICATIVA.....	92
3 OBJETIVOS	92
3.1 Geral.....	92
3.2 Específicos	92
3.2.1 Modelo experimental 1	92
3.2.2 Modelo experimental 2	92
4. MODELO EXPERIMENTAL 1	93
4.1 Material e métodos.....	93
4.1.1 Animais.....	93
4.1.2 Dietas experimentais.....	93
4.1.3 Desenho experimental.....	95
4.1.4 Parâmetros avaliados	96
4.1.4.1 Ganho de peso corporal e consumo alimentar	96
4.1.4.2 Parâmetros bioquímicos.....	97
4.1.4.3 Determinação da concentração de proteínas.....	98
4.1.5 Estatística	98
4.2 Resultados e discussão	98
4.2.1 Ganho de peso e consumo alimentar	98
4.2.1.1 Ganho de peso.....	98
4.2.1.2 Consumo	98
4.2.2 Efeitos do diclofenaco nas funções renal e hepática e no marcador de estresse oxidativo dos grupos -controle.....	100
4.2.2.1 Uréia.....	100
4.2.2.2 Alanina aminotransferase- ALT.....	101
4.2.2.3 Marcador de estresse oxidativo.....	102
4.2.3 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre a uréia sérica	105
4.2.4 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre a alanina aminotransferase sérica.....	106
4.2.5 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre os níveis de malondialdeído no soro.....	108
4.2.6 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de rim.....	111
4.2.7 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre os níveis de malondialdeído no fígado.....	114
4.3 Discussão final	117
4.4 Conclusão.....	119
5 MODELO EXPERIMENTAL 2.....	119
5.1 Material e métodos.....	119
5.1.1 Animais.....	119
5.1.2 Dietas experimentais.....	120
5.1.3 Desenho experimental.....	121

	Página
5.1.4 Parâmetros avaliados	121
5.1.4.1 Consumo alimentar	121
5.1.4.2 Parâmetros bioquímicos	122
5.1.5 Estatística	122
5.2 Resultados e discussão	123
5.2.1 Consumo alimentar, peso dos animais e efeitos do paracetamol e da suplementação de manga sobre o consumo alimentar e os parâmetros bioquímicos séricos.....	123
5.2.2 Efeitos do paracetamol e da suplementação da dieta com manga sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de fígado	125
5.3 Conclusões	127
6 REFERÊNCIAS	127
CAPÍTULO 6	
POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO DA AGROINDÚSTRIA DA MANGA (<i>Mangifera indica</i>, L.), VARIEDADE UBÁ.....	133
1 INTRODUÇÃO	133
2 MATERIAL E MÉTODOS	135
2.1 Reagentes	135
2.2 Coleta e preparo de amostras	135
2.3 Rendimento do resíduo	135
2.4 Composição química centesimal dos farelos do resíduo.....	135
2.5 Identificação e quantificação dos glicosídeos de flavonóis e de xantonas na casca e na semente da manga Ubá	136
2.5.1 Preparo de amostras	136
2.5.2 Análise por CLAE e CL-EM	136
2.5.3 Análises por CL- EM.....	137
2.6 Atividade antioxidante	137
2.6.1 Eliminação do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH [•]).....	137
2.6.2 Teste do poder redutor (PR).....	138
2.7 Análise estatística.....	138
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	138
3.1 Rendimento do resíduo	138
3.2 Composição química centesimal dos farelos do resíduo.....	139
3.3 Identificação e quantificação dos glicosídeos de flavonóis e de xantonas.....	140
3.4 Atividade antioxidante	142
3.4.1 Teste do DPPH.....	142
3.4.2 Teste do Poder Redutor (PR)	142
4 DISCUSSÃO	143
5 CONCLUSÃO	145
6 REFERÊNCIAS	145
APÊNDICE	148

RESUMO

RIBEIRO, Sônia Machado Rocha, D.S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2006. **Caracterização e avaliação do potencial antioxidante de mangas (*Mangifera indica* L.) cultivadas no Estado de Minas Gerais.** Orientador: José Humberto de Queiroz. Co-Orientadores: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, Maria do Carmo Gouveia Peluzio e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

A mangicultura é uma importante atividade econômica nos âmbitos nacional e internacional. A agroindústria da manga é também um setor em crescimento nos mercados interno e externo, e a expectativa dos produtores é de ampliação do mercado consumidor. Para isso, a divulgação de informações relacionadas ao valor nutricional e funcional da manga pode agregar valor à fruta e aos seus produtos, resultando em aumento de consumo e de competitividade no mercado. A polpa de manga apresenta potencial para ser uma ótima fonte dietética de antioxidantes, por apresentar em sua composição carotenóides, ácido ascórbico e compostos fenólicos, os quais são moléculas com função antioxidante no meio biológico. Também os resíduos da agroindústria da manga, constituídos de casca e caroço, possuem compostos fenólicos que atribuem a eles a propriedade de serem uma fonte de antioxidantes, destinados a usos diversos. Entretanto, não foram identificados trabalhos na literatura enfocando o potencial antioxidante da polpa e de resíduos de mangas cultivadas no Brasil. Assim, foi proposto um estudo sobre o potencial antioxidante da polpa de quatro variedades de manga de valor comercial (Haden, Palmer, Tommy Atkins e Ubá), cultivadas em Minas Gerais, e do resíduo da agroindustrial da manga da variedade Ubá. O estudo foi

desenvolvido com as mangas no estágio maduro, por meio da quantificação de constituintes antioxidantes (ácido ascórbico, carotenóides totais, β -caroteno, fenólicos totais), dos testes de atividade antioxidante *in vitro* e dos ensaios biológicos, utilizando-se ratos *wistar*. Utilizaram-se mangas no estágio maduro, sendo os frutos caracterizados em firmeza e a polpa em sólidos solúveis totais e cor. Verificou-se que os teores de ácido ascórbico da polpa das mangas foram de 15,69; 9,79; 10,54 e 77,71 miligramas por 100 gramas para as variedades Haden, Tommy Atkins, Palmer e Ubá, respectivamente. As mangas Haden e Tommy Atkins apresentaram teores de ácido ascórbico estatisticamente iguais; entre as demais variedades, houve diferença estatística no teor da vitamina. O teor de carotenóides totais variou de 1,91 a 2,63 microgramas por 100 gramas, e não houve diferença significativa entre as variedades Tommy Atkins, Palmer e Ubá; a manga Haden apresentou teor de carotenóides totais estatisticamente menor do que o das demais. Os teores de β -caroteno diferiram estatisticamente entre as quatro variedades, sendo de 888,00; 608,39; 661,27 e 2.221,00 microgramas por 100 gramas para as variedades Haden, Tommy Atkins, Palmer e Ubá, respectivamente. Os teores de fenólicos totais diferiram entre as quatro variedades e foram de 62,10; 48,40; 128,20 e 208,70 miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas para as mangas Haden, Tommy Atkins, Palmer e Ubá, respectivamente. Os teores de zinco variaram de 0,249 a 0,330 miligramas por 100 gramas de polpa e foram estatisticamente iguais entre as quatro variedades. Não houve diferença estatística entre os teores de ferro, que variaram de 0,121 a 0,298 miligramas por 100 gramas de polpa. Os teores de cobre variaram de 0,081 a 0,097 microgramas por 100 gramas, e Palmer e Ubá apresentaram teores estatisticamente iguais (0,083 e 0,081 microgramas por 100 gramas, respectivamente); Haden apresentou teor mais elevado (0,097 micrograma por 100 gramas); e Tommy Atkins, teor estatisticamente menor (0,077 micrograma por 100 gramas). Todas as quatro variedades apresentaram potencial antioxidante nos testes químicos, mas houve diferença significativa entre as variedades, sendo a manga Ubá superior nos testes. Verificou-se diferença entre as variedades de mangas quanto ao teor de quercetina, mangiferina e kaempferol. A mangiferina foi detectada na polpa das variedades Ubá, Haden e Tommy Atkins; a quercetina, apenas nas variedades Ubá e Haden; e o Kaempferol, apenas na variedade Ubá. Nos ensaios biológicos, verificou-se que a suplementação da ração comercial de ratos *wistar* com polpa de manga liofilizada a 10% resultou em aumento do marcador de peroxidação de lipídio, avaliado pelo teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, tanto na ausência quanto na presença do

estresse oxidativo induzido por diclofenaco, sugerindo a ocorrência do efeito prooxidante. Nos ensaios biológicos com a suplementação da ração AIN-G com polpa de manga liofilizada a 3%, observou-se redução da peroxidação de lipídios, evidenciando o efeito antioxidante, na presença e ausência do estresse oxidativo induzido por paracetamol. Os resíduos da agroindústria da manga Ubá apresentaram teor de fenólicos totais por quilo de matéria seca de 48,95 miligramas de equivalentes de ácido gálico na casca e de 68,45 miligramas de equivalentes de ácido gálico no caroço. A casca e a semente contêm mangiferina nas concentrações de 270,5 e 46,5 miligramas por quilo de material seco, respectivamente. A casca contém quercetina na quantidade de 785,3 miligramas por quilo de material seco e kaempferol na quantidade de 35,3 miligramas por quilo de material seco. Os extratos hidroalcoólicos dos resíduos mostraram potencial antioxidante comparável ao dos antioxidantes butil-hidroxianisol – BHA e ácido gálico.

ABSTRACT

RIBEIRO, Sônia Machado Rocha, D.S., Universidade Federal de Viçosa, August 2006.
Characterization and evaluation of antioxidant potential of mango (*Mangifera indica* L.) growing in Minas Gerais. Advisor: José Humberto de Queiroz.
Co-Advisors: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, Maria do Carmo Gouveia Peluzio and Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

Mango culture is an important economic activity both at national and international level. Mango agro-industry is also a growing sector in domestic and foreign markets, and producers' expectation is of expanding the consuming market. Diffusion of information concerning mango nutritional and functional values, therefore, can add value to the fruit and byproducts, resulting in increased consumption and market competitiveness. Mango pulp has potential for becoming an excellent dietary antioxidant source, having in its composition molecules with biological antioxidant activities such as carotenoids, ascorbic acid and phenolic compounds. Also, mango agro-industrial residues, peel and seed, have the same phenolic compounds making them antioxidant sources for a range of uses. However, there is lack of works in the literature on the antioxidant potential of pulp and residues from mangos cultivated in Brazil. This work investigated the antioxidant potential of pulp of four commercial mango cultivars cultivated in Minas Gerais and the agro-industrial residues from cultivar Ubá. The study was carried out through the quantification of antioxidant compounds (ascorbic acid, total carotenoids, β -carotene, total phenolics), *in vitro* antioxidant activity tests, and biological assays using Wistar rats. Ripe fruits,

characterized by pulp firmness, total soluble solids and color, were used for the assays. It was found that the levels of ascorbic acid in pulp were 15.69; 9.79; 10.54 and 77.71 mL per 100 g of pulp for varieties Haden, Tommy Atkins, Palmer and Ubá, respectively. There was no significant difference between varieties Haden and Tommy Atkins for ascorbic acid content, while the other varieties were statistically different for this parameter. Total carotenoids varied from 1.91 to 2.63 μg per 100 g, with no significant difference among varieties Tommy Atkins, Palmer and Ubá; variety Haden gave total carotenoids content significantly lower than the others. The β -carotene contents were significantly different among the four varieties, with values of 888; 608.39; 661.27 and 2,221 μg per 100 g for varieties Haden, Tommy Atkins, Palmer and Ubá, respectively. Total phenolics differed among the four varieties with values of 62.1; 48.4; 128.2 and 208.7 mg of gallic acid equivalent per 100 g of pulp for varieties Haden, Tommy Atkins, Palmer and Ubá, respectively. Zinc contents ranged from 0.249 to 0.33 mg per 100 g of pulp, with no significant differences among the four varieties. There were no significant differences among iron contents, ranging from 0.121 to 0.298 mg per 100 g of pulp. Copper contents ranged from 0.081 to 0.097 μg per 100 g of pulp, with no significant differences between Palmer and Ubá (0.083 and 0.081 μg per 100 g of pulp, respectively); Haden gave higher level (0.097 μg per 100 g of pulp) and Tommy Atkins gave significant lower level (0.077 μg per 100 g). All the four varieties showed antioxidant potential in the chemical tests, but there was significant difference among varieties, with variety Ubá being superior. There was difference regarding the contents of quercetin, mangiferin and kaempferol. Mangiferin was detected in pulp of varieties Ubá, Haden and Tommy Atkins; quercetin was only detected in varieties Ubá and Haden; and kaempferol only in variety Ubá. Biological assays showed that supplementation of commercial ration for *wistar* rats with lyophilized mango pulp at 10% resulted in increase of lipid peroxidation marker, evaluated by the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test, both in the absence and the presence of oxidative stress induced by diclofenac, suggesting the occurrence of pro-oxidant effect. The biological assays with supplementation of AIN-G ration with lyophilized mango pulp at 3% showed reduction in lipid peroxidation, demonstrating the antioxidant effect, in the absence and the presence of oxidative stress induced by paracetamol. Total phenolics of agroindustry residues of variety Ubá were 48.95 mg gallic acid equivalent/kg DM (kilogram of dry matter) in skin and 68.45 mg

gallic acid equivalent per kg DM in seed. Skin and seed contain mangiferin in the concentration of 270.5 mg kg⁻¹ DM and 46.5 mg kg⁻¹ DM, respectively. The skin contains quercetin at 785.3 mg kg⁻¹ DM and kaempferol at 35.3 mg kg⁻¹ DM. Hydroalcoholic extracts of residues showed antioxidant potential comparable to butylhydroxyanisole (BHA) and gallic acid.

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 A importância da mangicultura

As frutas são de grande importância mundial no que se refere aos aspectos social, econômico e alimentar. Atualmente, a fruticultura tropical vem se destacando como uma das alternativas para o desenvolvimento regional, o que requer pesquisas para o conhecimento das variedades mais recomendadas para o plantio, das práticas de cultivo, da fisiologia pós-colheita dos frutos e do melhoramento de espécies para serem cultivadas em larga escala (EMBRAPA, 2000). A fruticultura é uma atividade econômica em expansão, com estimativa de produção mundial de frutas tropicais, em 2003, de aproximadamente 64 milhões de toneladas, o que equivale a um aumento de 25% em relação ao ano de 2002 (FAO, 2005). O Brasil se destaca mundialmente (FAOSTAT, 2004), com uma produção de frutas que aumentou de 11,5 milhões de toneladas em 1973 para 36 milhões em 2002 (EMBRAPA, 2004). Sob o aspecto alimentar, as frutas apresentam valor nutricional de destaque, como fonte de minerais, vitaminas e fibras, além de conterem fitoquímicos, cuja ingestão se relaciona positivamente com a saúde (PARR; BOLWELL, 2000).

Com uma produção mundial crescente (Tabela 1), a manga (*Mangifera indica* L., Anarcadiaceae) representa uma das mais importantes frutas tropicais (FAOSTAT, 2004). Sua produção é bastante concentrada, visto que mais de 60% do total é produzido em regiões da Índia, China, México, Tailândia e Filipinas (EMBRAPA, 2004).

Tabela 1 – Produção de manga em toneladas e área colhida em hectares no período de 1997 a 2004

Ano	Produção (t)		Área colhida (ha)	
	Brasil	Mundial	Brasil	Mundial
1997	508.350	23.668.195	64.726	2.864.562
1998	468.593	22.618.667	66.838	3.219.463
1999	456.465	23.607.564	61.213	3.286.785
2000	538.301	24.746.123	67.590	3.502.761
2001	782.308	24.979.600	67.226	3.471.637
2002	842.349	26.459.456	66.676	3.632.200
2003	925.018*	27.050.305	67.000	3.679.317
2004	850.000	26.573.579	68.000	3.690.180

* Valor ajustado conforme dados de produção brasileira por região geográfica.

Fonte: Agriannual (2006).

O Brasil, apesar de apresentar uma produção anual comparativamente pequena em relação ao total mundial, destaca-se entre os principais países exportadores (Tabela 2). Houve expansão da exportação nos últimos anos, passando de 4 mil toneladas em 1991 para 138 mil em 2003. Na classificação mundial, o Brasil está entre os quatro maiores países exportadores de manga, tanto em volume quanto em valor negociado. O comércio de manga no Brasil vem apresentando uma taxa de crescimento médio anual de 27,06% nas exportações, estando acima da média mundial, de 13,45% (EMBRAPA, 2004).

Tabela 2 – Principais países exportadores de manga no período de 2000 – 2003

País	2000	2001	2002	2003
México	206.782	194.540	194.591	216.316
Índia	39.274	46.232	41.577	179.179
Brasil	67.172	94.291	103.598	138.189
Holanda	34.477	42.543	33.020	57.610
Filipinas	40.031	38.523	36.206	38.436
Outros	234.461	238.083	254.234	289.269

Fonte: Agriannual (2006).

Apesar da perspectiva promissora do comércio externo, a manga do Brasil tem no mercado interno o principal destino para o consumo da produção. No mercado nacional, a manga é comercializada predominantemente na forma *in natura* e, em menor escala, como suco e polpa congelada. Com a expansão da área plantada no Brasil, há perspectivas de aumento superior a 2,8 vezes do volume de manga comercializado no mercado interno. Essa produção adicional poderá provocar queda nos preços da manga

no mercado interno, e, para evitar a inviabilidade da exploração da mangicultura, é necessário adequar a produção às exigências dos mercados nacional e internacional, além de promover a expansão da agroindústria da manga (EMBRAPA, 2004).

A política de planejamento das associações dos produtores e exportadores de mangas no Brasil apontou, na campanha de 2005, para o comércio de manga o interesse e a necessidade de ampliar mercados nos países da Europa. Dentre as estratégias para atingir os referidos mercados, destacou-se a associação de atributos de qualidade às mangas brasileiras em função da origem, enfatizando o valor nutricional das frutas (IBRAF, 2005).

1.2 A importância da agroindústria da manga (variedade Ubá) para a região da Zona da Mata mineira

Em paralelo à expansão do comércio de manga *in natura*, verifica-se, em nível mundial, o aumento da demanda por manga processada (FAO, 2005). A industrialização da manga é uma forma de diminuir perdas nos picos de safra e maximizar o aproveitamento do grande potencial da fruta através de produtos variados, incluindo: sucos, geléias, néctares, compotas e polpa (FONTES, 2002). Além disso, por ser uma fruta de alto valor nutritivo, é bastante vantajoso, sob o aspecto da saúde humana, viabilizar a oferta da fruta durante todo o ano, disponibilizando no mercado os produtos processados. A industrialização da manga possibilita ainda o aproveitamento de variedades com pouco valor comercial para o consumo humano, por não possuírem os atributos exigidos pelo consumidor, relacionados às características do fruto.

A exportação brasileira de frutas processadas mostra um perfil de crescimento nos últimos anos, passando de 1.284,7 toneladas de frutas processadas no ano de 1998 para 1.709,3 toneladas em 2004. No mercado interno, destaca-se o aumento do consumo de sucos de fruta (Tabela 3), que atende aos conceitos de praticidade, de saúde e de qualidade nutricional, observados nas tendências de consumo no país. A agroindústria de sucos no Brasil apresenta taxa de expansão anual superior a 15%, atraindo novos investimentos, inclusive estrangeiros (VILELA et al., 2006).

Um dos desafios na agroindústria da manga é conseguir produtos com sabor inalterado e com vida de prateleira que permita o consumo em períodos além da safra da fruta, possibilitando um preço adequado do produto para compensar o custo de produção. Para isso, a seleção de variedades que atendam a esses requisitos é de

extrema importância, já que muitas variedades de elevada aceitação para o consumo *in natura* não são adequadas ao processamento, pois modificam o sabor em tempo muito curto.

Tabela 3 – Evolução do consumo *per capita* no Brasil (kg/habitante/ano) de frutas processadas

Produto	Ano		
	1987	1996	2003
	Consumo <i>per capita</i> (kg por habitante por ano)		
Doce cristalizado	n.d.	n.d.	0,020
Doce em calda	0,140	0,132	0,073
Doce em pasta	0,465	0,307	0,297
Suco envasado	0,372	0,716	1,082

Fonte: Vilela et al. (2006).

A manga da **variedade Ubá** tem sido processada com grande sucesso por agroindústrias da Zona da Mata mineira para a fabricação de sucos e polpa, uma vez que a fruta apresenta excelentes características sensoriais (RAMOS et al., 2005).

A mangueira Ubá está presente em toda a região da Zona da Mata mineira, sendo uma variedade muito conhecida em todo o Estado. A fruta é pequena (100 a 150 g), oval, com casca amarelada quando madura e polpa firme, com fibras finas, curtas e macias (RAMOS et al., 2005). É consumida *in natura* apenas no mercado regional, mas tem mostrado grande potencial para ser aproveitada na agroindústria. Atualmente a variedade tem grande importância econômica para a região, que conta com várias agroindústrias.

1.3 Mangas como fonte de antioxidantes

Há um grande interesse atual, tanto do consumidor quanto do meio científico, no conhecimento da composição química das frutas, considerando as fortes evidências epidemiológicas que apontam os benefícios da ingestão de frutas na prevenção de doenças em seres humanos (BLOCK et al., 1992). Esses efeitos são atribuídos à presença de substâncias nutrientes e não-nutrientes fisiologicamente ativas, denominadas funcionais ou bioativos.

Os bioativos agem no organismo por mecanismos diversos, mas o efeito antioxidante tem sido um dos principais focos de interesse das pesquisas (AMES et al., 1993). As frutas contêm várias substâncias que têm potencial para fornecer proteção

antioxidante ao organismo humano: ácido ascórbico, carotenóides, compostos fenólicos e os minerais cobre, zinco, selênio, manganês, por serem constituintes de enzimas relacionadas aos mecanismos antioxidantes.

O conhecimento da composição das frutas em constituintes antioxidantes é indispensável, uma vez que existem variações nos teores destes, não só entre as espécies de frutas, mas também pode haver variabilidade significativa intra-espécie nos teores de ascorbato, carotenóides e compostos fenólicos, dependendo da variedade, das condições de manejo, das regiões de cultivo e do estágio de maturação dos frutos (LEE; KADER, 2000; KONDO et al., 2002; BASHIR et al., 2003; SCALZO et al., 2005). No entanto, informações sobre a composição de frutas tropicais em constituintes antioxidantes são escassas.

O conhecimento e a divulgação do valor nutricional e da composição em fitoquímicos das variedades de mangas, cultivadas no Brasil, agregarão valor à fruta e aos produtos desta, podendo influenciar positivamente o consumo nos mercados interno e externo.

1.4 O resíduo da agroindústria da manga Ubá

A agroindústria da manga Ubá é uma atividade em expansão na Zona da Mata mineira, pois o suco, a polpa e o néctar apresentam consumo crescente nos mercados interno e externo. Os subprodutos do processamento da manga Ubá, constituídos de casca e caroço, geram grande volume de resíduo, o qual não é aproveitado. Este resulta em acúmulo de lixo, causando impacto ambiental que contraria as Boas Práticas de Produção exigidas pelo mercado importador (EMBRAPA, 2006). Estudos são necessários para se avaliar a potencialidade de uso desse resíduo, que é de aproximadamente 40% do volume total de fruta processada.

Pesquisas recentes mostraram que cascas de mangas contêm diferentes compostos fenólicos, incluindo glicosídeos de flavonóis e de xantonas, galotaninos, derivados de benzofenona e antocianinas (SHIEBER et al., 2003; BERARDINI et al., 2004, 2005). Todos os compostos citados apresentam potencial para serem antioxidantes naturais (LAPORNIK et al., 2005). Há um interesse crescente da indústria de alimentos na substituição de antioxidantes sintéticos por antioxidantes naturais (SLIMESTAD; SOLHEIM, 2004), pois na última década o consumidor tem aumentado a preferência pelos últimos em decorrência da divulgação de seus benefícios à saúde.

Os resíduos da agroindústria são potenciais fontes de antioxidantes (MOURE et al., 2001) para serem utilizados como conservantes de alimentos e como componentes de alimentos funcionais.

2 JUSTIFICATIVA

As justificativas para a proposição da pesquisa que resultou no trabalho aqui apresentado estão relacionadas aos seguintes aspectos comentados anteriormente:

- a) Importância da mangicultura no Brasil.
- b) Necessidade do conhecimento do valor nutricional da manga e do seu potencial antioxidante como forma de agregar valor à fruta e aos seus produtos.
- c) Expansão da agroindústria da manga na Zona da Mata mineira.
- d) Interesse mundial na identificação de novas fontes de antioxidantes naturais.
- e) Necessidade de explorar um possível aproveitamento do resíduo da agroindústria da manga com a finalidade de diminuir o impacto ambiental e, conseqüentemente, atender às Boas Normas de Produção exigidas pelo mercado externo.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Desenvolver um estudo sobre o potencial antioxidante da polpa de quatro variedades de manga de valor comercial, cultivadas em Minas Gerais, e do resíduo da agroindústria da manga Ubá.

3.2 Específicos

- 1) Caracterizar as mangas utilizadas no estudo.
- 2) Determinar o teor de substâncias antioxidantes na polpa das quatro variedades de manga.
- 3) Identificar compostos fenólicos presentes na polpa.
- 4) Avaliar o potencial antioxidante da polpa das variedades de manga por meio de testes *in vitro*.
- 5) Avaliar o potencial antioxidante da polpa da variedade Ubá, por meio de ensaios biológicos.
- 6) Avaliar o potencial antioxidante do resíduo da agroindústria da variedade Ubá.

Para melhor compreensão e facilidade de redação de publicações, os objetivos específicos, anteriormente descritos, serão abordados separadamente, na forma de capítulos.

4. REFERÊNCIAS

AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: Instituto FNP, 2006. 504 p.

AMES, B. M.; SHIGENAGA, M. K.; HAGWN, T. M. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. **Proceedings National of Academic Science of USA**, v. 90, p. 7915-7922, 1993.

BASHIR, H. A.; ABU-BAKR, A.; ABU-GOUKH. Compositional changes during guava fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 80, p. 557-563, 2003.

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, p. 2208-2216, 2004.

BERARDINI, N.; SCHIEBER, A.; KLAIBER, I.; BEIFUSS, U.; CARLE, R.; CONRAD, J. 7- *O*- β -D-Galactopyranoside, a novel anthocyanin from mango (*Mangifera indica* L. cv. "Tommy Atkins") peels. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 60b, p. 801-804, 2005.

BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SUBAR, A. Fruit vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. **Nutrition and Cancer**, v. 18, p. 1-29, 1992.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Workshop: biodiversidade de fruteiras com potencial sócio-econômico na Amazônia. Período 24 a 26 de agosto de 1999. Belém: Rede GENAMAZ, 2000. 82 p. (Relatório final).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Cultivo da mangueira**, 2004. Disponível em: <<http://www.portaldosexportador.gov.br>>. Acesso: em 10 fev. 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Conhecendo a produção integrada**, 2006. Disponível em: <www.cnpma.embrapa.br>. Acesso em: 21 abr. 2006.

FAOSTAT - FAO Statistical Database – Agriculture, 2004. Disponível em: <<http://apps.fao.org>>. Acesso: 12 maio 2005.

FONTES, E. A. F. **Cinética de alterações química e sensoriais em néctar de manga (*Mangifera indica* L. var. Ubá) durante tratamento térmico**. 2002. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. Committee on Commodity Problems. Sixty-fifth session. Rome, Italy, 11-13 April 2005. Recent Developments in Agricultural commodity markets. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso: 12 fev. 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS – IBRAF. Disponível em: <www.ibraf.org.br>. Acesso em: 24 out. 2005.

KONDO, S.; TSUDA, K.; MUTO, N.; UEDA, J. Antioxidant activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 96, p. 177-185, 2002.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, v. 71, p. 214-222, 2005.

LEE, S. K.; KADER, A. A preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 207-220, 2000.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.

PARR, A. J.; BOLWELL, G. P. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 985-1012, 2000.

RAMOS, A. M.; D'ARAÚJO COUTO, F. A.; REZENDE, P. M.; LELIS, F. M. V.; BENEVIDES, S. D.; PEREZ, R. **Manga Ubá. Boas práticas agrícolas para produção destinada à agroindústria**. Viçosa, MG: UFV, 2005. 64 p.

SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v. 21, p. 207-213, 2005.

SHIEBER, A.; BERARDINI, N.; CARLE, R. Identification of flavonol and xathone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins') peels by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5006-5061, 2003.

SLIMESTAD, R.; SOLHEIM, H. Anthocyanins from blackcurrants (*Ribes nigrum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3228-3231, 2004.

VILELA, P. S.; CASTRO, C. W.; AVELLAR, S. O. C. Análise da oferta e da demanda de frutas selecionadas no Brasil para o decênio 2006/2015. Disponível em: <www.faemg.org.br>. Acesso em: 20 abr. 2006.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZAÇÃO DAS QUATRO VARIEDADES DE MANGA CULTIVADAS EM MINAS GERAIS

1 INTRODUÇÃO

1.1 Origem da mangicultura e a produção de mangas no Brasil

Acredita-se que a mangueira vem sendo cultivada há mais de quatro mil anos. Quanto à sua origem, há registros históricos conflitantes, mas indícios sugerem que a planta seja proveniente de dois subcentros de origem de espécies cultivadas: o Índico-Burma-Tailandês e o Filipínico-Celeste-Timor, que deu origem a duas “raças” de mangueiras: a indiana e a filipínica (LITZ, 1997). A primeira possui flores com um estame viável, frutos de formato oblongo-ovalado com sementes monoembriônicas e, em geral, com casca rósea a vermelha; a raça filipínica apresenta flores com cinco estames viáveis, frutos de formato longo, com sementes poliembrionicas e casca variando de verde a amarela (MURHERJEE, 1985, citado por LITZ, 1997). A planta se espalhou para diversas regiões e hoje o cultivo da mangueira está presente em vários países do mundo, constituindo-se em uma importante atividade econômica em muitos deles (Índia, China, Tailândia, México, Paquistão, Indonésia, Filipinas, Brasil e Nigéria).

A Índia é o principal produtor de mangas, porém grande parte de sua produção é consumida internamente, e isso faz com que países com produção bem menor se destaquem como exportadores, como é o caso do Brasil (AGRIANUAL, 2006).

A manga foi introduzida no Brasil na época da colonização, e acredita-se que as primeiras variedades foram da raça filipínica, geralmente fibrosas. Permaneceram em pomares domésticos até meados de 1960, sem nenhuma expressão econômica. No final da década de 1960, foram introduzidas as variedades indianas melhoradas, vindas diretamente da Flórida, o que impulsionou a cultura organizada da manga, uma vez que seus frutos com pouca fibra, casca colorida quando maduros e mais resistentes à antracnose são mais comercializáveis. A partir de então, a mangicultura se expandiu no Brasil e passou a ter uma importância econômica (PINTO et al., 2002).

A produção de manga no Brasil concentra-se nas regiões Nordeste e Sudeste (Tabela 1). No Nordeste brasileiro, a manga é cultivada em todos os Estados (LEITE et al., 1998), e no Sudeste os Estados de São Paulo e Minas Gerais são os principais produtores (CARVALHO et al., 2004). No Vale do São Francisco, em especial no Pólo de Desenvolvimento de Juazeiro/Petrolina, concentra-se o maior volume de produção de manga do país, em uma área de mais de 22 mil hectares. A região possui grande potencial de expansão dessa cultura, uma vez que, através de técnicas de indução floral, é possível produzir a fruta durante todo o ano, propiciando a oferta ao mercado em períodos de entressafra (ALBUQUERQUE; MOUCO, 2000). Essa possibilidade é bastante promissora, já que, do total de manga produzido no ano de 2003 no Brasil, cerca de 84% foram comercializados no mercado interno, o qual não está ainda saturado (AGRIANUAL, 2006). O consumo da manga *in natura* e processada na forma de suco no Brasil é ainda pequeno (2,68 kg/habitante/ano e 1,082 kg por habitante por ano, respectivamente), em comparação com outros países, como o México, que é de 13,48 kg por habitante por ano para fruta *in natura* (EMBRAPA, 2005; VILELA et al., 2006).

Tabela 1 – Produção brasileira anual de manga em toneladas, por regiões, no período de 2000 a 2003

Região	2000	2001	2002	2003
Norte	28.569	13.322	18.670	6.621
Nordeste	582.446	487.222	551.764	614.215
Sudeste	330.923	260.399	249.948	287.580
Centro-Oeste	19.801	12.640	20.237	8.833
Sul	7.203	8765	9132	7.769
Total	968.942	782.348	849.751	925.018

Fonte: Agriannual (2006).

As variedades de manga de interesse comercial para serem consumidas *in natura* são as que apresentam alta produtividade, frutos com características atraentes, preferencialmente de casca em tons amarelo-avermelhados quando maduros, polpa doce e com pouca ou nenhuma fibra e de textura firme, o que oferece mais resistência ao manuseio para mercados distantes, além de resistência a doenças (COSTA; SANTOS, 2004). Entretanto, a característica do mercado, principalmente internacional, não é uniforme. Determinadas regiões do mundo e alguns grupos étnicos preferem mangas de casca com coloração verde-amarelada quando maduras e variedades com frutos pequenos para o consumo *in natura* (ARAÚJO, 2004).

No Estado de Minas Gerais, as variedades para o consumo *in natura* mais cultivadas, por possuírem os atributos citados anteriormente, são: Tommy Atkins, Haden e, mais recentemente, a Palmer. Essas variedades são atualmente produzidas com a finalidade comercial, em plantios planejados e em grande parte das plantações, através de indução floral (ARAÚJO, 2004). A variedade Ubá é utilizada na agroindústria para fabricação de sucos e polpa, sendo proveniente de plantações domésticas e de plantios planejados recentes (RAMOS et al., 2005).

1.2 O estágio de maturação como fator de influência no potencial antioxidante de frutas

A maturação é um dos principais fatores que determinam a composição de frutas e vegetais (LEE; KADER, 2000). Em razão disso, a fisiologia pós-colheita e a qualidade de frutas têm sido investigadas por vários autores (WATADA et al., 1996; PALMER; KADER, 1997a, b; PAULL; CHEN, 1997; TOVAR et al., 2000, 2001).

Reações metabólicas que ocorrem com o amadurecimento resultam em alterações na composição das frutas, e algumas delas influenciam o potencial antioxidante destas. Tem sido observado que três compostos antioxidantes (ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos), presentes em frutas, sofrem alteração em seus teores à medida que ocorrem as transformações físicas e bioquímicas relacionadas ao amadurecimento.

O teor de ácido ascórbico diminuiu com o processo do amadurecimento em morangos (MONTERO et al., 1996) e mangas (LEE; KADER, 2000), enquanto pêssegos, mamões e maçãs mostram aumento no teor desse nutriente (LEE; KADER, 2000).

Com o avanço do amadurecimento da fruta, geralmente há produção de carotenóides, antocianinas e degradação de compostos fenólicos (LIMA et al., 2005).

Outra reação que ocorre com o amadurecimento da fruta é a hidrólise de polissacarídeos, incluindo o amido e a pectina, o que resulta em aumento da concentração de mono e dissacarídeos, levando ao maior teor de sólidos solúveis totais (SST). Essas alterações químicas explicam, em parte, a perda de firmeza ou aumento de maciez da fruta quando se avança o estágio de maturação (Van BUREN, 1984).

Pelo exposto, ressalta-se a importância de se caracterizar o estágio de maturação das frutas nos estudos que abordam tanto o potencial antioxidante delas quanto a quantificação de constituintes antioxidantes. Caso contrário, diferenças relacionadas ao estágio de maturação da fruta podem ser erroneamente atribuídas a outros fatores, como os geográficos, varietais ou metodológicos.

Assim, considerando que o estágio de maturação é um fator determinante do teor de compostos que influenciam o potencial antioxidante da polpa de mangas, o presente capítulo aborda o estudo da caracterização das mangas por meio de parâmetros físicos e químicos.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Caracterizar, por meio de parâmetros físicos e químicos, as amostras de mangas das quatro variedades utilizadas no estudo: Haden, Tommy Atkins, Palmer e Ubá.

2.2 Específicos

- Avaliar o peso total e das partes do fruto.
- Calcular o rendimento percentual de polpa.
- Avaliar o teor de sólidos solúveis.
- Caracterizar a firmeza da fruta madura.
- Caracterizar a cor da polpa.
- Determinar a composição química centesimal da polpa nos teores de umidade, carboidratos, proteínas, lipídios e cinzas.
- Preparar e acondicionar as amostras para as análises subsequentes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta de matéria-prima

Quatro variedades de manga de valor comercial, produzidas no Estado de Minas Gerais, foram utilizadas no estudo: Haden, Tommy Atkins, Palmer e Ubá (Figura 1).

As mangas das variedades Haden, Tommy Atkins e Palmer foram coletadas em plantações comerciais de Minas Gerais, nas regiões norte e noroeste do Estado (Figura 2), no final do mês de outubro, safra de 2003. Quatro caixas contendo de 10 a 12 unidades de mangas de cada variedade, embaladas em condições empregadas no transporte para o comércio interno, foram recolhidas, aleatoriamente, no setor de seleção e embalagem da plantação (Figura 3). Elas foram transportadas até Viçosa, permanecendo em caixas até atingirem, por meio de avaliação subjetiva, o estágio de maturação desejável para o estudo.

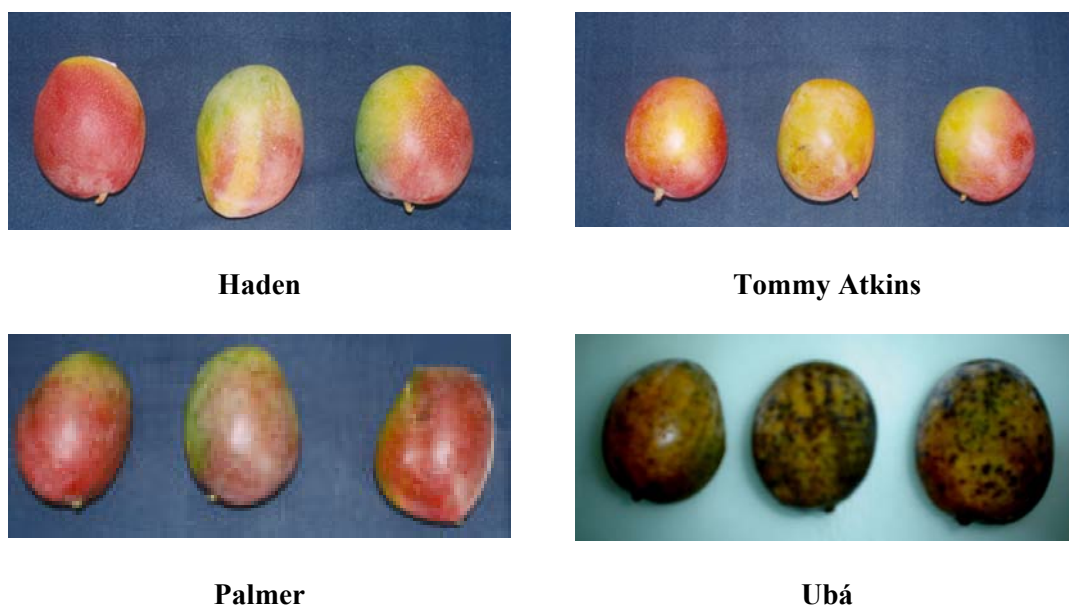


Figura 1 – Variedades de manga utilizadas nos estudos.

Para o estudo da variedade Ubá, foi adquirida no mês de janeiro de 2004 a polpa pura proveniente da agroindústria (sem adição de outros componentes), numa quantidade de 200 kg, acondicionada em recipiente próprio da fábrica. Esse material foi utilizado para avaliar a cor e os sólidos solúveis totais da polpa. Além disso,

20 unidades de mangas da variedade Ubá foram adquiridas no comércio local, para serem utilizadas na etapa de caracterização do peso total do fruto e das partes.

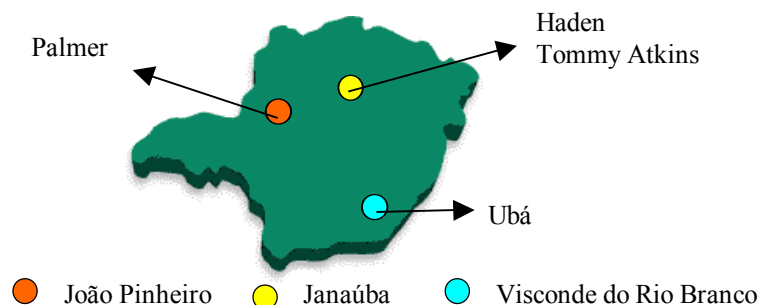


Figura 2 – Regiões de coleta das quatro variedades de manga.



Figura 3 – Local de coleta no galpão de embalagem e distribuição de mangas. Janaúba-MG.

3.2 Caracterização da matéria-prima

3.2.1 Peso total e das partes dos frutos

Foi utilizada uma balança, marca OHAUS, com capacidade de 1.200 g e precisão de 0,001 g. Após a higienização em água corrente e secagem manual dos frutos, foram obtidos de cada uma das vinte unidades de mangas de cada variedade os pesos relativos ao fruto inteiro e às partes: casca, caroço e castanha da semente. Para o despulpamento utilizou-se faca de aço inoxidável. O peso obtido para os frutos inteiros

foi expresso em gramas, representando a média de 20 unidades, e o peso das partes, em percentual do peso total.

3.2.2 Firmeza da polpa

A firmeza da polpa foi avaliada segundo a metodologia descrita por Fonseca (1999), medindo-se a resistência dos frutos à penetração da ponteira (11 mm) de um penetrômetro, modelo FT 327 (Figura 4). As medições foram feitas em dois pontos opostos, na região equatorial dos 20 frutos de cada uma das variedades (Haden, Tommy Atkins e Palmer), após a remoção da casca local, apoiando-se o fruto num cilindro de isopor, para evitar a perda de firmeza da polpa, resultante do atrito com a superfície de apoio. Os resultados foram expressos em N (Newtons).

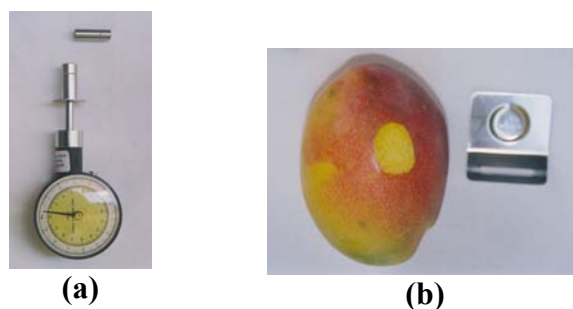


Figura 4 – Medidor de firmeza (a) e ilustração da região de teste (b).

3.2.3 Teor de sólidos solúveis totais – SST

Na avaliação de sólidos solúveis totais, a polpa de 20 unidades de mangas das variedades Haden, Tommy Atkins e Palmer foi homogeneizada em um processador, para obtenção de um purê. No caso da variedade Ubá, a polpa foi obtida já nessa forma desejada, a partir de uma quantidade de 200 kg, a qual corresponde a aproximadamente 1.600 unidades de manga.

O parâmetro sólidos solúveis totais foi determinado por refratometria, à temperatura ambiente, utilizando-se um refratômetro manual, com leitura na faixa de 0 a 32 °Brix.

3.2.4 Cor

A cor da polpa foi avaliada na polpa homogeneizada, utilizando-se o aparelho ColorQuest II (Sphere) (HunterLab, reston, VA), conectado a um computador provido do sistema software Universal. As amostras de polpa homogeneizada foram transferidas para uma cubeta de quartzo com capacidade de 50 mL, e as leituras foram realizadas utilizando-se o sistema de coordenadas **L**, **a**, **b** (Figura 5).



Figura 5 – Sistema de coordenadas **L**, **a**, **b**.

3.2.5 Composição química centesimal

Os teores de umidade, proteína, lipídio, cinza e carboidrato da polpa das quatro variedades de manga foram determinados por meio das técnicas analíticas descritas pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005).

3.3 Amostragem

A coleta das amostras foi feita aleatoriamente, utilizando-se frutos disponibilizados para o mercado consumidor. Não houve marcação prévia do horário para a realização da coleta das amostras adquiridas das plantações; a aquisição das amostras da variedade Ubá foi condicionada à disponibilidade no comércio e na agroindústria.

Utilizou-se o software SIGMA STAT, versão 2.03, para análise estatística descritiva.

de cada uma das quatro variedades de manga mostra a homogeneidade de tamanho dos frutos, embora a amostra tenha sido adquirida de maneira aleatória. O rendimento de polpa foi estatisticamente igual entre as variedades Haden, Tommy Atkins e Palmer, variando de 59,71 a 63,61%. A manga Ubá mostrou rendimento de polpa menor que os das demais (56,62%) em razão de apresentar o caroço proporcionalmente maior em relação ao tamanho total do fruto (14%).

Tabela 2 – Massa total e rendimento percentual das partes dos frutos das quatro variedades de manga cultivadas no estado de Minas Gerais, safra 2003/2004

Variedade	Fruto (g)			Partes (%)			
	Média ± DP	Mediana	Mín. – Máx.	Polpa	Casca	Caroço	Amêndoa
Haden	484,72 ± 26,39	483,70	437,80-518,70	59,71 ^a	22,64 ^a	12,02 ^a	5,63 ^{a, b}
T. Atkins	479,59 ± 25,52	475,70	442,00-543,00	63,61 ^a	19,25 ^b	11,69 ^{a, b}	5,45 ^{a, c}
Palmer	489,47 ± 22,66	498,00	432,70-513,20	61,62 ^a	23,14 ^a	10,86 ^b	4,38 ^b
Ubá	119,23 ± 11,44	118,20	95,00-137,65	56,62 ^b	23,16 ^a	14,77 ^c	5,45 ^c

Os valores são resultados de determinações feitas em 20 unidades de cada variedade. Valores seguidos por diferentes letras na coluna diferem estatisticamente (teste de Tukey, $p < 0,05$).

DP = desvio-padrão.

4.1.2 Firmeza

A firmeza avalia a resistência da polpa, através da penetração de uma ponteira, sendo, assim, uma medida de força para superar essa resistência.

A firmeza foi avaliada quando as mangas atingiram o estágio maduro, e o tempo para atingir essa condição foi diferente para as variedades. A Tabela 4 apresenta o período gasto, após a coleta, para que as mangas se mostrassem maduras, por avaliação subjetiva. Essas diferenças são atribuídas principalmente ao estágio de maturação no qual as variedades foram coletadas, mas não se descarta também a possibilidade de diferenças entre variedades na fisiologia do amadurecimento.

Verificou-se que houve similaridade na firmeza entre as mangas das variedades Haden e Tommy Atkins, e ambas apresentaram firmeza superior à da Palmer (Tabela 4). A velocidade da perda de firmeza com o amadurecimento da manga depende da variedade (ALI et al., 1995). Haden e Tommy Atkins são mangas de polpas mais firmes, um atributo que explica o seu grande valor comercial (SANTOS, 2004). A variedade Palmer é uma manga introduzida no Brasil mais recentemente e, embora

tenha sido apontada como uma variedade com grande potencialidade para comercialização, não foram encontradas informações sobre as alterações físico-químicas durante o seu processo de amadurecimento.

Tabela 3 – Tempo gasto para o amadurecimento das mangas após a coleta

Variedade	Tempo após a coleta (dias)
Haden	2
Tommy Atkins	2
Palmer	7
Ubá	0*

Os frutos da variedade foram adquiridos no comércio local no estágio maduro adequado ao consumo.

4.1.3 Sólidos solúveis totais - SST

Houve similaridade no parâmetro SST para as variedades de mangas analisadas (Tabela 4); a Palmer apresentou SST mais elevado que o das demais, o que coincide com o seu menor índice de firmeza. Isso sugere que a variedade poderia estar em estágio de maturação mais avançado, uma vez que a avaliação de firmeza nessa variedade foi feita sete dias após a coleta. As quatro variedades apresentaram SST acima de 12 °Brix, que é considerado o mínimo aceitável para o consumo da fruta *in natura*, situando-se na faixa que atribui ótima qualidade às mangas (13 - 15 °Brix) (CAMACHO; RIVAS, citado por ROVIRA; ALVAREZ, 1990).

4.1.4 Cor

A cor da polpa caracteriza o estágio de maturação da manga, uma vez que, à medida que o fruto passa do estágio verde para o maduro, há aumento da cor amarela, atribuída aos carotenóides. Neste estudo foi utilizado o sistema de coordenadas **L**, **a**, **b**, que caracteriza a cor da polpa. Nessa escala, **L*** mede a luminosidade, que varia de zero (preto) a 100 (branco puro); e valores de **a** e **b** representam os níveis de tonalidade e saturação de cor, sendo que a coordenada *a* varia do verde (-**a**) ao vermelho (+**a**) e **b** é a coordenada que avalia as tonalidades que vão do azul (-**b**) ao amarelo (+**b**). Valores positivos de **a** e **b** observados para as quatro amostras de manga avaliadas são característicos de mangas maduras e são atribuídos aos carotenóides presentes na polpa (Tabela 4).

Tabela 4 – Índices de qualidade da polpa das quatro variedades de manga utilizadas no estudo

Variedade	Firmeza ⁽¹⁾ (N)	SST ⁽²⁾ (°Brix)	Colorimetria ⁽²⁾		
			L*	a*	B*
Haden	45,47 ± 14,42	14,1	61,3	13,0	48,3
Tommy Atkins	70,36 ± 25,58	14,4	58,3	11,5	45,9
Palmer	23,03 ± 14,70	15,7	54,9	11,7	39,6
Ubá	n.d.	14,3	59,1	14,4	49,7

⁽¹⁾ Os valores representam as médias ± desvio-padrão das determinações em 20 mangas de cada variedade; n.d = não determinado; e ⁽²⁾ medidas avaliadas no homogeneizado da polpa.

De maneira geral, o estágio de maturação foi similar entre as variedades de manga estudadas, com exceção da manga Palmer, que apresentou parâmetros sugestivos de maturação mais avançada.

Quanto à composição química centesimal, as quatro variedades de manga apresentaram valores próximos nos teores de umidade, proteína, lipídio, carboidratos e cinzas (Tabela 5). A quantidade de carboidratos foi avaliada por diferença, e, assim, parte desse teor é proveniente de fibras. Durante o estudo foi observado que a polpa das mangas apresenta uma propriedade para formar gel facilmente, e isso pode ser atribuído à presença de pectina, a qual não foi determinada nesta pesquisa. Os resultados obtidos apresentam valores próximos aos descritos em tabelas de composição de alimentos para mangas em geral, publicadas recentemente (TACO, 2006).

Tabela 5 – Composição química da polpa das quatro variedades de manga utilizadas no estudo

Variedade	Umidade (%)	Proteína (g/%)	Lipídio (g/%)	Carboidrato (g/%)	Cinzas (g/%)
Haden	83,61	0,64	0,15	15,31	0,29
Tommy Atkins	84,38	0,55	0,07	14,67	0,29
Palmer	81,96	0,59	0,09	17,02	0,34
Ubá	83,17	0,50	0,14	15,87	0,32

5. CONCLUSÃO

Os dados relacionados ao peso dos frutos e das partes mostraram que as mangas deste estudo apresentaram uniformidade de frutos intravarietal. A polpa homogeneizada de mangas das variedades Haden, Tommy Atkins, Palmer e Ubá

mostraram índices de qualidade de frutos maduros. Valores próximos obtidos para os parâmetros firmeza, SST e coordenadas *a* e *b* na escala *L*, *a*, *b* sugerem similaridade no estágio de maturação dessas quatro variedades de manga.

6. REFERÊNCIAS

AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: Instituto FNP, 2006. 504 p.

ALBUQUERQUE, J. A. S.; MOUCO, M. A. C. **Manga**: indução floral. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. 34 p. (Circular Técnica, 47).

ALI, Z. M.; ARMUGAN, S.; LAZAN, H. Beta-galactosidase and its significance in ripening mango fruit. **Phytochemistry**, v. 38, p. 1109-1114, 1995.

ARAÚJO, J. L. P. **Cultivo da mangueira**: mercado e comercialização da manga. Embrapa Semi-Árido, versão eletrônica – julho/2004. Disponível em: <[http://sistemasde producao.cnptia.embrapa.br](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br)>. Acesso em: 10 dez. 2005.

CARVALHO, C. R. L.; ROSSETO, C. J.; MANTOVANI, D. M. B.; MORGANO, M. A.; CASTRO, J. V.; BOTOLETO, N. Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo Instituto Agrônomo de Campinas compradas a outros de importância comercial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 264-271, 2004.

COSTA, J. C.; SANTOS, C. A. F. **Cultivo da mangueira**: sistemas de produção 2. Embrapa Semi-Árido, versão eletrônica – julho/2004. Disponível em: <<http://sistemasde producao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 10 dez. 2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2005. **Simpósio debate cultura da manga na Fenagri (26/10/2005)**. Disponível: <www.embrapa.com.br>. Acesso em: 14 jul. 2006.

FONSECA, M. J. O. **Efeito de fungicidas e cera na conservação pós-colheita de manga (*Mangifera indica* L.) ‘Haden’**. 1999. 84 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) –Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1999.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4.ed. Brasília: MS, 2005.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 207-220, 2000.

LEITE, L. A. S.; PESOA, P. F. A.; ALBUQUERQUE, J. A.; SILVA, P. C. G. O. Agronegócios da manga no Nordeste. In: CASTRO, A. M. G. et al. (Ed.). **Cadeias produtivas e sistemas naturais** – prospecção tecnológica. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. p. 389-439.

LIMA, V. L. A.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I.; PRAZERES, F. G.; MUSSER, R. S.; LIMA, D. E. S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v. 90, p. 565-568, 2005.

LITZ, R. E. **The mango: botany, production and uses**. New York: Cab International, 1997. 586 p.

MONTERO, T. M.; MOLLÁ, M. E.; ESTEBAN, R. M.; LÓPEZ-ANDRÉU, F. Quality attributes of strawberry during ripening. **Scientia Horticulturae**, v. 65, p. 239-250, 1996.

PALMER, W. K.; KADER, A. A. Effect of controlled-atmosphere storage on the quality and carotenoid content of sliced persimmons and peaches. **Postharvest Biology and Technology**, v. 10, p. 89-97, 1997a.

PALMER, W. K.; KADER, A. A. Effect of slicing and controlled- atmosphere storage on the ascorbate content and quality strawberries and persimmons. **Postharvest Biology and Technology**, v. 10, p. 39-48. 1997b.

PAULL, R. E.; CHEN, W. Minimal processing of papaya (*Carica papaya* L.) and physiology of halved fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 12, p. 93-99, 1997.

PINTO, A. C. Q.; COSTA, J. G.; SANTOS, D. A. F. Principais variedades. In: GENÚ, P. J; PINTO, A. C. Q. (Eds.). **A cultura da mangueira**. Brasília: EMBRAPA, 2002. p. 95-116.

RAMOS, A. M.; D'ARAÚJO COUTO, F. A.; REZENDE, P. M.; LELIS, F. M. V.; BENEVIDES, S. D.; PEREZ, R. **Manga Ubá**. Boas práticas agrícolas para produção destinada à agroindústria. Viçosa, MG: UFV, 2005. 64 p.

ROVIRA, L. A. A.; ALVAREZ, C. R. **El mango** (*Mangifera indica* L.). Caracas: América, 1990. 401 p.

SANTOS, C. A. F. **Cultivo da Mangueira: cultivares**. Embrapa Semi-Árido, versão eletrônica – julho/2004. Disponível em: <<http://sistemasdeprodução.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 10 dez. 2005.

TABELA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS – TACO. Ministério do Desenvolvimento Social e combate à Fome. Disponível em: www.unicamp.br/nepa/taco/tabela. Acesso em: 10 fev. 2006

TOVAR, B.; GARCIA, H. S.; MATA, M. Physiology of pré-cut mango II. Evolution of organic acids. **Food Research International**, v. 34, p. 705-714, 2001.

TOVAR, B.; IBARRA, L. I.; GARCIA, H. S.; MATA, M. Some compositional changes of Kent mango (*Mangifera indica*) slices during storage. **Journal of Applied Horticulturae**, v. 2, p. 10-14, 2000.

Van BUREN, J. P. Function of pectin in plant tissue structure and firmness. In: WALTER, R. H. (Ed.). **The chemistry and technology of pectin**. New York: Academic Press, 1984. p. 1-22.

VILELA, P. S.; CASTRO, C. W.; AVELLAR, S. O. C. Análise da oferta e da demanda de frutas selecionadas no Brasil para o decênio 2006/2015. Disponível em: <www.faeng.org.br>. Acesso em: 20 abr. 2006.

WATADA, A. E.; KO, N. P.; MINOTT, D. A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, p. 115-125, 1996.

CAPÍTULO 2

QUANTIFICAÇÃO DOS CONSTITUENTES ANTIOXIDANTES NA POLPA DAS VARIEDADES DE MANGA

1 INTRODUÇÃO

1.1 A importância dos antioxidantes da dieta

Evidências epidemiológicas sugerindo que o consumo de frutas e vegetais pode reduzir o risco de câncer e de doenças cardiovasculares aventam a possibilidade de que tal proteção possa ser atribuída, em parte, à presença de compostos antioxidantes contidos nesses alimentos (HALLIWELL, 1997).

O interesse nos constituintes antioxidantes da dieta é suportado pela hipótese oxidativa, a qual assume que danos oxidativos nas células, causados pelos radicais livres (RL), estão envolvidos na iniciação e na progressão de doenças como aterosclerose, câncer e outras associadas aos mecanismos neurodegenerativos (SORG, 2004).

Vários RL e espécies reativas são geradas nas células aeróbicas no curso normal de seu metabolismo (Tabela 1). Embora as espécies químicas reativas, derivadas do oxigênio e do nitrogênio, tenham funções fisiológicas bastante importantes no organismo humano (RIBEIRO et al., 2006), um mecanismo crítico para o controle da homeostase nas células é a manutenção do seu estado redox, uma vez que o aumento dessas espécies químicas reativas pode desestabilizar o meio biológico (SIES, 1985).

Tabela 1 – Principais espécies reativas geradas durante o metabolismo aeróbico

Espécie reativa	Fórmula de Lewis
Ânion superóxido	$:\ddot{\text{O}}-\ddot{\text{O}}^{\ominus}$
Peróxido de hidrogênio	$\text{H}\ddot{\text{O}}-\ddot{\text{O}}\text{H}$
Radical hidroxil	$\cdot\ddot{\text{O}}-\text{H}$
Oxigênio simpleto	$\ddot{\text{O}}=\ddot{\text{O}}$
Óxido nítrico	$\cdot\ddot{\text{N}}=\ddot{\text{O}}\cdot$
Peroxinitrito	$:\ddot{\text{O}}=\ddot{\text{N}}-\ddot{\text{O}}-\ddot{\text{O}}^{\ominus}$

Fonte: Adaptado de Bergendi et al. (1999) e Sorg (2004).

Quando há aumento dos níveis de RL no organismo, em decorrência de um desequilíbrio entre a produção destes e as defesas antioxidantes, rompe-se a homeostase entre oxidantes e antioxidantes em favor dos primeiros. Nessa situação, instala-se o estresse oxidativo, que é uma condição na qual ocorrem respostas celulares secundárias às injúrias oxidativas: morte ou proliferação celular (LOPACZYNSKI; ZEISEL, 2001).

Além da produção fisiológica dos radicais livres de oxigênio e de nitrogênio, o organismo humano está sujeito à ação de xenobióticos (fármacos, poluentes e contaminantes químicos), os quais podem aumentar a produção de radicais livres durante a sua biotransformação e, conseqüentemente, favorecer a instalação do estresse oxidativo nos tecidos (GONZALEZ, 2005).

A manutenção da homeostase do estado redox celular é feita por meio de mecanismos que agem controlando a produção dos RL, a sua eliminação ou desativação e reparando os danos oxidativos. Existem dois mecanismos antioxidantes: o enzimático e o não-enzimático; ambos agem cooperativa e sinergisticamente para manter o equilíbrio dos radicais livres no organismo.

a) **Mecanismo antioxidante enzimático**: um conjunto de enzimas catalisa reações para eliminação das espécies reativas e para recuperação de moléculas biológicas oxidadas; são elas: superóxido dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase, tioredoxinas, peroxirredoxinas e inúmeras outras redutases (REMACLE et al., 1992; NORDBERG; ARNÉR, 2001).

b) **Mecanismo antioxidante não-enzimático**: é constituído por compostos de baixo peso molecular, ingeridos na dieta (nutrientes e não-nutrientes) ou sintetizados no organismo. Os primeiros experimentos em animais para investigar se moléculas

antioxidantes prolongariam a vida através da redução de danos por radicais livres foram realizados em 1957 (HARMAN, 1957, citado por LINDSAY; ASTLEY, 2002). A partir de então houve grande aprofundamento científico, relacionando a hipótese oxidativa e o efeito de antioxidantes sobre a saúde humana.

Várias moléculas são consideradas antioxidantes de importância biológica: ácido ascórbico, vitamina E, compostos fenólicos, ácido lipóico, ubiquinona e outras moléculas endógenas (DIPLOCK et al., 1998). As moléculas ingeridas funcionam como redutores biológicos e, assim, podem eliminar os radicais livres ou atuar na modulação gênica, aumentando a defesa antioxidante celular (JACKSON et al., 2002; LOO, 2003; BERGER, 2006).

1.2 Compostos antioxidantes da dieta

“Antioxidante da dieta é uma substância presente no alimento que diminui os efeitos adversos de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN) sobre as funções fisiológicas normais em humanos” (IOM, 1998). A definição de antioxidante da dieta na área de nutrição humana considera os seguintes critérios: a substância é encontrada na dieta humana; o teor da substância pode ser determinado em alimentos comumente consumidos; e a substância diminui os efeitos adversos das ERO e ERN *in vivo* (BOURNE; RICE-EVANS, 1999).

Diversas substâncias presentes naturalmente nos alimentos de origem animal e vegetal, de natureza lipofílica ou hidrofílica, apresentam potencial para atuar como antioxidantes no meio biológico, sem considerar os antioxidantes adicionados propositalmente a alimentos industrializados. Essas substâncias podem atuar como antioxidantes biológicos através de mecanismos diversos (KRINSKY, 1992):

- eliminação das ERO e ERN;
- indução de sistemas enzimáticos antioxidantes;
- maximização da resposta antioxidante; e
- impedimento da formação de ERO e de ERN por ligação com metais catalíticos.

1.2.1 Antioxidantes presentes em alimentos vegetais

Frutas, folhas, nozes e sementes fornecem uma rica fonte de vitaminas e de outros fitoquímicos com propriedades antioxidantes, que constituem importantes fontes

exógenas de compostos que aumentam a resposta celular ao estresse oxidativo (KAUER; KAPOOR, 2001). Dentre eles, podem-se citar: ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides, compostos fenólicos, zinco, cobre, manganês, selênio, etc.

1.2.2 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico, ou vitamina C, é considerado um potente antioxidante hidrossolúvel, devido ao fato de que a molécula pode doar um átomo de hidrogênio e formar um radical livre ascorbil, relativamente estável, com meia-vida de aproximadamente 10^{-5} segundos (BUETTNER, 1993). O radical ascorbil pode ser reduzido a ascorbato ou pode se oxidar, formando desidroascorbato. Por não haver via metabólica de síntese de ascorbato em humanos, este deve ser fornecido pela dieta em quantidade recomendada para adultos de 75 mg por dia para mulheres e 90 mg por dia para homens (IOM, 2001).

O efeito antioxidante do ascorbato está relacionado com a sua capacidade para eliminar as Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), podendo reagir com o radical superóxido, o peróxido de hidrogênio, o radical hidroxil e o oxigênio simpleto (WEBER et al., 1996). Também elimina Espécies Reativas de Nitrogênio (ERNs), prevenindo a nitração de moléculas (TANNENBAUEN et al., 1991). Acredita-se que o ascorbato participa da regeneração de tocoferol, e isso explica o sinergismo do efeito antioxidante dos dois nutrientes. É considerado um antioxidante protetor de compartimentos solúveis da célula, mas auxilia na manutenção de tocoferol no estado reduzido, sendo, portanto, considerado um nutriente “economizador” de vitamina E. Ao participar de reações como agente redutor, o ascorbato se oxida, formando desidroascorbato, o qual pode ser regenerado por sistemas redutores específicos no organismo (NORDBERG; ARNÉR, 2001).

1.2.3 Tocoferóis

O tocoferol, ou vitamina E, é um nutriente considerado o principal antioxidante lipossolúvel do meio biológico e o mais potente em altas concentrações de oxigênio, sendo obtido exclusivamente pela dieta. Há um grupo de compostos que recebe a denominação de vitamina E, os quais são sintetizados por plantas a partir do ácido homogentísico, derivado do 6-cromanol; inclui tocoferóis e tocotrienóis (CHOW, 2000).

Existem muitos compostos sintéticos de vitamina E, nas formas livre ou esterificada. A molécula possui três centros quirais na cauda lipofílica, tornando possível a existência de oito formas estereoisoméricas. A ocorrência natural é geralmente na forma livre do α -tocoferol, embora a forma esterificada seja mais estável e de grande aplicação farmacêutica. Entre os oito isômeros, o *d*- α -tocoferol é o que apresenta maior bioatividade, sendo, por isso, utilizado como referência para expressar a atividade biológica dos demais compostos (CHOW, 2000).

A quantidade recomendada de ingestão dietética de vitamina E é de 15 mg de α -tocoferol por dia para indivíduos adultos (IOM, 2001).

O tocoferol está incluído na classe dos antioxidantes que apresentam estrutura fenólica e, uma vez que pode reagir com os radicais peroxil, é considerado a molécula de maior relevância biológica do mecanismo antioxidante não-enzimático nas membranas. A etapa inicial da reação antioxidante pelo tocoferol envolve uma rápida transferência do hidrogênio fenólico para o radical livre, formando um produto radical. Este é estabilizado por ressonância, sendo relativamente pouco reativo com oxigênio e lipídios, impedindo reações em cadeia. Por isso, é freqüente caracterizar a propriedade antioxidante do tocoferol como *chain-breaking* ou interruptor de reações em cadeia (BURTON; INGOLD, 1981).

O radical tocoferil não apresenta atividade antioxidante; para a molécula manter tal propriedade, deve ser regenerada ou convertida em tocoferol, pois a concentração da molécula presente nas membranas é 10^3 vezes menor que a quantidade do substrato potencialmente oxidável. O tocoferol, presente na bicamada lipídica das membranas, está numa proporção com os fosfolipídios de 1:2000 moléculas. Isso mostra a necessidade de regeneração do tocoferil (WHO, 2001).

Uma parte da quinona tocoferil é eliminada pela urina ou bile, após reações de conjugações, e a outra pode ser regenerada pelo ascorbato. Foi sugerida a possibilidade de outros sistemas antioxidantes para recuperação de tocoferol, no organismo humano (PACKER et al., 1995).

1.2.4 Carotenóides

Os carotenóides são pigmentos naturais, derivados dos terpenóides, e estão associados em plantas com membranas fotossintéticas, fotoproteção e assimilação de energia luminosa (BURNS et al., 2003). Centenas de carotenóides estão presentes na

natureza, mas poucos são encontrados nos tecidos humanos, sendo os principais: β -caroteno, luteína, licopeno, β -criptoxantina e α -caroteno (THURNHAM, 1994; ROCK et al., 1996). O β -caroteno é a principal fonte de pró-vitamina A da dieta, porém existem aproximadamente 50 carotenóides com atividade antioxidante (BENDICH; OLSON, 1989). Em países desenvolvidos, estima-se que o consumo de licopeno, encontrado em tomates, luteína (espinafre, brócolis, milho) e zeaxantina (milho), seja quantitativamente semelhante à ingestão de β -caroteno, somando-se à ingestão de β -criptoxantina, que é encontrada principalmente em frutas (DIPLOCK et al., 1998; WHO, 2001). Não há recomendação dietética para carotenos, sendo a referência para a sua ingestão a recomendação de retinol ou de vitamina A, que é de 700 a 900 μg de Equivalentes de Retinol (ERs) por dia, para adultos (IOM, 2001).

Por serem moléculas lipofílicas, os carotenóides distribuem-se nas regiões apolares do meio biológico, incluindo as membranas, as partículas de lipoproteínas (LDL e HDL) e o soro, ligados a uma proteína de transporte (IOM, 1998).

Os carotenóides são eficientes eliminadores (*quenching*) de Espécies Reativas de Oxigênio, especificamente oxigênio simpleto e radicais peroxil. Afirma-se que os carotenóides são eficientes desativadores de oxigênio simpleto em baixas concentrações de oxigênio, que ocorre por dois mecanismos distintos: físico e químico. A desativação física ocorre por transferência de energia do oxigênio simpleto para o carotenóide, formando o carotenóide excitado. Essa energia é dissipada por meio de interações vibracionais com o solvente, para recuperar o carotenóide no estado fundamental, o qual permanece intacto, podendo participar de outros ciclos de eliminação de oxigênio simpleto. A desativação química contribui pouco no processo (menos que 0,05% do total), mas é o evento responsável pela inativação da molécula. A interação química do radical carotenóide com os radicais peroxil leva à desativação dos radicais (DIPLOCK, 1998). Esses mecanismos físico e químico explicam os efeitos protetores dos carotenóides contra as doenças relacionadas ao estresse oxidativo. Entretanto, a modulação gênica parece ser o efeito mais relevante dos carotenóides descoberto nos últimos anos, constituindo-se em um dos mecanismos adicionais da citoproteção contra alguns processos patológicos.

1.2.5 Compostos fenólicos

Neste grupo inclui-se um grupo extenso de substâncias amplamente distribuídas em vegetais (frutos, folhas, caules, sementes). Compreendem mais de 5.000 compostos e têm recebido importância como constituintes da dieta, com grande potencial para apresentarem efeitos protetores contra as doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

Fenólicos de plantas constituem um grupo quimicamente heterogêneo: alguns são lipossolúveis, outros são hidrofílicos. Ocorrem frequentemente como derivados na forma de ésteres, éteres e glicosídeos. São subdivididos em 21 grupos, incluindo milhares de compostos, com base na estrutura química (MANN et al., 1996).

As estruturas dos compostos fenólicos são bastante variadas, incluindo fenóis simples e polifenólicos, sendo eles formados em vias biossintéticas diversas, apresentando funções importantes no reino vegetal: proteção contra patógenos, regulação da interação planta-planta e planta-animal, otimização da polinização e regulação dos efeitos de radiação UV (TAIZ; ZEIGER, 1991).

Os compostos fenólicos são ingeridos na dieta sob a forma de agliconas e glicosídeos. Acreditava-se, inicialmente, que a absorção desses compostos, com ênfase nos estudos com flavonóides, era desprezível por causa da presença de gliconas. No entanto, estudos mais recentes mostraram que a sua biodisponibilidade é relevante (ROSS; KASUM, 2002). Pesquisas realizadas com quercetina, na forma de aglicona e de glicosídeos, mostraram que os glicosídeos de quercetina foram mais bem absorvidos do que a forma aglicona (STHAL et al., 2002).

Os compostos fenólicos atuam como antioxidantes no meio biológico, e vários fatores contribuem para esse efeito: lipofilicidade, quelação de ferro e eliminação de radicais livres (Van ACKER et al., 1996). Características estruturais importantes para a capacidade antioxidante de flavonóides é a posição dos grupos hidroxilas no anel B e a presença de grupos carboxílicos, os quais podem inibir a oxidação de lipídio, por quelação de metais (HUDSON; LEWIS, 1983).

A aceitação definitiva para as propriedades antioxidantes *in vivo* dos constituintes fenólicos da dieta é justificada pelas seguintes razões: sua capacidade de reagir *in vitro* com as Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e Espécies Reativas de Nitrogênio (ERNs), eliminando-as, e/ou sua capacidade para prevenir a formação de

EROs, por meio da quelação de metais; e a evidência de sua biodisponibilidade em humanos e sua bioatividade *in vivo* (BOURNE; RICE-EVANS, 1999).

Os compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes, eliminando o ânion superóxido, o radical hidroxil, os radicais de lipídios e o peroxinitrito, em ambientes aquosos e orgânicos (DUTHIE; CROZIER, 2000). Também há evidências do efeito protetor de compostos fenólicos sobre a oxidação de LDL induzida por íons cobre e macrófagos (De WHALLEY et al., 1990; MANGIAPANE et al., 1992) e do efeito em inibir enzimas que catalisam reações geradoras de ERO (RICE-EVANS et al., 1996; COS et al., 1998), além da possibilidade de regenerar antioxidantes de membranas, como α -tocoferol (RICE-EVANS et al., 1996).

Além de seus efeitos como antioxidantes, os compostos fenólicos podem exercer outras ações fisiológicas benéficas, entre as quais se incluem: modulação de enzimas da via de biotransformação de xenobióticos; inibição de enzimas envolvidas em respostas celulares a fatores de crescimento, incluindo proteína quinase C, tirosina quinase e 3-fosfatidil-inositol quinase; e modulação da expressão de genes de proteínas antioxidantes ou supressoras de tumor, como a *p-53* (AWAD, 2002).

1.2.6 Minerais antioxidantes

Na área de nutrição, os minerais selênio, cobre, zinco, ferro e manganês são freqüentemente incluídos no grupo de nutrientes antioxidantes, por serem constituintes de enzimas envolvidas na proteção contra o estresse oxidativo.

As superóxido dismutases são isoenzimas que catalisam a reação de conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio, formado em vias metabólicas nos vários compartimentos celulares (NORDBERG; ARNÉR, 2001). Isoenzimas presentes no citossol contêm em sua estrutura cobre e zinco, e a forma mitocondrial apresenta o átomo de manganês. A presença dos minerais na estrutura da enzima constitui um determinante essencial para a catálise da reação, cujo mecanismo envolve a transferência de elétrons (NORDBERG; ARNER, 2001).

A catalase é uma enzima microsomal que catalisa a redução de peróxido de hidrogênio formado como produto da reação catalisada pela superóxido dismutase. A presença de átomos de ferro na estrutura da enzima é um determinante para a atividade da enzima (PRICE, 1962).

Peróxidos, de hidrogênio e de lipídios, formados no organismo são eliminados enzimaticamente por reação catalisada pela glutathione peroxidase. Esta contém selênio e constitui o principal mecanismo de proteção de membranas celulares contra o estresse oxidativo (REMACLE et al., 1992). O selênio é constituinte de muitas outras enzimas que catalisam reações envolvidas na defesa antioxidante *in vivo* (STADTMAN, 1991). Assim, cobre, zinco, manganês, ferro e selênio têm sido considerados minerais essenciais para a otimização da resposta antioxidante enzimática.

1.2.7 Outras vitaminas

A niacina é constituinte do NADH e NADPH, os quais são equivalentes redutores no meio biológico em reações de oxirredução que protegem o organismo contra o estresse oxidativo (MEISTER; TATE, 1976).

Já a flavina é um co-fator da enzima glutathione reductase, que é uma enzima-chave na manutenção dos níveis de glutathione reduzida (GSH), sendo esta última o substrato utilizado em reações redutivas (KEHRER; LUND, 1994). Deficiências dessas vitaminas limitam a defesa antioxidante enzimática.

1.3 A importância dos estudos de composição das frutas em constituintes antioxidantes

As frutas de climas tropicais e subtropicais contêm diferentes compostos antioxidantes, os quais foram citados anteriormente. O teor desses compostos em frutas é influenciado não apenas pela variedade, mas por vários fatores: pré, durante e pós-colheita. Como exemplo, podem-se citar: clima, práticas agrícolas, estágio de maturação, método de colheita, condições de armazenamento e estocagem (LEE; KADER, 2000). Os teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos diminuem com o amadurecimento das frutas (LEE; KADER, 2000). Já no caso dos carotenóides, observa-se elevação da quantidade à medida que a fruta alcança o estágio de maturação completo (MERCADANTE; RODRIGUEZ-AMAYA, 1998). Com relação aos minerais, há também variações nos teores em frutas devido às diferenças agroclimáticas (CHAUHAN et al., 1991).

Grande parte da vitamina C ingerida pela dieta é fornecida pelas frutas na forma de ácido ascórbico, que é a forma biologicamente ativa. Pequena quantidade da forma oxidada (ácido desidroascórbico) também está naturalmente presente nos tecidos

vegetais e, ao ser ingerida, pode ser convertida no organismo em ácido ascórbico por vias metabólicas redutivas (LEE; KADER, 2000).

A manga é considerada uma fonte de antioxidantes, além do seu valor nutricional como fonte de vitamina C e pró-vitamina A, uma vez que contém ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos (SHIEBER et al., 2000). O β -caroteno é o carotenóide mais abundante em muitas variedades (MERCADANTE; RODRIGUEZ-AMAYA, 1998).

Apesar da importância comercial da manga e de sua ampla aceitação pelo consumidor, há poucos estudos sobre o conteúdo de componentes antioxidantes nas diferentes variedades. As pesquisas concentram-se mais no ácido ascórbico e nos carotenóides, principalmente no β -caroteno, embora tenham sido detectados criptoxantina, violaxantina, luteoxantina (GODOY; RODRIGUEZ-AMAYA, 1989). Apesar de a presença de fenólicos em polpa de mangas ter sido detectada há muito tempo (ANSARI et al., 1971), pouca atenção tem sido dada à investigação do teor total de compostos fenólicos em variedades de manga. Estudos recentes identificaram e quantificaram glicosídeos de flavonóides e de xantonas em mangas (SHIEBER et al., 2000). Entretanto, resultados de estudos dessa natureza não podem ser extrapolados para o teor total de fenólicos, pois a quantificação fica atrelada à identificação parcial de tais compostos.

Mangas podem ser consideradas excelentes fontes de vitamina C na dieta humana, mesmo quando seus conteúdos são mais baixos, em razão de dois aspectos. Primeiramente, é que a forma mais comumente consumida, *in natura*, oferece melhores condições de preservação do ácido ascórbico, quando se compara com vegetais que são submetidos à cocção. Segundo, os ácidos orgânicos, principalmente cítrico e málico, estabilizam o ácido ascórbico através da quelação de metais (NAGY, 1980). Além do mais, os compostos fenólicos podem proteger o ácido ascórbico contra a decomposição oxidativa (MILLER; RICE-EVANS, 1997).

Quanto à composição da polpa de mangas em minerais antioxidantes (cobre, zinco, manganês e selênio), pode-se afirmar que o assunto é pouco explorado. Há escassas informações sobre o teor desses minerais em frutas e vegetais (LETERME et al., 2006), mesmo porque estas contêm baixos teores desses minerais, em relação a outros alimentos, e, assim, não são consideradas fontes dietéticas de relevância (IOM, 1998). Contudo, apesar do baixo teor de tais minerais em frutas, não se deve

desconsiderar a sua importância, visto que a ingestão delas fornece um conjunto de antioxidantes que podem oferecer proteção ao organismo de uma maneira sinérgica.

As mangas, como todas as frutas, diferem no teor de ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos, devido a variações genótípicas, fatores climáticos, práticas agrícolas e estágio de maturação (LEE; KADER, 2000). A literatura mostra uma grande variabilidade no teor de carotenóides, β -caroteno e ácido ascórbico em mangas (Tabelas 2 e 3). A disponibilidade de informações sobre a composição de alimentos é essencial para a avaliação da dieta e para as pesquisas epidemiológicas que relacionam dieta, saúde e doença (GRANADO et al., 2001). O conhecimento da composição dos alimentos em compostos antioxidantes facilita a identificação da relação entre a dieta e a prevalência de enfermidades crônicas, além de viabilizar a definição da magnitude das inadequações dietéticas e oferecer subsídios para a educação alimentar e para o estabelecimento de metas e guias alimentares que promovam estilos de vida mais saudáveis.

Tabela 2 – Composição de mangas em carotenóides e β -caroteno

Variedade	Origem	Carotenóides	β -caroteno	Fonte
		(µg 100 g ⁻¹ de polpa)		
Tommy Atkins	Brasil	1.920	1.311	Godoy e Rodriguez-Amaya (1989)
Keitt	não informada	5.500	1.510	Mercadante et al. (1997)
Gedong	não informada	-	3.300	Hulshof et al. (1997)
Kent	não informada	-	4.580	Pott et al. (2003)
Tommy Atkins	não informada	-	3.650	Pott et al. (2003)
Não informada	Israel	-	838	Ben-Amotz e Fishler (1998)
Não informada	Indonésia	-	109 -1.201	Setiawan et al. (2001)
Não informada	Tailândia	5.805*	2.934*	Chen et al. (2004)
Haden	Brasil	3.660	-	Carvalho et al. (2004)
Tommy Atkins	Brasil	3.400	-	Carvalho et al. (2004)
Palmer	Brasil	4000	-	Carvalho et al. (2004)

* Resultados fornecidos com base na matéria seca.

Além do interesse no consumo de alimentos fontes de antioxidantes como fator de prevenção de doenças crônico-degenerativas, a pesquisa sobre alimentos fontes de pró-vitamina A é necessária no Brasil, pois a deficiência do nutriente constitui um problema de saúde pública (WHO, 1995).

Tabela 3 – Teor de ácido ascórbico em mangas

Variedade	Origem	Ácido ascórbico	Fonte
		(mg 100 g ⁻¹ de peso úmido)	
Comum (local)	Hawai	122-186	Franke et al. (2004)
Haden	Hawai	91-173	Franke et al. (2004)
Não informada	Flórida	27,2	Nisperos-Carriedo (1992)
Tommy Atkins	Brasil	23,58	Vilas Boas et al. (2004)
Não informada	Não informada	25,32	Vinci et al. (1995)
Haden	Brasil	36,6	Carvalho et al. (2004)
Tommy Atkins	Brasil	31,7	Carvalho et al. (2004)
Palmer	Brasil	56,7	Carvalho et al. (2004)

O presente capítulo descreve o estudo sobre a quantificação dos teores de substâncias antioxidantes presentes na polpa das quatro variedades de manga, cultivadas em Minas Gerais.

2 OBJETIVOS

- Estimar os teores de fenólicos totais e de carotenóides totais.
- Quantificar os teores de β -caroteno, ácido ascórbico e ácido desidroascórbico.
- Quantificar os teores de cobre, zinco, manganês e ferro.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Na cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE foram utilizados solventes de grau HPLC e água ultrapura. O ditiotreitol foi adquirido da Sigma; e o ácido metafosfórico, o reagente de Folin-Ciocalteu, β -caroteno, padrões de manganês, zinco e cobre foram adquiridos da Merck. Os outros reagentes foram de grau analítico e adquiridos de outros fornecedores.

3.2 Determinação analítica

3.2.1 Estimativa do teor de fenólicos totais

Os extratos da polpa liofilizada contendo os compostos fenólicos foram obtidos conforme descrito por Bloor (2001). O material liofilizado foi reconstituído com água, considerando o teor de umidade encontrado para cada variedade. Em seguida, à polpa reconstituída (1,0000 grama) foram acrescentados 10,0 mililitros de uma mistura

de metanol: água (60: 40 v/v), a qual foi submetida à agitação a 180 rpm, em temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 1.000 g, por 10 minutos. Frações do sobrenadante foram utilizadas imediatamente para a análise de fenólicos totais. Uma segunda extração nas mesmas condições anteriores foi feita, e o teor de fenólicos totais foi analisado para verificar a eficiência da extração.

O teor de fenólicos totais nos extratos foi estimado utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia proposta por Singleton et al. (1999). A absorvância em 765 nm foi lida em espectrofotômetro Shimadzu UV-VIS (Kyoto, Japan). Uma curva-padrão de ácido gálico foi usada para expressar os resultados em Equivalentes de Ácido Gálico (GAEs).

As determinações foram feitas em triplicatas.

3.2.2 Quantificação de β -caroteno

A extração dos carotenóides foi feita de acordo com o procedimento descrito por Rodriguez et al. (1976). Antes da extração, as amostras liofilizadas foram reconstituídas em água destilada, e todos os procedimentos foram realizados em ambiente protegido de luz. Amostras (5,0 gramas) foram homogeneizadas com acetona (50,0 mililitros) em um triturador MARCONI, modelo MA 102, durante cinco minutos. A seguir, o material foi filtrado a vácuo em funil de Büchner, até que o resíduo se tornasse incolor. O extrato foi fracionado com éter de petróleo (50,0 mililitros) e cada fração foi lavada com água destilada (500 mililitros), para completa remoção da acetona. O extrato foi concentrado em rotaevaporador ($< 35\text{ }^{\circ}\text{C}$) até obtenção de um volume aproximado de 10 mililitros. O volume foi completado para 25,0 mililitros com éter de petróleo para obter o extrato concentrado, o qual foi utilizado para quantificação de β -caroteno por CLAE e para estimativa de carotenóides totais por colorimetria.

Na quantificação de β -caroteno foi utilizada a metodologia descrita por Pinheiro-Sant'Ana et al. (1998). Alíquotas de 2,0 mililitros dos extratos concentrados foram evaporadas sob atmosfera de nitrogênio, redissolvidas em 2,0 mililitros de acetona e filtradas em membrana Millipore de 0,45 micrômetros; em seguida, volumes de 30 microlitros do extrato foram injetados no sistema cromatográfico.

O equipamento usado nas análises cromatográficas por CLAE consistiu de um cromatógrafo, SHIMADZU, equipado com uma bomba de alta pressão, modelo LC-10ATVP, com injetor automático modelo SIL-10AF e detector de arranjos de

diodos UV-visível, modelo SPD-M10A, controlado pelo *software* Multi Sistem, Class VP 6.12. A separação foi realizada em uma coluna RP18, 250 x 4 mm, de 5 µm (Microsorb), sendo a detecção feita em 450 nm. A fase móvel foi constituída de metanol, acetato de etila e acetonitrila (70:20:10), com fluxo de 2,0 mililitros por minuto.

A quantificação foi feita por padronização externa, através de uma curva-padrão de β-caroteno, utilizando-se para o cálculo a área dos picos. Os resultados foram expressos em microgramas de β-caroteno por 100 gramas de polpa (base úmida).

A identificação dos picos de interesse foi feita por comparação dos tempos de retenção do padrão e das amostras e, principalmente, através do espectro de absorção.

3.2.3 Estimativa de carotenóides totais

O total de carotenóides nos extratos, obtidos com procedimento idêntico ao descrito anteriormente para a quantificação de β-caroteno, foi estimado de acordo com a metodologia descrita por Higby (1962). A absorvância dos extratos foi lida em 450 nm, em um espectrofotômetro Shimadzu UV – VIS (Kyoto, Japan). O teor de carotenóides totais foi estimado utilizando a equação descrita a seguir, sendo os resultados expressos em miligramas por 100 gramas de polpa.

$$\text{Carotenóides totais} = A_{450} \times 100 / 250 \times L \times W$$

em que:

A_{450} : absorvância a 450 nm;

250: absortividade;

L: comprimento da célula, em cm; e

W: quantidade da amostra em gramas, no volume final da diluição (5/25 mL).

3.2.4 Quantificação de ácido ascórbico (AA) e ácido desidroascórbico (ADA)

A polpa liofilizada de cada variedade de manga foi reconstituída com água destilada, de acordo com os respectivos teores de umidade. A extração foi feita de acordo com o método descrito por Vinci et al. (1995), com algumas modificações. Cinco gramas de polpa reconstituída foram homogeneizados com 15 mililitros de água ultrapura por 5 minutos, em um homogeneizador MARCONI, modelo MA 102. A

mistura foi filtrada e o volume final ajustado para 25,0 mililitros com água ultrapura e em seguida centrifugada a 1.000 g por 15 minutos.

Dois mililitros do sobrenadante foram filtrados em membrana Millipore de 0,45 μm , e uma alíquota de 30 microlitros foi imediatamente utilizada para a análise de ácido ascórbico por CLAE. O equipamento e a coluna foram os mesmos descritos na análise de β -caroteno (item 3.2.2). A fase móvel foi constituída de água ultrapura e ácido metafosfórico pH 2,2; a detecção foi feita em 238 nm. O fluxo foi de 1,0 mililitro por minuto.

A quantificação do ácido desidroascórbico (ADA) foi feita após sua redução a ácido ascórbico, utilizando-se ditiotreitól (DDT) como agente redutor (SILVA, 2005). Uma alíquota de 1,0 mililitro do sobrenadante obtido da centrifugação da amostra foi misturada com 0,1 mililitro de tampão pH 7,4, obtendo-se um pH final próximo de 6,0. A seguir, foi adicionado ditiotreitól a 100 mmol L^{-1} , obtendo-se uma concentração final de 8,0 mM. A mistura permaneceu no escuro por 10 minutos, para ocorrer a reação de conversão do ácido desidroascórbico em ácido ascórbico. A seguir, foi feita a análise de quantificação do ácido ascórbico nas mesmas condições cromatográficas descritas anteriormente. As injeções foram feitas em triplicata.

A quantificação de ADA foi realizada com base na diferença entre os conteúdos de vitamina C antes e após a conversão; os cálculos foram feitos considerando-se as áreas dos picos.

Uma curva-padrão de ácido ascórbico foi utilizada para o cálculo, sendo os resultados expressos em miligramas de ácido ascórbico por 100 gramas de polpa (base úmida).

A identificação dos picos de interesse para análise do ácido ascórbico foi feita por comparação com os tempos de retenção do padrão e das amostras e através do espectro de absorção.

3.2.5 Quantificação dos minerais antioxidantes

3.2.5.1 Digestão

A digestão ácida foi feita por microondas em sistema fechado, utilizando-se um equipamento Milestone ETHOS PLUS, com a seguinte programação: elevação de temperatura a $200 \text{ }^\circ\text{C}$ nos primeiros 10 minutos e manutenção por 30 minutos. Um grama de polpa liofilizada foi submetido à digestão com HNO_3 a 65% (10,0 mL),

H₂SO₄ a 96% (0,5 mL) e H₂O₂ a 30% (2,0 mL). Após a digestão, as soluções foram filtradas e transferidas para um balão volumétrico, completando-se o volume para 25,0 mL com água deionizada, e utilizadas para análises.

3.2.5.2 Quantificação

Os minerais foram quantificados por espectrofotometria de absorção atômica de chama, empregando um equipamento Varian modelo SpectrAA-200, utilizando o *software* Spectra100/200, versão 1.2.01. Foram utilizadas curvas-padrão de zinco, cobre, manganês e ferro, em concentração na faixa de 0 a 5,0 miligrama por litro. As determinações foram feitas em triplicatas. Os cálculos da quantidade de minerais foram feitos utilizando-se a fórmula a seguir, e os resultados foram expressos em miligramas por 100 gramas de polpa (base úmida), considerando a umidade de cada variedade de manga.

$$C = (LA - LB) \times 25 / \text{massa}$$

em que:

C: concentração (mg kg⁻¹);

LA: leitura da absorvância da amostra;

LB: leitura da absorvância do branco; e

massa: massa da amostra (em gramas).

3.3 Análise estatística

O *software* Estatística, versão 6.0, foi usado para análise dos dados por ANOVA, e o teste de Tukey, para verificar diferenças entre amostras.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A polpa de quatro variedades de manga de valor comercial produzidas em Minas Gerais, na safra de 2003/2004, foi avaliada em sua composição em compostos fenólicos, β-caroteno, carotenóides totais, ácido ascórbico, ácido desidroascórbico, zinco, cobre e manganês. Todos esses componentes apresentam bioatividade relacionada com o mecanismo antioxidante. As duas formas de vitamina C (ácido ascórbico e

ácido desidroascórbico) foram quantificadas, considerando a pouca atenção que tem sido dada à determinação do teor de ácido desidroascórbico (ADA) nos alimentos.

A Tabela 4 mostra os resultados da quantificação de fenólicos totais, carotenóides totais, β -caroteno, valor de vitamina A (VVA), ácido ascórbico, ácido desidroascórbico e vitamina C total na polpa das quatro variedades de manga. Os resultados do β -caroteno foram expressos também em Equivalentes de Atividade de Retinol (EAR) ou valor de vitamina A e vitamina C total, para demonstrar o valor nutricional das variedades de manga.

Tabela 4 – Teor de fenólicos totais, carotenóides totais, β -caroteno, valor de vitamina A (VVA), ácido ascórbico (AA), ácido desidroascórbico (ADA) e vitamina C total na polpa das quatro variedades de manga

Variedade	Fenólicos Totais ⁽¹⁾ (mg)	Carotenóides Totais (mg)	β -caroteno (μ g)	VVA	AA ⁽²⁾ (mg)	ADA (mg)	Vit. C total (mg)
Haden	62,10 \pm 2,00 ^a	1,91 \pm 0,06 ^a	888,00 \pm 39,35 ^a	74	13,89	1,80	15,69 \pm 3,30 ^a
T. Atkins	48,40 \pm 2,00 ^b	2,53 \pm 0,28 ^b	608,39 \pm 7,72 ^b	51	8,78	1,01	9,79 \pm 1,49 ^b
Palmer	128,20 \pm 7,00 ^c	2,63 \pm 0,47 ^b	661,27 \pm 1,26 ^c	55	9,45	1,09	10,54 \pm 1,92 ^b
Ubá	208,70 \pm 10,0 ^d	2,41 \pm 0,24 ^b	2221,00 \pm 7,55 ^d	185	66,28	11,43	77,71 \pm 5,68 ^c

Dados foram expressos por 100 g de polpa e representam a média \pm desvio-padrão de três determinações; Médias seguida por diferentes letras diferem estatisticamente (Teste de Tukey a 5%).

⁽¹⁾ Valores expressos com Equivalentes de Ácido Gálico (EAG) em miligramas por 100 g; ⁽²⁾ Valores expressos como Equivalentes de Atividade de Retinol – RAE em microgramas por 100 g de polpa.

4.1 Teor de fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi maior para a variedade Ubá; a Palmer apresentou teor intermediário e as variedades Haden e Tommy Atkins mostraram valores menores. As diferenças no teor de fenólicos podem ser atribuídas às características de variedade ou de outros fatores, como: época de colheita, técnicas agrícolas e condições climáticas. A variedade Tommy Atkins é descendente da Haden e são cultivares indianas melhoradas, trazidas da Flórida para o Brasil (SANTOS, 2004), sendo produzidas comercialmente através de indução floral (ARAÚJO, 2004). Ambas foram coletadas no mesmo período (outubro).

A Palmer foi coletada na região noroeste do Estado, também no mesmo período do ano, sendo uma fruta de plantações de primeira safra. Quanto à variedade Ubá, acredita-se que tenha sido introduzida no Brasil de cultivares originários

diretamente da Índia (segundo informações coletadas), espalhando-se pela região da Zona da Mata mineira, predominantemente em pomares domésticos, e apenas nos últimos dez anos em plantações comerciais (RAMOS et al., 2005).

As variedades de manga analisadas contêm concentrações expressivas de fenólicos totais, que podem contribuir para aumentar a ingestão de antioxidantes na dieta humana, considerando que a ingestão desses grupos de compostos foi estimada variar de 0,15 a 1,0 grama por dia (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). A ingestão de uma porção de 100 gramas de polpa de manga das variedades Haden, Tommy Atkins e Ubá fornece uma quantidade aproximada de fenólicos totais de 0,06; 0,05; 0,13 e 0,21 gramas, respectivamente.

4.2 Teores de β -caroteno e de carotenóides totais

A Figura 1 mostra um perfil de cromatograma da análise de β -caroteno para as quatro variedades de manga. Verifica-se que as condições cromatográficas estabelecidas permitiram boa separação do pico de β -caroteno no tempo de retenção próximo de sete minutos. As variedades Haden, Tommy Atkins e Palmer mostraram similaridade no perfil dos cromatogramas com três picos anteriores à eluição do β -caroteno, os quais não foram identificados neste estudo. A variedade Ubá mostrou um perfil de cromatograma com ausência de pico no tempo de retenção próximo de dois minutos, apontando diferenças na composição das amostras para pigmentos que absorvem nessa região. Uma pequena cauda pode ser observada no pico do β -caroteno, o qual provavelmente corresponde à forma isomérica do β -caroteno, que poderia estar presente na amostra ou ter sido formado durante a análise. A coluna cromatográfica empregada na análise não separa bem os isômeros *cis e trans* do β -caroteno.

O teor de β -caroteno da manga Haden foi similar ao descrito em estudos com a mesma variedade cultivada no Estado de São Paulo (494-782 microgramas por 100 gramas de polpa) (GODOY; RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1989). Para a variedade Tommy Atkins, os mesmos autores encontraram quantidades de β -caroteno superiores (1.209-1.405 microgramas por 100 gramas de polpa) aos encontrados neste estudo. Entretanto, outros estudos reportaram teores inferiores (49,8 microgramas de β -caroteno por 100 gramas de polpa) para uma variedade originária da Costa Rica (CHEN et al., 2004). De fato, há grande variabilidade nos teores relatados na literatura para β -caroteno

em polpa de mangas (Tabela 1). Todavia, como muitos trabalhos não caracterizam o estágio de maturação dos frutos, não se pode concluir se as diferenças são características varietais ou relacionadas aos outros fatores, inclusive estágio de maturação. Sabe-se que a incidência dos raios solares pode induzir a carotenogênese como mecanismo de defesa do fruto, já que estes funcionam como protetores contra injúrias por radiação UV (LUTZ et al., 2005). No caso de plantações comerciais, existem recursos de manejo para proteção solar das mangas, através do uso de solução de CaO (“calda de cal”), como mostra a Figura 2.

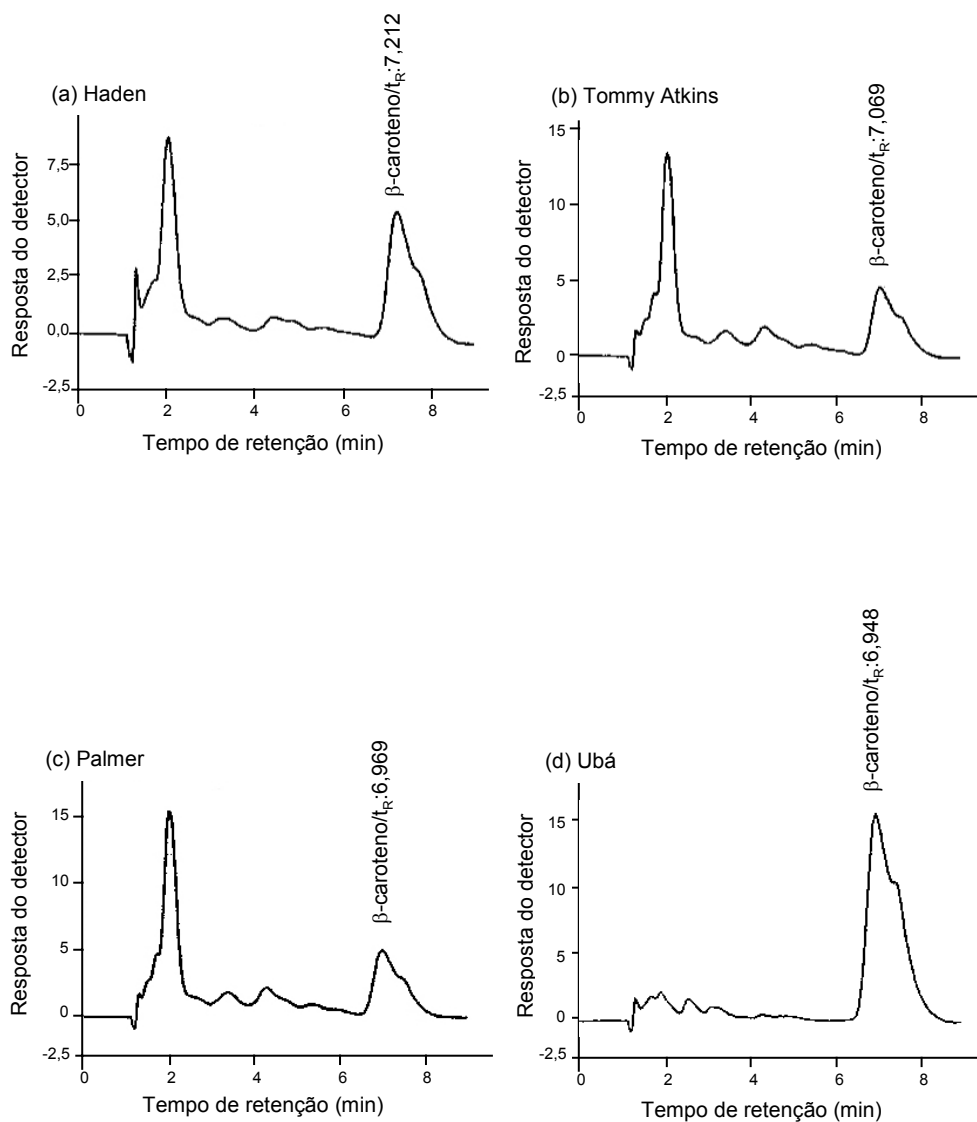


Figura 1 – Perfil dos cromatogramas – CLAE (a 450 nm) de β -caroteno extraído da polpa das variedades das quatro variedades de manga.



Foto: Plantação da Fazenda Itapoã, município de Verdelândia - MG).

Figura 2 – Imagem mostrando a proteção solar dos frutos com solução de CaO (indicação pela seta).

Teores de carotenóides totais obtidos no presente estudo – na polpa das mangas Haden, Tommy Atkins e Palmer – foram menores do que o conteúdo de 4,5; 3,4 e 4,0 miligramas por 100 gramas de polpa, respectivamente, reportado para as mesmas variedades obtidas de campo experimental no Estado de São Paulo (CARVALHO et al., 2004).

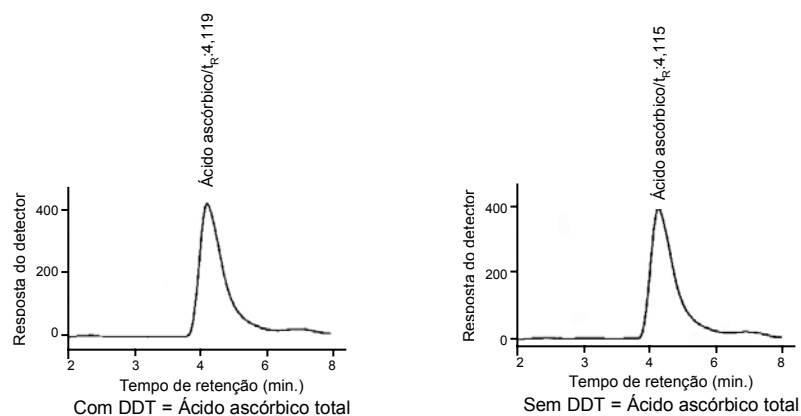
Considerando o valor de vitamina A, expressos em Atividade de Equivalente de Retinol – EAR, as quatro variedades de manga podem ser consideradas boas fontes de provitamina A, embora a biodisponibilidade seja desconhecida.

A comparação dos teores de β -caroteno das variedades de manga avaliadas neste estudo com o de outras frutas frescas disponíveis no comércio de Viçosa-MG e analisadas por Souza et al. (2004) mostra que as mangas apresentaram conteúdo de β -caroteno em uma faixa de variação (810 – 2.220 microgramas por 100 gramas) superior à do morango (210 microgramas por 100 gramas), similar à da carambola (850 microgramas por 100 gramas) e nectarina (1.540 microgramas por 100 gramas) e inferior às seguintes frutas: nêspera (20.700 microgramas por 100 gramas), maracujá-doce (10.700 microgramas por 100 gramas), acerola (10.450 microgramas por 100 gramas), ameixa japonesa (3.570 microgramas por 100 gramas), pêsego e mamão-formosa (2.910 microgramas por 100 gramas) e ameixa (2.560 microgramas por 100 gramas).

4.3 Teores de ácido ascórbico e ácido desidroascórbico

A Figura 3 mostra o perfil característico da análise do ácido ascórbico da variedade Ubá, na ausência e presença de ditiotreitól (DDT), representando a análise do teor de ácidos ascórbico e desidroascórbico presentes na polpa, respectivamente.

Os ácidos ascórbico e desidroascórbico foram quantificados neste estudo utilizando-se o ditiotreitól como agente redutor. A extração aquosa, utilizada por Vinci et al. (1995), foi o procedimento escolhido, pois há afirmações na literatura de que, em frutas, esse solvente pode ser usado, uma vez que o pH da matriz, geralmente ácido, preserva o ácido ascórbico, por ser inferior ao pH ótimo da ascorbato oxidase (FRANKE et al., 2004).



O conteúdo de ADA foi calculado pela equação: [(Área com DDT) – (Área sem DDT)].

Figura 3 – Perfil de cromatogramas (a 238 nm) obtidos na análise de ácido ascórbico (AA) e ácido desidroascórbico (ADA) da variedade Ubá.

Os teores de ácido ascórbico total na polpa das variedades Tommy Atkins e Palmer foram iguais entre si e menores que os das variedades Haden e Ubá. Esta última apresentou teores médios de vitamina C mais elevados que os das demais variedades, de no mínimo 4,96 vezes. O ácido desidroascórbico variou de 10,31 a 14,70% do teor de ácido ascórbico total, concordando com afirmações de que seu teor é baixo em frutas (LEE; KADER, 2000). Os teores de ácido ascórbico total obtidos para as variedades Haden, Tommy Atkins e Palmer foram menores do que os descritos para as mesmas variedades (36,6, 31,7 e 56,7 miligramas por 100 gramas de polpa, respectivamente) cultivadas em campo experimental no Estado de São Paulo (CARVALHO et al., 2004). Entretanto, deve ser considerado que não são apresentadas nos estudos as características físicas e químicas das mangas utilizadas; portanto, diferenças no estágio de maturação

podem ser assumidas. Diferenças relacionadas aos métodos de quantificação e procedimentos de extração podem gerar também a variabilidade nos teores de ácido ascórbico em mangas, encontradas nos vários estudos (23,58 a 186,0 miligramas por 100 gramas de polpa), como mostrado na Tabela 3 .

É importante ressaltar que os teores de ácido ascórbico, β -caroteno e fenólicos totais de mangas frescas das quatro variedades podem ser mais elevados do que os encontrados neste trabalho, uma vez que as amostras foram submetidas aos processos de preparo (trituração) e preservação (liofilização e congelamento), o que não descarta a possibilidade de alguma pequena perda por degradação (CARDELLO; CARDELLO, 1998; RODRIGUEZ-AMAYA, 2000).

4.4 Teores de minerais antioxidantes

A Tabela 5 apresenta o teor dos minerais da polpa das quatro variedades de manga analisadas. O teor de cobre na polpa da manga Haden foi estatisticamente maior que o das demais variedades. A ordem de classificação quanto ao teor do mineral foi: Haden > Palmer, Ubá > Tommy Atkins (Figura 4). O teor de manganês foi estatisticamente diferente entre as quatro variedades, e a ordem de classificação foi: Haden > Tommy Atkins > Ubá > Palmer, sendo a manga Haden a que apresentou teor 2,57 vezes maior que o da variedade Palmer (Figura 5). Não houve diferença estatística para os teores de zinco entre as quatro variedades (Figura 6). As quatro variedades não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quanto aos teores de ferro (Figura 7).

Tabela 5 – Teor médio de minerais antioxidantes na polpa das variedades de manga analisadas em 100 g de polpa

Variedade	Cobre (μ g)	Zinco (mg)	Manganês (mg)	Ferro (mg)
Haden	0,097 \pm 0,0012 ^a	0,249 \pm 0,0899 ^a	0,572 \pm 0,0257 ^a	0,224 \pm 0,0948 ^a
Tommy Atkins	0,077 \pm 0,0004 ^b	0,288 \pm 0,0190 ^a	0,415 \pm 0,0176 ^b	0,121 \pm 0,0477 ^a
Palmer	0,083 \pm 0,0022 ^c	0,326 \pm 0,1121 ^a	0,222 \pm 0,0208 ^c	0,298 \pm 0,0704 ^a
Ubá	0,081 \pm 0,0020 ^{b, c}	0,330 \pm 0,1287 ^a	0,275 \pm 0,0068 ^d	0,201 \pm 0,0553 ^a

Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem estatisticamente (teste de Tukey a 5%).

Soares et al. (2004) analisaram o teor de minerais em dois sucos concentrados de manga, disponíveis no comércio de Campinas-SP (sem especificação da variedade), e encontraram teores de manganês, zinco, cobre e ferro variando de 0,06 a

0,27 miligramas por 100 gramas; 0,08 a 0,39 miligramas por 100 gramas; 0,04 a 0,07 microgramas por 100 gramas; e 0,15 a 0,22 miligramas por 100 gramas, respectivamente. Esses valores estão em faixas próximas às dos teores encontrados neste trabalho para a polpa das quatro variedades analisadas.

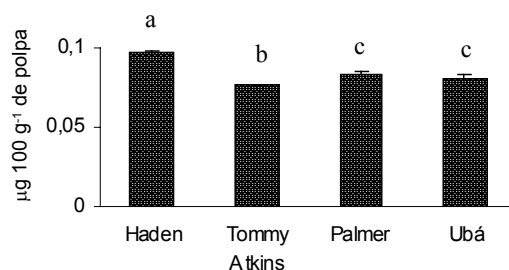


Figura 4 – Comparação dos teores de cobre na polpa das variedades de manga.

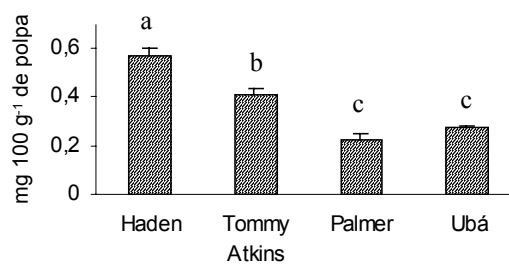


Figura 5 – Comparação dos teores de manganês na polpa das variedades de manga.

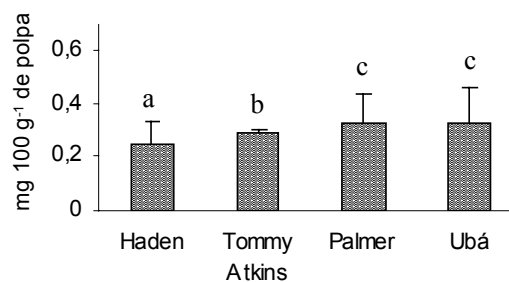


Figura 6 – Comparação dos teores de zinco na polpa das variedades de manga.

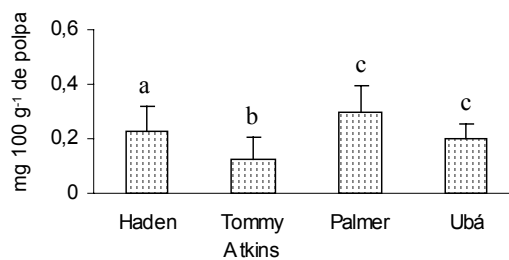


Figura 7 – Comparação dos teores de ferro na polpa das variedades de manga.

Leterne et al. (2006) quantificaram o teor de minerais em duas variedades de manga não especificadas, coletadas na Colômbia, e encontraram, respectivamente para manganês, cobre, zinco e ferro, os teores de 0,14 e 0,45 miligramas por 100 gramas; 0,05 e 0,18 microgramas por 100 gramas; 0,11 e 0,14 miligramas por 100 gramas; e 0,29 e 0,55 miligramas por 100 gramas. Verifica-se que para o manganês apenas uma das variedades colombianas apresentou teor inferior (0,14 miligrama por 100 gramas) ao da faixa encontrada para as quatro variedades analisadas neste estudo (0,22 a 0,57 miligramas por 100 gramas). As duas mangas originárias da Colômbia apresentaram teores de cobre acima ou abaixo da faixa observada para as variedades analisadas neste estudo (0,07 a 0,09 miligramas por 100 gramas). Quanto aos teores de zinco, as quatro variedades cultivadas em Minas Gerais apresentaram teores acima dos descritos para as duas variedades colombianas. Apenas a variedade Palmer apresentou teor de ferro próximo a uma das variedades colombianas; as outras três mostraram teores inferiores aos das duas variedades analisadas por Leterne et al. 2006 (Tabela 5).

A tabela de composição centesimal de alimentos, elaborada por pesquisadores da UNICAMP-SP, apresenta para a polpa da manga Tommy Atkins teores de manganês, cobre, zinco e ferro de 0,3; 0,06; 0,1 e 0,1 miligramas por 100 gramas de polpa, respectivamente. A composição da mesma variedade cultivada em Minas Gerais mostrou teor três vezes mais elevado em zinco, e os outros minerais apresentaram teores mais próximos aos descritos na referida tabela (TACO, 2006).

Carvalho et al. (2004) analisaram a composição mineral da polpa de seis variedades de manga (Haden, Tommy Atkins, Palmer, Votupa, Espada Vermelha e Van Dyke) cultivadas no Estado de São Paulo e verificaram teores de cobre variando de 0,069 a 0,147 miligramas por 100 gramas de polpa; teores de manganês variando de 0,175 a 0,471; faixa de 0,063 a 0,097 miligramas por 100 gramas de polpa para os teores de zinco; e teores de ferro variando de 0,117 a 0,242 miligramas por 100 gramas. As mangas Haden e Tommy Atkins, neste trabalho, apresentaram teores próximos aos descritos para as mesmas variedades cultivadas em São Paulo (93 e 76%, respectivamente). A variedade Palmer apresentou o teor de cobre 29% mais elevado do que a variedade cultivada em São Paulo. Em relação ao zinco, todas as variedades analisadas neste trabalho apresentaram teores superiores aos das cultivadas em São Paulo, sendo os valores da ordem de 2,5 a 7,4 vezes. Para o manganês, as variedades Haden e Tommy Atkins de Minas Gerais apresentaram teores 23 e 20% mais elevados,

respectivamente, do que as mesmas variedades cultivadas em São Paulo. Os teores de ferro apresentados pelas variedades de manga cultivadas em Minas Gerais estão na faixa descrita para as variedades de São Paulo, analisadas por Carvalho et al. (2004).

5 VALOR NUTRICIONAL DA MANGA EM CONSTITUINTES ANTIOXIDANTES

No estabelecimento das recomendações para as vitaminas C e A (retinol) (IOM,1998), os níveis de ingestão requeridos para evitar doenças ligadas à deficiência têm sido o foco de maior atenção. Não existem recomendações para carotenóides e compostos fenólicos e o nível ótimo de ingestão para estabelecer recomendações para os antioxidantes da dieta ainda é objeto de debate (LINDSAY; ALTLEY, 2002)

A legislação da ANVISA referente à Portaria número 31, de 13 de janeiro de 1998, atualizou as normas de adição de nutrientes essenciais a alimentos e definiu conceitos sobre informação nutricional de alimentos. Assim, ela estabelece que:

- a) É permitido atribuir o “claim¹” FONTE de algum nutriente aos alimentos prontos para o consumo, os quais forneçam no mínimo 7,5% da IDR² do referido nutriente no caso de líquidos e 15% da IDR no caso de sólidos.
- b) É permitido atribuir o “claim” ALTO TEOR OU RICO em um nutriente específico aos alimentos prontos para o consumo, os quais forneçam no mínimo 15% da IDR do referido nutriente no caso de líquidos e 30% da IDR de referência no caso de sólidos.

As Tabelas 7, 8, 9 e 10 apresentam a informação nutricional sobre o teor de antioxidantes analisados na polpa das quatro variedades de manga, considerando os critérios estabelecidos pela Anvisa (1998), comentados anteriormente. Considerando as IDRs para as faixas etárias (pré-escolar, escolar e adulto do sexo masculino), as variedades de manga apresentam atributos de alimento FONTE ou RICO em alguns nutrientes antioxidantes.

Embora não tenha sido estabelecido como objetivo a comparação entre as variedades de manga, uma análise qualitativa dos teores de antioxidantes, considerando os atributos FONTE e RICO, está apresentada na Tabela 6. Foram atribuídos pontos aos atributos a partir das informações nutricionais contidas nas Tabelas 7, 8, 9 e 10,

¹ *Claim* = denominação, alegação.

² IDR = Ingestão Dietética de Referência.

considerando as IDRs para indivíduos de três faixas etárias: pré-escolar, escolar e adulto do sexo masculino. A totalização dos pontos mostra a seguinte ordem de classificação: Ubá, Haden > Tommy Atkins > Palmer.

Tabela 7 – Informação nutricional do teor de antioxidantes da manga Haden

Quantidade Mínima ⁽¹⁾ em 100 g	% da IDR ⁽²⁾			
	Pré-escolar	Escolar	Adulto	
Carotenóides totais	1,91 mg	-	-	-
β-caroteno	888,0 μg	-	-	-
VVA ⁽³⁾	74	24,66 ^f	18,54 ^f	8,2
Vitamina C	15,69 mg	104,60 ^r	72,70 ^r	17,43
Fenólicos Totais	62,10 mg	-	-	-
Cobre	97,1 mcg	28,56 ^f	22,07 ^f	10,79
Zinco	0,249 mg	8,30	4,98	2,26
Manganês	0,572 mg	47,67 ^r	38,13 ^r	24,87
Ferro	0,224	3,20	2,24	2,8 ⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Mínimo: considerando que as análises foram feitas em amostras submetidas às etapas de preparo e não em frutas frescas; ⁽²⁾ IDR: Ingestão Diária de Referência (IOM, 2000, 2001); ⁽³⁾ VVA: valor de vitamina A; e ⁽⁴⁾ Considerando sexo masculino. f = fonte; r = rico.

Tabela 8 – Informação nutricional do teor de antioxidantes da manga Tommy Atkins

Quantidade Mínima ⁽¹⁾ em 100 g	% da IDR ⁽²⁾			
	Pré-escolar	Escolar	Adulto	
Carotenóides totais	2,53 mg	-	-	-
β-caroteno	608,39 μg	-	-	-
VVA ⁽³⁾	51,00	16,99 ^f	12,75	5,66
Vitamina C	9,79 mg	65,26 ^r	39,16 ^r	10,87
Fenólicos Totais	48,40 mg	-	-	-
Cobre	77,30 mcg	22,73 ^f	17,57 ^f	8,59
Zinco	0,288 mg	9,60	5,76	2,62
Manganês	0,415 mg	34,58 ^r	41,20 ^r	18,04 ^f
Ferro	0,213	1,73	1,21	1,52 ⁴

⁽¹⁾ Mínimo: considerando que as análises foram feitas em amostras submetidas às etapas de preparo e não em frutas frescas. ⁽²⁾ IDR: Ingestão Diária de Referência (IOM, 2000, 2001). ⁽³⁾ VVA: valor de vitamina A. ⁽⁴⁾ Considerando sexo masculino. f = fonte; r = rico.

Tabela 9 – Informação nutricional do teor de antioxidantes da manga Palmer

Quantidade Mínima ⁽¹⁾ em 100 g	% da IDR ⁽²⁾			
	Pré-escolar	Escolar	Adulto	
Carotenóides totais	2,63 mg	-	-	-
β-caroteno	661,27 mg	-	-	-
VVA ⁽³⁾	55	18,33 ^f	13,75	6,11
Vitamina C	184 mg	70,26 ^r	42,16 ^r	11,71
Fenólicos totais	128,20 mg	-	-	-
Cobre	82,9 mcg	24,38 ^f	18,84 ^f	9,21
Zinco	0,326 mg	10,87	6,52	2,96
Manganês	0,222 mg	18,50 ^f	14,80	9,65
Ferro	0,298	4,26	2,98	3,72 ⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Mínimo: considerando que as análises foram feitas em amostras submetidas às etapas de preparo e não em frutas frescas. ⁽²⁾ IDR: Ingestão Diária de Referência (IOM, 2000, 2001). ⁽³⁾ VVA: valor de vitamina A. ⁽⁴⁾ Considerando sexo masculino. f = fonte; r = rico.

Tabela 10 – Informação nutricional do teor de antioxidantes da manga Ubá

Quantidade Mínima ⁽¹⁾ em 100 g	% da IDR ⁽²⁾			
	Pré-escolar	Escolar	Adulto	
Carotenóides totais	2,41mg	-	-	-
B-caroteno	2.221,0 mg	-	-	-
VVA ⁽³⁾	184	61,33 ^r	46,00 ^r	20,44
Vitamina C	77,71 mg	518,06 ^r	310,84 ^r	86,34 ^r
Fenólicos totais	208,7 mg	-	-	-
Cobre	81,2 mcg	23,88 ^f	18,45 ^f	9,02
Zinco	0,330 mg	11,00	6,60	3,00
Manganês	0,276 mg	23,00 ^f	18,40 ^f	12,00
Ferro	0,201	4,26	3,72	2,51 ⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Mínimo: considerando que as análises foram feitas em amostras submetidas às etapas de preparo e não em frutas frescas. ⁽²⁾ IDR: Ingestão Diária de Referência (IOM, 2000, 2001). ⁽³⁾ VVA: valor de vitamina A. ⁽⁴⁾ Considerando sexo masculino. f = fonte; r = rico.

Tabela 11 – Classificação das alegações FONTE e RICO das variedades de manga, relacionadas à composição em antioxidantes

Variedade	VVA ⁽¹⁾		Vitamina C		Cobre		Zinco		Manganês		Pontos ⁽²⁾
	F	R	F	R	F	R	F	R	F	R	
Haden	++	-	+	++	-	++	-	-	-	++	15
T. Atkins	+	-	-	++	++	-	-	-	+	++	12
Palmer	+	-	-	++	-	++	-	-	+	-	10
Ubá	+	++	-	+++	++	-	-	-	++	-	15

⁽¹⁾ Valor de vitamina A; F = FONTE e R = RICO. ⁽²⁾ Na contagem de pontos somou-se um ponto para cada + relacionado com F e dois pontos para cada + relacionado com R.

A ingestão de uma porção de 150 gramas de polpa de manga das variedades analisadas fornece 76,5 a 276 miligramas de vitamina A; 14,68 a 116,56 miligramas de vitamina C; 72,6 a 313,05 miligramas de compostos fenólicos; 115,95 a 145,65 microgramas de cobre; 0,373 a 0,495 miligramas de zinco; 0,333 a 0,572 miligramas de manganês; e 0,182 a 0,447 miligramas de ferro.

6 CONCLUSÃO

As mangas analisadas contêm compostos fenólicos, ascorbato, carotenóides, β -caroteno e minerais antioxidantes e constituem uma fonte potencial de antioxidantes naturais para a dieta humana.

Os teores dos antioxidantes analisados diferem entre as quatro variedades, mas não houve destaque para uma única variedade em todos os componentes avaliados. A manga Ubá mostrou teores mais elevados de compostos fenólicos, vitamina C e β -caroteno; a variedade Palmer foi superior no teor de carotenóides totais.

Quanto aos minerais, as variedades não diferem estatisticamente nos teores de zinco e de ferro, mas em manganês e cobre há diferenças entre elas; a manga Haden apresentou teores de ambos os minerais superiores aos das demais variedades.

7 REFERÊNCIAS

ANSARI, M. A.; REDDY, K. K.; SASTRY, K. N. S.; NAYUDAMA, Y. Polyphenols of *Mangifera indica*. **Phytochemistry**, v. 10, p. 2239-2241, 1971.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 23 abr. 2006.

ARAÚJO, J. L. P. **Cultivo da Mangueira: mercado e comercialização da manga**. Embrapa Semi-Árido, versão eletrônica – julho/2004. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 10 dez. 2005.

AREMU, C. Y.; UDOESSIEN, E. I. Chemical estimation of some inorganic elements in selected tropical fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 37, p. 229-234, 1990.

AWAD, H.M. **Studies on the pro-oxidant chemistry of flavonoids**. 2002. Thesis (PhD) – Wageningen University, Dutch, 2002.

- BEN-AMOTZ, A.; FISHLER, R. Analysis of carotenoids with emphasis on 9-*cis*- β -carotene in vegetables and fruits commonly consumed in Israel. **Food Chemistry**, v. 62, p. 515-520, 1998.
- BENDICH, A.; OLSON, J. A. Biological action of carotenoids. **FASEB Journal**, v. 3, p. 1927-32, 1989.
- BERGENDI, L.; BENES, L.; DURACKOVÁ, Z.; FERENCIK, M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. **Life Sciences**, v. 65, p. 1865-1874, 1999.
- BERGER, M. M. Manipulations nutritionnelles du stress oxidant: état des connaissances. **Nutrition Clinique et Métabolisme**, v. 20, p. 48-53, 2006.
- BLOOR, S. J. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. **Methods Enzymol**, v. 335, p. 3-14, 2001.
- BOURNE, L. C.; RICE-EVANS, C. A. Detecting and measuring bioavailability of phenolics and flavonoids in human: pharmacokinetics of urinary excretion of dietary ferulic acid. **Methods in Enzymology**, v. 299, Part B, 1999.
- BUETTNER, G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. **Archives Biochemical and Biophysics**, v. 300, p. 534-43, 1993.
- BURNS, J.; FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. **Phytochemistry**, v. 62, p. 939-47, 2003.
- BURTON, G. W.; INGOLD, K. U. Autoxidation of biological molecules. The antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro. **Journal of the American Chemical Society**, v. 103, p. 6472-77, 1981.
- CARDELO, N. M. A. B.; CARDELO, L. Teor de vitamina C, atividade da ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangifera indica* L.) var. Haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, 1998.
- CARVALHO, C. R. L.; ROSSETO, C. J.; MANTOVANI, D. M. B.; MORGANO, M. A.; CASTRO, J. V.; BOTOLETTTO, N. Evaluation of mango cultivars selected by "Instituto Agronômico de Campinas" compared to others of commercial importance. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 264-271, 2004.
- COS, P.; VING, L.; CALOMME, M.; HU, J.P.; CIMANGA, K.; VAN POEL, B. et al. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xantine oxidase and superoxide scavengers. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 71-76, 1998.
- CHAUAN, K. R.; PUNDIR, J. P. S.; SINGH, S. Studies on the mineral composition of certain fruits. **Haryana Journal of Horticultural Sciences**, v. 20, p. 210-213, 1991.

CHEN, J. P.; TAI, C. Y.; CHEN, B. H. Improved liquid chromatographic method for determination of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica*). **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 261-268, 2004.

CHOW, C. K. Vitamin E. In: STIPANUK, N. H. (Ed.). **Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition**. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 2000. p. 584-598.

De WHALLEY, C.; RANKIN, S. M.; HOULT, J. R.; JESSUP, W.; LEAKE, D. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. **Biochemical Pharmacology**, v. 39, p. 1743-50, 1990.

DIPLOCK, A. T.; CHARLEUX, J. L.; CROZIER-WILLI, G.; KOK, F. J.; RICE-EVANS, C.; ROBERFROID, M. et al. Functional food science and defense against reactive oxidative species. **British Journal Nutrition**, v. 80, p. S77-S112, 1998.

DUTHIE, G.; CROZIER, A. Plant-derived phenolic antioxidants. **Current Opinion Lipidology**, v. 11, p. 43-47, 2000.

FAOSTAT. FAO Statistical Database – Agriculture. Available in: <<http://apps.fao.org>>. Accessed in: 12 Feb. 2005

FRANKE, A. A.; CUSTER, L. J.; ARARAKI, C.; MURPHY, S. P. Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 1-35, 2004.

GODOY, T. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. **Lebensm. – Wiss Technologie**, v. 22, p. 100-103, 1989.

GONZALEZ, F. J. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1. **Mutation Research**, v. 569, p. 101-110, 2005.

GORDON, M. H. Dietary antioxidants in disease prevention. **Natural Product Reports**, v. 13, p. 265-73, 1996.

GRANADO, F.; OLMEDILLA, B.; GIL-MARTINEZ, E.; BLANCO, I. A fast, reliable and low-cost saponification protocol for analysis of carotenoids in vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, p. 479-489, 2001.

HALLIWELL, B. Antioxidants and human disease: a general introduction. **Nutrition Review**, v. 55, p. S44-S49, 1997.

HIGBY, W.K. A. A simplified method for determination of some aspects of the carotenoid distribution in natural and carotene fortified orange juice. **Journal of Food Science**, v. 27, p. 42-49, 1962.

HOLLMAN, P. C.; URIES, J. H.; VAN LEEUWEN, S. D.; MENGELERS, M.J.; KATAN, M. B. Absorption of dietary quercetin-glycosides and quercetin in health ileostomy volunteers. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, p. 1276-82, 1995.

- HUDSON, B. J. F.; LEWIS, J. I. Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils: structural criteria for activity. **Food Chemistry**, v. 10, p. 47-51, 1983.
- HULSHOF, P. J. M.; XU, C.; VAN DE BOVENKAMP, P.; MUHITAL, WEST, C. E. Application of a validated method for determination of provitamin A carotenoids in Indonesian foods of different maturity and origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 1147-1179, 1997.
- IOM, 1998. Food and Nutrition Board. **Dietary reference intakes: proposed definition and plan for review of dietary antioxidants and related compounds**. Published on: August 5, 1998. Available in: <www.nap.edu>. Accessed in: 15/05/2002.
- IOM, 2001. INSTITUTE OF MEDICINE - Food and Nutrition Board. **Dietary references intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington DC: National Academic Press, 2001.
- JACKSON, M. J.; PAPA, S.; BOLAÑOS, J.; BRUCKDORFER, R.; CARLSEN, H.; ELLIOT, R. M.; FLIER, J.; GRIFITHS, H. R.; DEALES, S.; HOLST, B.; LORUSSO, M.; LUND, E.; MOSKAUG, J. O. MOSER, U. PAOLA, M. D.; POLIDORE, M. C.; SIGNORIDE, A.; STAHL, W.; VIÑA-RIBAS, J.; ASTLEY, S. B. Antioxidants, reactive oxygen and nitrogen species, gene induction and mitochondrial function. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 23, p. 209-85, 2002.
- KAUER, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the milenium’s heath. **International Journal of Food and Science Technology**, v. 36, p. 703-725, 2001.
- KEHRER, J. P.; LUND, G. L. Cellular reducing equivalents and oxidative stress. **Free Radical Biologic and Medicine**, v. 17, p. 65-75, 1994.
- KRINSKY, N. I. Mechanism of action of biological antioxidants. **Proceedings of Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 200, p. 248-54, 1992.
- LEE, S. K.; KADER, A. A preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 207-220, 2000.
- LETERME, P.; BULDGEN, A.; ESTRADA, F.; LONDOÑO, A. M. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food Chemistry**, v. 95, p. 644-652, 2006.
- LINDSAY, S. B; ASTLEY, D. G. European research on the functional effects of dietary antioxidants (EUOFEDA). **Molecular Aspects of Medicine**, v. 23, p. 287-291, 2002.
- LOO, G. Redox-sensitive mechanism of phytochemical-mediated inhibition of cancer cell proliferation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 4, p. 64-73, 2003.
- LOPACZYNSKI, W.; ZESEL, S. H. Antioxidants, prograded cell death and cancer. **Nutrition Research**, v. 21, n. 1-2, p. 295-307, 2001.

- LUTZ, C.; NAVAKOUDIS, E.; SEIDLITZ, H. K.; KOTZABASIS, K. Simulated solar irradiation with enhanced UV-B adjust plastidi- and thylakoid- associated polyamine changes for UV-B protection. **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1710, p. 24-33, 2005.
- MANGIAPANE, H.; THOMSON, J.; SALTER, A.; BROWN, S.; BELL, G. P.; WHITE, D. A. The inhibition of the oxidation of low density lipoproteins by (+) catechin, a naturally occurring flavonoid. **Biochemical Pharmacology**, v. 43, p. 445-50, 1992.
- MEISTER, A.; TATE, S. S. Glutathione and related γ - glutamyl compounds: biosynthesis and utilization. **Annual Review Biochemical**, v. 45, p. 559-604, 1976.
- MANN, J.; DAVIDSON, R. S.; HOBBS, J. B.; BANTHORPE, D. V.; HARBORNE, J. B. **Natural products: their chemistry and biological significance**. 3.ed. Harlow: Addison Wesley Longman Limited, 1996. p. 362-63.
- MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 128-130, 1998.
- MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; BRITTON, G. HPLC and spectrometric analysis of carotenoids from mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 120 -123, 1997.
- MILLER, N.; RICE-EVANS, C. A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolics antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. **Food Chemistry**, v. 60, p. 331-337, 1997.
- NAGY, S. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 8-18, 1980.
- NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; BUSLIG, B. S.; SHAW, P. E. Simultaneous detection of dehydroascorbic, ascorbic, and some organic acids in fruits and vegetables by H¹PLC. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 1127-1130, 1992.
- NORDBERG, J.; ARNÉR, E. S. J. Reactive oxygen species antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, p. 1287-1312, 2001.
- PACKER, L.; WITT, E. H.; TRISCHLER, H. J. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. **Free Radical Biology and Medicine**, v.19, p. 227-50, 1995.
- PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; STRINGHETA, P. C.; BRANDÃO, S. C. C.; AZEREDO, R. M. C. Carotenoid retention and vitamina A value in carrot (*Daucus carota* L.) prepared by food service. **Food Chemistry**, v. 61, p. 145-151, 1998.
- POTT, I.; BREITHAUPT, D. E.; CARLE, R. Detection of unusual carotenoid esters ins fresh mango (*Mangifera indica* L. cv. "Kent"). **Phytochemistry**, v. 64, p. 825-9, 2003.

- POTT, I.; MARX, M.; NEIDHART, S.; MÜHLBAUER, W.; CARLE, R. Quantitative determination of β -carotene stereoisomers in fresh-dried, and solar-dried mangoes (*Mangifera indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, p. 4527-4531, 2003.
- PRICE, V. E.; STERLING, W. R.; TARANTOLA, V. A.; HARTLEY, R. N.; RECHIGL, M. The kinetics of catalase synthesis and destruction in vivo. **Journal Biological Chemistry**, v. 237, p. 3468-3475, 1962.
- RAMOS, A. M.; D'ARAÚJO COUTO, F. A.; REZENDE, P. M.; LELIS, F. M. V.; BENEVIDES, S. D.; PEREZ, R. **Manga Ubá**: boas práticas agrícolas para produção destinada à agroindústria. Viçosa, MG: UFV, 2005. 64 p.
- REMACLE, J.; LAMBERT, D.; RAES, M.; PIGEOLET, E.; MICHIELS, D.; TOUSSAINT, O. Importance of various antioxidant enzymes for cell stability: confrontation between theoretical and experimental data. **The Biochemical Journal**, v. 286, p. 41- 46, 1992.
- RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELUZIO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, v. 21, p.133-149, 2005.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolics acids. **Free Radical Biol & Med.**, v. 20, p. 933-56, 1996.
- ROCK, C. L.; JACOB, R. A.; BOWEN, P. E. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamina C, vitamina E and the carotenoids. **JADA**, v. 96, p. 693-702, 1996.
- RODRIGUEZ, D. B.; RAYMUNDO, L. C.; LEE, T.; SIMPSON, K. L.; CHICHESTER, C. O. Carotenoids pigment changes in ripening *Mamordica charantia* fruits. **Annals of Botany**, v. 40, p. 615-624, 1976.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Some considerations in generating carotenoid data for food composition tables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, p. 641-647, 2000.
- ROSS, J. A. KASUM, C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review Nutrition**, v. 22, p. 19-34, 2002.
- SANTOS, C. A. F. **Cultivo da mangueira** : cultivares. Embrapa Semi-Árido, versão eletrônica – julho/2004. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 12 dez. 2005.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073S-2085S, 2000.
- SETIAWAN, B.; SULAEMAN, A.; GIRAUD, D. W.; DRISKELL, J. A. Carotenoid content of selected Indonesian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, p. 169-176, 2001.

- SHIEBER, A.; ULRICH, W.; CARLE, R. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 1, p. 161-166, 2000.
- SIES, H. **Oxidative stress**. London: Academic, 1985. 507 p.
- SILVA, F. O. Total ascorbic acid determination in fresh squeezed orange juice by gas chromatography. **Food Control**, v. 16, p. 55-58, 2005.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-177, 1999.
- SOARES, L. M. V.; SHISHIDO, K.; MORAES, A. M. M.; MOREIRA, V. A. Composição mineral de sucos concentrados de frutas brasileiras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 202-206, 2004.
- SORG, O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? **Comptes Rendus Biologies**, v. 327, p. 649-62, 2004.
- SOUZA, S. L.; MOREIRA, A. P. B.; PINHEIRO SANT'ANA, H. M.; ALENCAR, E. R. Conteúdo de carotenos e provitamina A em frutas comercializadas em Viçosa, Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 26, p. 453-459, 2004.
- STADTMAN, T. C. Biosynthesis and function of selenocysteine - containing enzymes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, p. 16257-6260, 1991.
- STAHL, W.; VAN DEN BERG, H.; ARTHUR, J.; BAST, A.; DAINLY, J.; FAULKS, R. M.; GARTNER, C.; HAENEN, G.; HOLLMAN, P.; HOLST, B.; KELLY, F. J.; POLIDORE, M. C.; RICE-EVANS, C.; SOUTHON, S.; VAN VLIET, T.; VINA-RIBES, J.; WILLIAMSON, G.; ASTLEY, S. B. Bioavailability and metabolism. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 23, p. 39-100, 2002.
- TACO - TABELA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS. Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome. Disponível em: <www.unicamp.br/nepa/taco/tabela>. Acesso em: 12 jun. 2006.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Califórnia: Benjamin/Cummings Publishing Company, 1991. p. 328-45.
- TANNENBAUEN, S. R.; WISHNOK, J. S.; LEAF, C. D. Inhibition of nitrosamine formation by ascorbic acid. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, p. 2475-2505, 1991. (Suppl., 1)
- THURNHAM, D. I. Carotenoids: functions and fallacies. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 53, p. 77-87, 1994.
- VAN ACKER, S. A. B. E.; GROOT, M. J.; VAN DEN BERG, D.; TROMP, M. N. J. L.; KELDER, G. D.; VAN DER VIJGH, W. J. F.; BAST, A. A quantum chemical explanation of the activity of flavonoids. **Chemical Research Toxicology**, v. 9, p. 1305-1312, 1996.

VILAS BOAS, B. M.; NUNES, E. E.; FIORINI, F. V. A.; LIMA, L. C. O.; BARROS VILAS BOAS, E. V.; COELHO, A. H. R. Avaliação da qualidade de mangas “Tommy Atkins” minimamente processadas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 540-543, 2004.

VINCI, G.; BOTRÉ, F.; MELE, G.; RUGGIERI, G. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. **Food Chemistry**, v. 53, p. 211-214, 1995.

WEBER, P.; BENDICH, A.; SCHALCH, W. Vitamin C and human health – a review of a recent data relevant to requirements. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 66, p. 19-30, 1996.

WINKLER, B. S.; ORSELLI, S. M.; REX, T. S. The redox couple between glutathione and ascorbic acid: A chemical and physiological perspective. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 17, p. 333-49, 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human vitamin mineral requirements**. Report of a joint FAO/WHO, expert consultation Bangkok. Tailand: Food and Nutrition Division. FAO, ROMA, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Global prevalence of vitamin A deficiency: micronutrient deficiency information system; Working Paper 2**. Geneva: 1995. (Document WHO/NUT/95.3).

CAPÍTULO 3

POTENCIAL ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DA POLPA DAS QUATRO VARIEDADES DE MANGA

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, observa-se aumento do interesse em estudos sobre a capacidade antioxidante de frutas e vegetais, visto que os antioxidantes ingeridos na dieta podem proteger o organismo humano contra as doenças relacionadas ao estresse oxidativo (GUTTERIDGE; HALLIWEL, 2000; AMES et al., 1993). É importante caracterizar e quantificar os compostos antioxidantes nas frutas, mas a análise do seu potencial antioxidante é muito útil para identificar e selecionar fontes com propriedades funcionais mais elevadas (WANG et al., 1996).

Existem estudos sobre o potencial antioxidante em sucos de laranja, da Itália (ARENA et al., 2001); damascos, da Espanha (RUIZ et al., 2005); fruta regional *Dillenia indica*, da Malásia (ABDILLE et al., 2005); morangos, da Austrália; goiaba e abacate, da Tailândia; laranja e limão, da Austrália; abacaxi, da Malásia; maçã, da China; manga, das Filipinas; e Kiwi, da Nova Zelândia (LEONG; SHUI, 2002). As comparações entre os vários estudos são inadequadas, uma vez que testes distintos são utilizados em condições de ensaio muito diversas.

Apesar de no Brasil a pesquisa sobre o potencial antioxidante de alimentos em geral não ser ainda um foco de interesse, novos conceitos surgiram, enfatizando os efeitos benéficos sobre a saúde humana de substâncias presentes naturalmente nos

alimentos de origem vegetal, incluindo aquelas com função antioxidante. Diante dessa realidade científica, o Brasil já dispõe de regulamentos técnicos que estabelecem diretrizes básicas para a análise e comprovação de propriedades funcionais dos alimentos (ANVISA, 1999). São permitidas as alegações relacionando *manutenção de saúde e redução de risco de doenças*, sendo proibidas as alegações *cura e prevenção de doenças* (LAJOLO, 2002). Entretanto, ainda são escassos os estudos sobre o potencial antioxidante de alimentos produzidos no País, especialmente de frutas. Estudos sobre o potencial antioxidante de frutas tropicais e subtropicais são necessários para a elucidação dos seus efeitos funcionais, já que elas são consumidas no mundo inteiro.

O potencial antioxidante dos alimentos pode ser avaliado através de testes *in vitro*. O teste da atividade de retirada de radical utiliza o desaparecimento do radical estável 1,1-diphenil-2-picril-hidrazil (DPPH) para avaliar a atividade de retirada de radical. Nesse teste, os extratos que contêm espécies antioxidantes reduzem o radical estável DPPH• (cor púrpura) à difenilpicrilhidrazina (cor amarelada). O método é baseado na redução do DPPH na presença de eliminadores de radicais livres, resultando na formação de uma espécie não-radical (BLOIS, 1958).

Algumas substâncias redutoras são agentes terminadores de reações de radical livre em cadeia. No teste do poder redutor, os redutores presentes nas amostras testadas reduzem o ferricianeto a ferrocianeto. A redução do ferricianeto pode ser avaliada monitorando-se, espectrofotometricamente, em 700 nm, a formação do complexo $\text{Fe}_4[\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6]_3$ (YEN; CHEN, 1995).

Pesquisas com mangas têm focado o valor nutricional da fruta como fonte de vitamina C e de carotenóides, porém o seu potencial antioxidante não foi ainda investigado. Acredita-se que a divulgação do potencial antioxidante de frutas brasileiras seja uma estratégia para agregar valor a elas nos mercados interno e externo e incentivar o seu consumo. Neste estudo, investigou-se o potencial antioxidante da polpa de quatro variedades de manga de valor comercial, cultivadas em Minas Gerais, utilizando-se os testes do DPPH e do poder redutor.

2 OBJETIVOS

Avaliar *in vitro* o potencial antioxidante da polpa das quatro variedades de manga, utilizando-se o teste de Atividade de Retirada de Radical e o teste do Poder Redutor.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Butil-hidroxianisol (BHA), 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH), reagente de Folin-Ciocalteu, cloreto férrico, ferricianeto de potássio, ácido tricloroacético e ácido gálico foram adquiridos da Sigma. Os demais reagentes foram de grau analítico.

3.2 Obtenção dos extratos

Os extratos foram obtidos utilizando-se o sistema de solvente metanol: água (60:40 p/v), conforme descrito por Bloor et al. (2001). O material liofilizado, na concentração de 0,2 g mL⁻¹ de mistura de solvente, foi submetido à agitação a 180 rpm por 30 minutos, em temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 1.000 g por 10 minutos. As frações do sobrenadante foram diluídas para obter extratos nas concentrações de 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 e 0,2 g mL⁻¹. Alíquotas dos extratos foram utilizadas nos testes antioxidantes.

3.3 Avaliação do potencial antioxidante

3.3.1 Teste do DPPH

A atividade de retirada de radical – ARR das amostras foi avaliada de acordo com o método descrito por Blois (1958). Uma alíquota (100 microlitros) da amostra-teste, em concentrações variando de 0,01 a 0,2 g/mL (polpa liofilizada/mistura de solvente), foi adicionada a uma solução metanólica de DPPH 0,1 mM (5,0 mL). A mistura foi agitada por um minuto e deixada em repouso, em temperatura ambiente, por 30 minutos no escuro. A absorvância foi lida a 517 nm. A capacidade para eliminar o radical DPPH foi calculada utilizando a equação seguinte:

$$\text{Atividade de retirada de radical (\%)} = \{(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco da amostra}}/A_{\text{controle}})\} \times 100$$

em que A_{controle} é a absorvância do controle (solução de DPPH sem a amostra); A_{amostra} é a absorvância da amostra-teste (solução de DPPH mais a amostra-teste); e $A_{\text{branco da amostra}}$ é a absorvância da amostra apenas (amostra sem a solução de DPPH). Padrões comerciais de antioxidantes – BHA, ácido gálico e catequina – foram usados como controles positivos.

3.3.2 Teste do Poder Redutor (PR)

O poder redutor das amostras, em concentrações variando de 0,01 a 0,2 g mL⁻¹, foi determinado como descrito por Oyaizu (1986). As amostras (1,0 mL) foram misturadas com tampão fosfato 0,2 M pH 6,6 (1,0 mL) e solução aquosa de ferricianeto de potássio 1% (1,5 mL). Após 30 minutos de incubação a 50 °C, ácido tricloroacético 10% (1,5 mL) foi adicionado à mistura, sendo esta centrifugada a 1.000 g por 10 minutos. Em seguida, a camada superior da solução (2,0 mL) foi coletada e misturada com água destilada (2,0 mL) e cloreto férrico 0,1% (0,5 mL); a absorvância foi lida em 700 nm. Maior absorvância da mistura de reação indica maior poder redutor da amostra.

3.4 Análise estatística

As determinações foram feitas em triplicata. Na análise estatística foi utilizado o *software* ESTATISTICA, versão 6.0, sendo realizada análise de variância; quando esta foi significativa, os dados qualitativos foram avaliados por teste de média, e os quantitativos, por regressão. Valores de *p* inferiores a 0,05% foram considerados significantes. Foram considerados comparáveis valores de *p* > 0,05%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Atividade de retirada de radical pelo teste do DPPH

Os extratos da polpa das quatro variedades de manga mostraram capacidade de eliminar DPPH de maneira dose-dependente (Figura 1). Em todas as concentrações testadas o extrato da polpa da manga Ubá mostrou Atividade de Retirada de Radical (ARR) estatisticamente maior que a dos demais. Nas outras variedades a ordem de classificação variou em cada concentração.

A Tabela 1 mostra, em ordem decrescente, a classificação das cultivares no teste do DPPH: Ubá > Palmer, Haden > Tommy Atkins (0,01 g mL⁻¹); Ubá > Tommy Atkins > Haden > Palmer (0,025 g mL⁻¹); Ubá > Tommy Atkins > Haden > Palmer (0,05 g mL⁻¹); Ubá > Haden, Tommy Atkins > Palmer (0,1 g mL⁻¹); e Ubá > Haden > Palmer > Tommy Atkins (0,2 g mL⁻¹). Na concentração de 0,05 mg mL⁻¹ a variedade Ubá eliminou mais que 94% de radicais DPPH.

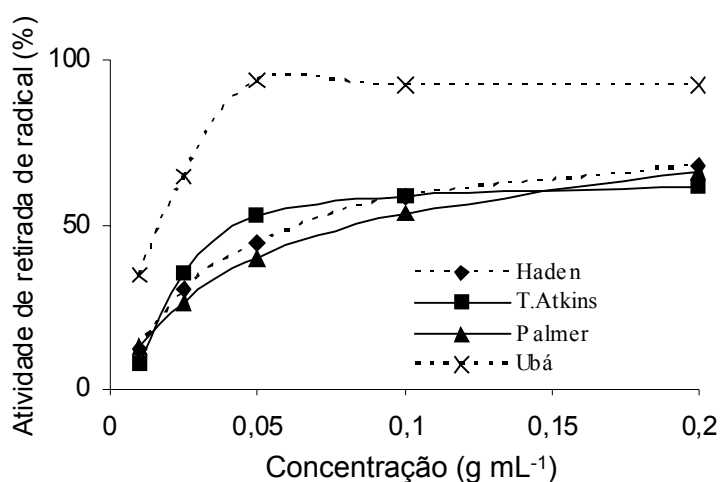


Figura 1 – Atividade de retirada de radical (ARR) dos extratos de polpa das mangas analisadas, em cinco concentrações.

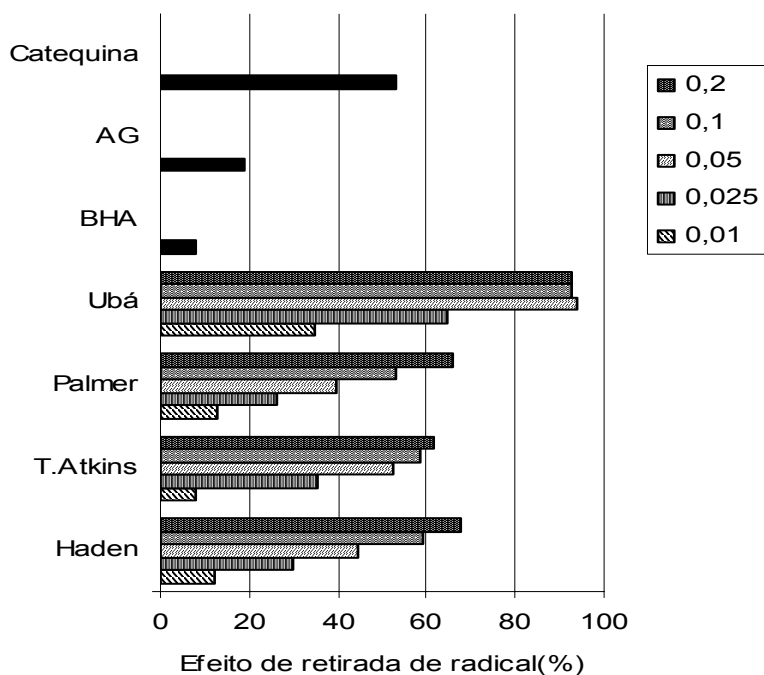
As diferenças observadas entre as variedades Haden, Tommy Atkins e Palmer não mantiveram o mesmo perfil em todas as concentrações. Apenas na concentração de 0,05 g/mL a ARR foi estatisticamente diferente para todas as variedades. Nas demais concentrações houve semelhança na ARR entre duas das variedades, com várias combinações em cada concentração. As cultivares Haden e Palmer mostraram valores de ARR estatisticamente iguais nos extremos das concentrações (0,01 e 0,2 g mL⁻¹) e diferiram estatisticamente em concentrações intermediárias, com Haden sendo superior no teste. A cultivar Tommy Atkins mostrou a menor ARR nos extremos das concentrações (0,01 e 0,2 g mL⁻¹), mas obteve o segundo lugar na ordem de classificação na concentração de 0,025 e 0,05 g mL⁻¹. O perfil desses resultados pode ser atribuído à concentração de compostos que têm efeitos positivos no teste, considerando que os resultados deste mostraram valores graduais e crescentes de ARR até a maior concentração testada, denotando que não houve saturação do sistema de reação. Apenas o teste com a variedade Ubá mostrou saturação do sistema em concentrações maiores que 0,05 g mL⁻¹.

O incremento nos valores de ARR com o aumento da concentração do extrato foi de intensidade diferente para cada variedade. O aumento da concentração do extrato da variedade Tommy Atkins de 0,01 para 0,025 g mL⁻¹ resultou no aumento de ARR de 7,64 para 35,20, enquanto as outras variedades mostraram aumentos de valores de ARR proporcionais ao aumento da concentração do extrato. A ordem de classificação foi mantida quando a concentração aumentou de 0,025 para 0,05 g mL⁻¹. Entretanto, em

concentrações superiores a 0,05 g/mL, a variedade Tommy Atkins mostrou aumentos de ARR progressivamente menores com o aumento da concentração.

Para confirmar o potencial antioxidante diferenciado entre as variedades Haden, Tommy Atkins e Palmer, são necessários estudos mais detalhados e com objetivos específicos, a fim de verificar se os efeitos biológicos são diferentes no organismo humano, após a ingestão. Pode ser que as diferenças no potencial antioxidante *in vitro* não resultem em efeitos biológicos diferentes.

A comparação da ARR dos extratos com os padrões de antioxidantes a 100 ppm mostrou que a variedade Ubá exibiu, em todas as concentrações testadas, maior ARR que o ácido gálico e as outras três variedades tiveram melhor *scores* que o mesmo padrão em concentração igual ou acima de 0,025 g mL⁻¹ (Figura 2). Com exceção da Tommy Atkins, todas as outras cultivares na menor concentração testada (0,01 g mL⁻¹) mostraram ARR superior ao BHA.



AG = ácido gálico; BHA= butil-hidroxianisol.

Figura 2 – Comparação da atividade de retirada de radical dos extratos de polpa das mangas em cinco concentrações (g mL⁻¹), com os padrões de antioxidantes a 100 ppm.

Os extratos da polpa das cultivares Haden, Tommy Atkins e Palmer em concentração até 0,05 g mL⁻¹ mostraram atividade antioxidante menor que a da

catequina, porém a variedade Ubá superou esta nas concentrações igual e acima de $0,025 \text{ g mL}^{-1}$. Na concentração de $0,2 \text{ g mL}^{-1}$, todas as outras cultivares exibiram valores de ARR próximos ou até maiores do que os da catequina.

Não foi observada relação entre a Atividade de Retirada de Radical e o teor de fenólicos totais. Com exceção da variedade Ubá, que apresentou *scores* mais elevados no teste de DPPH e contém também níveis mais elevados de fenólicos, as outras variedades não mostraram associação direta entre a concentração de fenólicos no ensaio e os resultados do teste de DPPH. Por exemplo, a manga Tommy Atkins contém menor teor de fenólicos, mas exibiu maior ARR do que a cultivar Palmer, em algumas concentrações. Não só a concentração, mas também os tipos de antioxidantes influenciam o potencial antioxidante da amostra.

4.2 Poder redutor

Os valores de absorvância em 700 nm (Tabela 1) mostram que as quatro variedades de manga apresentaram a capacidade para reduzir ferro (III) de maneira dose-dependente. Semelhantemente aos resultados obtidos para a ARR (teste de DPPH), o poder redutor (PR) do extrato da polpa da cultivar Ubá foi o mais elevado entre as quatro variedades (Figura 3).

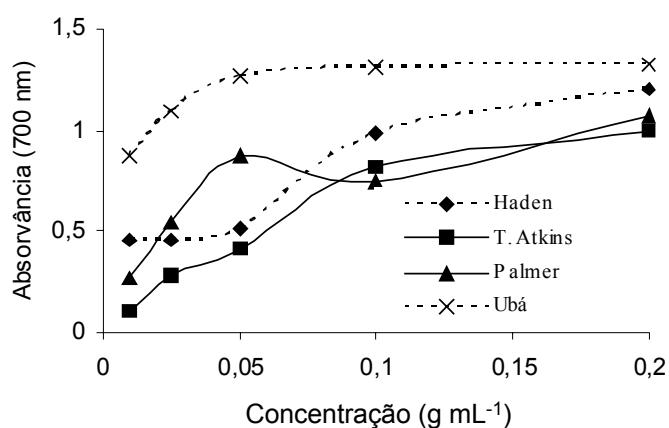


Figura 3 - Poder redutor dos extratos de polpa das mangas em cinco concentrações.

A variedade Tommy Atkins, em concentrações até $0,05 \text{ g mL}^{-1}$, mostrou menor PR e, em concentrações acima desta, apresentou similaridade com a Haden e a Palmer em concentrações de $0,1$ e $0,2 \text{ g mL}^{-1}$, respectivamente (Tabela 1). A ordem de

classificação dos valores do PR: Ubá > Haden > Palmer > Tommy Atkins foi mantida em concentrações de 0,01 e 0,2 g mL⁻¹; em concentrações intermediárias (0,025; 0,05 e 0,1 g mL⁻¹) foi observada a ordem: Ubá > Palmer > Haden > Tommy Atkins; e na concentração de 0,1 g mL⁻¹ a classificação foi Ubá > Haden > Palmer, Tommy Atkins (Tabela 1).

Tabela 1 – Potencial antioxidante dos extratos de polpa das mangas nos testes da atividade de retirada de radical – DPPH e do poder redutor - PR

Concentração (g mL ⁻¹)	Classificação	DPPH (%)	Classificação	PR (A _{700 nm})
0,010	Ubá	34,56 A	Ubá	0,88 A
	Palmer	12,54 B	Haden	0,46 B
	Haden	12,31 B	Palmer	0,27 C
	Tommy Atkins	7,64 C	Tommy Atkins	0,11 D
0,025	Ubá	64,39 A	Ubá	1,09 A
	Tommy Atkins	35,20 B	Palmer	0,55 B
	Haden	29,88 B	Haden	0,46 C
	Palmer	26,29 C	Tommy Atkins	0,28 D
0,050	Ubá	94,18 A	Ubá	1,27 A
	Tommy Atkins	52,61 B	Palmer	0,88 B
	Haden	44,34 C	Haden	0,52 C
	Palmer	39,56 D	Tommy Atkins	0,42 D
0,100	Ubá	92,82 A	Ubá	1,31 A
	Haden	58,98 B	Palmer	0,99 B
	Tommy Atkins	58,49 B	Haden	0,82 C
	Palmer	53,34 C	Tommy Atkins	0,75 C
0,200	Ubá	92,45 A	Ubá	1,32 A
	Haden	67,80 B	Haden	1,20 B
	Palmer	66,08 B	Palmer	1,07 C
	Tommy Atkins	61,85 C	Tommy Atkins	1,00 C
100 ppm	BHA	7,70	BHA	0,33
100 ppm	Ácido gálico	18,78	Ácido gálico	0,67
100 ppm	Catequina	53,00	Catequina	1,01

Médias na coluna seguidas por letra igual em cada concentração não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5% (n = 3). BHA = butil-hidroxianisol.

O poder redutor do extrato da variedade Ubá, na menor concentração testada (0,01 g mL⁻¹), mostrou valor superior ao PR dos antioxidantes BHA e ácido gálico e, na concentração de 0,025 g mL⁻¹, apresentou PR superior ao de catequina. A cultivar Tommy Atkins, nas concentrações de 0,050 e 0,100 g mL⁻¹, superou o BHA e o ácido gálico, respectivamente. Na concentração de 0,02 g mL⁻¹, o extrato das mangas mostrou PR superior ou no mínimo comparável ao valor de PR dos padrões (Figura 4).

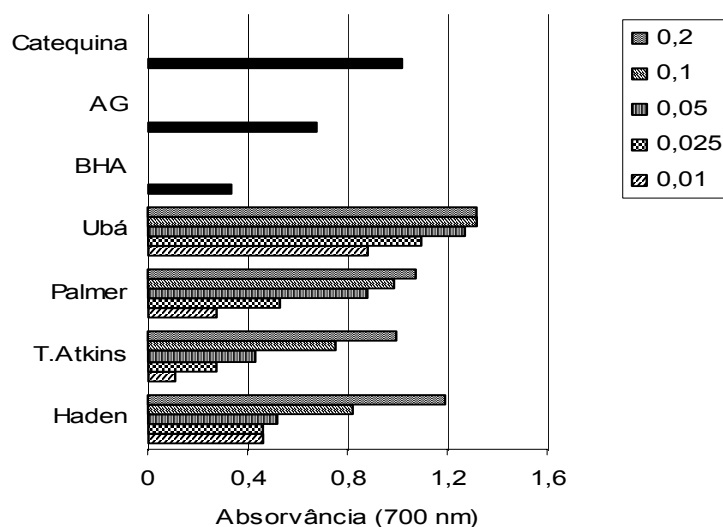


Figura 4 – Comparação do poder redutor dos extratos de polpa das mangas em cinco concentrações (g mL^{-1}), com os padrões de antioxidantes a 100 ppm.

Similarmente aos resultados obtidos para o teste de DPPH, os valores de PR das variedades Haden, Tommy Atkins e Palmer não mostraram relação direta com o teor de fenólicos. De fato, outros constituintes contribuem para a atividade antioxidante em ambos os testes. A polpa de manga contém ascorbato, que apresenta também efeito positivo no teste.

O potencial antioxidante das mangas não foi comparado com o de outras frutas, pois, apesar de existirem estudos similares com maçãs, peras, pêssegos, ameixas e uvas (KONDO et al., 2002; LEONTOWICZ et al., 2002), diferenças na concentração, no tipo de extratos e nas condições de análise tornam as comparações inadequadas. Estudos com frutas brasileiras, nas mesmas condições de análise, são necessários para efeito de comparação.

Os testes *in vitro* são úteis para a triagem do potencial antioxidante de frutas e vegetais, porém os estudos *in vivo* são indispensáveis para complementar o conhecimento sobre a bioatividade dos alimentos relacionada com o mecanismo antioxidante.

5 CONCLUSÃO

Os extratos das quatro variedades de manga de interesse comercial demonstraram potencial antioxidante nos dois testes, com resultados comparáveis aos padrões dos antioxidantes ácido gálico, BHA e catequina a 100 ppm.

Há diferenças entre variedades no potencial antioxidante de mangas, sendo a manga Ubá superior em ambos os testes. Na concentração de 0,05 g mL⁻¹, a ARR da manga Ubá é 1,79; 2,12 e 2,38 vezes maior que a das variedades Tommy Atkins, Haden e Palmer, e o PR apresenta-se superior aos das mesmas variedades em 3,02; 2,44 e 1,44, respectivamente.

6 REFERÊNCIAS

ABDILLE, M. H.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASKA, G. K.; JENA, B. S. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, v. 90, p. 891-896, 2005.

AMES, B. M.; SHIGENAGA, M. K.; HAWGYN, T. M. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. **Proceedings National of Academic Science of USA**, v. 90, p. 7915-7922, 1993.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Decreto 16, 17, 18 e 19 de abril de 1999**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 19-06-2006.

ARENA, E.; FALLICO, B.; MACCARONE, E. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. **Food Chemistry**, v. 74, n. 4, p. 423-427, 2001.

BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SUBAR, A. Fruit vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. **Nutrition and Cancer**, v. 18, p. 1-29, 1992.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BLOOR, S. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. **Methods in Enzymology**, v. 335, p. 3-14, 2001.

GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. **Annual New York Academic Science**, v. 899, p. 136-147, 2000.

KONDO, S.; TSUDA, K.; MUTO, N.; UEDA, J. Antioxidant activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development in selected apple cultivars. **Scientia Horticulture**, v. 96, p. 177-185, 2002.

LAJOLO, F. Functional foods: Latin American perspectives. **British Journal of Nutrition**, v. 88, p. S145-S150, 2002. (Suppl., 2)

LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, v. 76, p. 69-75, 2002.

LEONTOWICZ, H.; GORISTEIN, S.; LOJEK, A.; LEONTOWICZ, M.; FORTUNY, S. R.; PARK, Y.; JUNG, S. T.; TRAKHTENBERG, S.; MARTIN – BELLOSO, O. Comparative content of some bioactive compounds in apples, peaches, and pears and their influence on lipids and antioxidant capacity in rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 603-610, 2002.

OYAIZU, M. Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine. **Eiyogaku Zasshi**, v. 44, p. 307-315, 1986.

RUIZ, D.; EGEEA, J. GIL, M. I.; TOMÁZ-BARBERÁN, F. A. Characterization and quantification of phenolic compounds in new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 9544-9552, 2005.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 701-705, 1996.

YEN, G. C.; CHEN, H. Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 27-37, 1995.

CAPÍTULO 4

IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIS E DE XANTONA NA POLPA DAS QUATRO VARIEDADES DE MANGA

1 INTRODUÇÃO

1.1 A importância dos estudos sobre a composição dos alimentos em compostos fenólicos para a pesquisa sobre antioxidantes da dieta

Atualmente há grande interesse na pesquisa sobre os compostos fenólicos presentes nos alimentos vegetais em razão do seu potencial de bioatividade, relacionado principalmente ao seu efeito fisiológico antioxidante (KAUER; KAPOOR, 2001). Além da importância dos nutrientes antioxidantes, numerosos outros antioxidantes não-nutrientes são consumidos diariamente, freqüentemente em concentrações superiores às dos nutrientes (DECKER, 1995). Estima-se que o consumo humano desse grupo de compostos é de até 1,0 grama por dia, incluindo fenóis neutros, ácidos fenólicos e flavonóides (SCALBERT; WILLIANSOON, 2000). No Brasil são escassos os estudos sobre o consumo de flavonóides. Em estudo realizado com alguns vegetais e laranjas mais comumente consumidos pela população brasileira, verificou-se que os glicosídeos de quercetina são os flavonóides mais abundantes e que a estimativa de consumo diário é de 60 a 106 miligramas (ARABBI et al., 2004).

Todos os compostos fenólicos contêm um grupo fenol – função hidroxil em um anel aromático. A presença de estruturas em anel conjugado e de grupos hidroxil possibilita aos compostos fenólicos eliminar e estabilizar radicais livres

(SHAHIDI et al., 1992). A presença de grupos ácidos carboxílicos em muitos compostos fenólicos pode atribuir a estes a propriedade de inibir a oxidação de lipídios por mecanismo de quelação de metal (HUDSON; LEWIS, 1983). Tem sido demonstrado também que compostos fenólicos inibem a atividade das enzimas prooxidantes lipoxigenase e ciclooxigenase (LAUGHTON et al., 1991). Os fenólicos, em vegetais, ocorrem freqüentemente como derivados conjugados e são subdivididos em 21 grupos, incluindo milhares de compostos (Tabela 1).

Tabela 1 – As principais classes de fenólicos em plantas

Número de átomos de carbono	Esqueleto básico	Classe	Exemplo
6	C ₆	fenóis simples benzoquinonas	catecol, hidroquinona 2,6- dimetoxibenzoquinona
7	C ₆ -C ₁	ácidos fenólicos	<i>p</i> -hidroxibenzóico, salicílico
8	C ₆ -C ₂	acetofenonas ácidos fenilacéticos	3-acetil-6-metoxibenzaldeído <i>p</i> -hidroxifenilacético
9	C ₆ -C ₃	ácidos hidroxicinâmicos fenilpropenos cumarinas isocumarinas cromanas	caféico, ferúlico miristicina, eugenol umbeliferona bergenina eugenina
10	C ₆ -C ₄	naftoquinonas	juglona, plumbagina
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	xantonas	mangiferina
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	antraquinonas	emodina
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	flavonóides isoflavonóides	quercetina, malvina genisteína
18	(C ₆ -C ₃) ₂	lignanas	podofilotoxina
30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	biflavonóides	amentoflavona
<i>N</i>	(C ₆ -C ₃) _n (C ₆) _n (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	ligninas melaninas catecol flavolanas (taninos condensados)	

Fonte: Mann et al. (1996).

A classe dos compostos fenólicos da dieta mais explorada atualmente é a dos flavonóides, os quais contêm vários grupos hidroxil fenólicos nas estruturas em anel, designadas de A, B e C. Variações estruturais nos anéis dividem os flavonóides em famílias ou subclasses (Tabela 2). O padrão de substituição (hidroxilação, metoxilação, prenilação ou glicosilação) é o principal determinante da variação estrutural dos flavonóides (PRASAIN et al., 2004).

Tabela 2 – Subclasses de flavonóides

Flavonóide

Subclasses	Estrutura	Exemplos de Compostos	Posições das hidroxilas nos anéis				
			3	5	7	3'	4'
Flavan-3-ol		Catequina	OH	OH	OH	OH	OH
Flavanona		Taxifolina	OH	OH	OH	OH	OH
		Naringenina	-	OH	OH	-	OH
Flavona		Luteolina	-	OH	OH	OH	OH
		Apigenina	-	OH	OH	-	OH
Flavon-3-ol		Quercetina	OH	OH	OH	OH	OH
		Kaempferol	OH	OH	OH	-	OH
Isoflavona		Genisteína	-	OH	OH	-	OH

Fonte: Awad (2002).

Embora algumas vezes estejam presentes como agliconas, os flavonóides são mais comumente encontrados em tecidos vegetais na forma de *O*-glicosídeos. Acreditava-se, inicialmente, que a absorção desses compostos era desprezível por causa da presença dos carboidratos. Entretanto, estudos mais recentes mostraram que a sua biodisponibilidade é relevante (ROS; KASUM, 2002). Pesquisas realizadas com

quercetina, na forma de aglicona e de glicosídios, mostraram que os glicosídios de quercetina foram absorvidos mais eficientemente do que a forma aglicona (HOLLMAN et al., 1995).

1.2 Estudos sobre a composição da polpa de mangas em compostos fenólicos

O isolamento dos compostos fenólicos, glucogalina e galotanino, em polpa e semente de mangas foi descrito há três décadas (ANSARI et al., 1971). Entretanto, a presença de um amplo padrão de compostos fenólicos, especialmente flavonóis e xantonas, em polpa de mangas foi primeiramente demonstrada por Shieber et al. (2001). Estudo posterior mostrou que havia diferenças qualitativas e quantitativas em relação aos dois grupos de compostos em 14 variedades de mangas originárias da África, Ásia, Austrália e América do Sul. Os principais flavonóis identificados em polpa de mangas são: quercetina (Figura 1a), na forma de aglicona e glicona *O*-glicosídios (contendo glicose, galactose, xilose, arabinose e ramnose); kaempherol (1b), na forma de *O*-glicosídios e glicosídios de ramnetina; e a xantona identificada na polpa de manga é a mangiferina, que está presente como xantona simples (Figura 1c) e também na forma conjugada ao ácido gálico (BERARDINI et al., 2005).

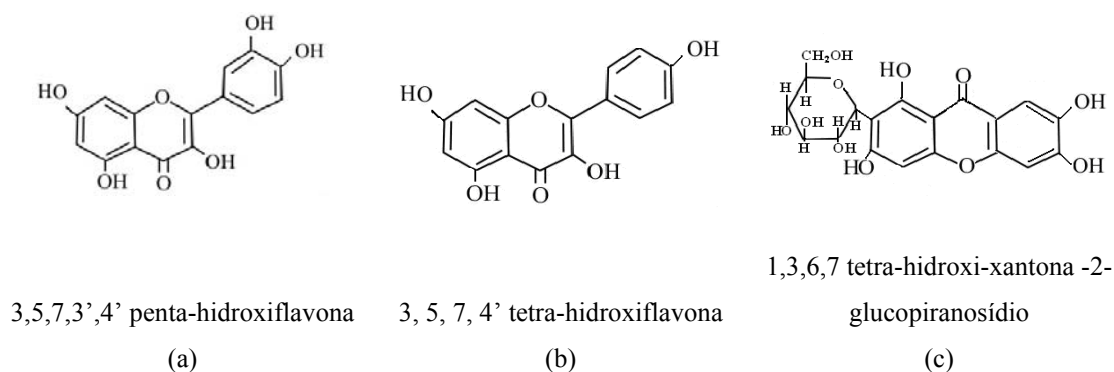


Figura 1 - Estrutura da quercetina (a), do kaempherol (b) e da mangiferina (c).

A presença de flavonóis e de mangiferina na polpa de mangas atribui à fruta um possível valor de destaque como fonte de bioativos. A quercetina (3, 3', 4', 5, 7-penta-hidroxi flavona) é um potente antioxidante (PAGANGA et al., 1999), pois apresenta em sua estrutura a dupla ligação no anel C e o grupo 4-oxo, os quais são determinantes estruturais que potencializam a sua atuação como molécula antioxidante

(RICE-EVANS et al., 1996). Estudos têm mostrado efeitos biológicos da quercetina para inibir proteínas quinases, DNA topoisomerases e regular expressão de genes (MOSKAUG et al., 2004).

A mangiferina mostrou ser antioxidante, eliminando o radical superóxido nos testes *in vitro*, sendo que 100 μ M de mangiferina foi equivalente à atividade de 1 U/mL de superóxido dismutase, além de ter outros efeitos farmacológicos modulando a expressão de genes relacionados à resposta inflamatória (LEIRO et al., 2003). Estudos realizados com o VIMANG[®], uma formulação fabricada em Cuba que contém mangiferina como o principal ingrediente ativo, mostrou proteção dos tecidos hepático e cerebral de camundongos contra o estresse oxidativo induzido (SÁNCHEZ et al., 2000); e modulação da função de macrófagos de ratos (GARCIA et al., 2002). Muruganandan et al. (2002) mostraram proteção dos tecidos cardíaco e renal de ratos contra o estresse oxidativo induzido. O efeito inibitório da mangiferina na carcinogênese de ratos foi também demonstrado (YOSHIMI et al., 2001). Estudos sobre a atividade imunomodulatória da mangiferina mostraram que a xantona modula a expressão de vários genes que são críticos para a regulação de apoptose, replicação viral, tumorigênese, inflamação e doenças auto-imunes, o que avança a possibilidade do seu valor no tratamento de doenças inflamatórias e/ou de câncer (LEIRO et al., 2004). A mangiferina protegeu linfócitos humanos das lesões do DNA quando expostos à radiação gama, apontando para a possibilidade de seu uso em pacientes submetidos à radioterapia ou indivíduos expostos ocupacionalmente às radiações (JAGETIA; VENKATESHA, 2006).

Alguns estudos de identificação de compostos em mangas do Brasil restringiram-se às substâncias voláteis. Andrade et al. (2000) analisaram 15 variedades de mangas obtidas em mercados do Pará e identificaram, por CG-EM, vários compostos, destacando-se a presença de α -terpinoleno, Δ^3 -carreno e miriceno. No entanto, não existem estudos sobre a composição de flavonóides da polpa de mangas cultivadas no Brasil.

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivos identificar e quantificar os principais flavonóis e xantonas presentes na polpa das quatro variedades de manga.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A identificação e quantificação foi realizada no Institute of Food Technology, Chair Plant Foodstuff Technology, Hohenheim University, na Alemanha.

3.1 Amostras

As amostras liofilizadas da polpa das quatro variedades de manga, acondicionadas em frascos de plástico hermeticamente fechados, foram enviadas via postal para o Institute of Food Technology, Hohenheim University, em Stuttgart, na Alemanha, para identificação e quantificação.

3.2 Padrões

Os padrões utilizados na identificação e quantificação dos compostos de interesse por CLAE-EM foram adquiridos conforme se segue: quercetina 3-*O*-galactosídeo, quercetina 2-*O*-glucosídeo, mangiferina [2-*C*- β -*D*-glucopiranosil-1,3,6,7-tetra-hidroxixantona] (Extrasynthese, Lyon, France) e quercetina (Roth, Karlsruhe, Germany).

3.3 Preparo de amostras para análise por CLAE-EM

A extração e purificação dos glicosídeos de flavonóis e de xantonas foram feitas como descrito previamente por Schieber et al. (2003). A polpa liofilizada foi manualmente triturada e acondicionada em dissecador até as análises. Alíquotas de 5,0 gramas de polpa liofilizada foram pesadas em frasco âmbar e, após a adição de 0,5 grama de ácido ascórbico, injetou-se nitrogênio gasoso e a mistura foi extraída com 50 mililitros da mistura acetona: água (80%, v/v) por agitação por três horas. O extrato foi centrifugado por 10 minutos a 3.480 g e o resíduo novamente extraído com 50 mililitros de mistura de solvente, por 10 minutos. O solvente orgânico foi removido de ambos os sobrenadantes por evaporação a vácuo a 30 °C. A solução aquosa foi transferida para um balão volumétrico, e o volume foi completado para 50 mililitros com água deionizada. Após filtração, alíquotas de 20 mL foram utilizadas, para posterior purificação. Poliamina CC6 (2,0 g, 0,05-0,16 mm) (Macherey-Nagel, Dueren, Germany) foi usada para preparar uma coluna Econo-Pac (BioRad, Munich, Germany),

a qual foi sucessivamente condicionada com 25 mililitros de metanol e 50 mililitros de água deionizada. Depois da aplicação do extrato, a coluna foi lavada com água (50 mililitros) e a fração contendo os polifenólicos foi recuperada por eluição com metanol (100 mililitros). O eluato foi evaporado e o resíduo dissolvido em metanol (0,5 mililitros). A solução foi filtrada em membrana (Whatman Inc., Cliton, United States) e utilizada para injeção em CLAE.

3.4 Análises em CLAE

A separação dos compostos fenólicos foi feita utilizando-se um equipamento Agilent HPLC series 1100 (Agilent, Waldbronn, Germany) equipado com *software ChemStation*, degaseificador modelo G1322A, bomba de gradiente binário modelo G1312A, termoinjetor automático modelo G1329/1330A, forno de coluna modelo G1316A e um detector de arranjos diodo modelo G1315B. A coluna utilizada foi uma C18 Hydro-Synergy, 150 x 3,0-mm d.i., 4- μ m (Phenomenex, Torrance, CA), com guarda-coluna C18 ODS, 4,0 x 2,0-mm d.i., operada a 25 °C. A fase móvel consistiu de ácido acético 2% em água (eluente A) e ácido acético 0,5% em acetonitrila (50:50, v/v) (eluente B). O programa de gradiente foi o seguinte: 0-25% B (15 min), 25-30% B (35 min), 30-80% B (10 min), 80-100% B (5 min) e 100-0% B (0,5 min). Foi realizado o monitoramento simultâneo a 320 nm (xantonas) e a 370 nm (flavonóis), com fluxo de 0,6 mL por minuto. O espectro foi registrado de 200 a 600 nm, com amplitude de pico de 0,2 min.

3.5 Análise em CL-EM

As análises em Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa foram realizadas com o mesmo sistema cromatográfico descrito anteriormente, conectado em séries com um espectrômetro de massa Bruker, modelo Esquire 3000+ ion trap (Bremen, Germany), acoplado a uma fonte de ionização eletrospray. O espectro de massa de íon negativo do eluato foi registrado na faixa de m/z 50- 2000. O nitrogênio foi utilizado como gás de arraste a uma taxa de fluxo de 10,0 litros por minuto e a uma pressão de 60,0 psi. A temperatura do nebulizador foi de 365 °C. O espectro de dissociação induzido por colisão foi obtido com uma amplitude de fragmentação de 1,2 V (EM/EM) e 1,5 V (EM >2) para flavonóides, 1,2 V (EM/EM) e 1,7 V (EM > 2)

para xantonas, 1,2 V (EM/EMe EM³) e 1,7 (EM⁴) para xantonas galatos e 1,5 V (EM/EM) para flavonóides agliconas. Utilizou-se o hélio como gás de colisão (1,2 x 10⁻⁵ mbar).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados espectrais e íons característicos estão apresentados na Tabela 3.

Mangiferina, isomangiferina, quercetina 3-*O*-galactosídeo, quercetina 3-*O*-glicosídeo, quercetina 3-*O*-xilósídeo, quercetina 3-*O*-arabinopiranosídeo, quercetina 3-*O*-arabinofuranosídeo, quercetina 3-*O*-ramnosídeo, kaempherol 3-*O*-glicosídeo e quercetina foram inequivocamente identificados. Os compostos **3** e **4** foram identificados por tentativa como mangiferina galato e isomangiferina galato. O teor de glicosídios de flavonóis e de xantonas na polpa das variedades de manga é mostrado na Tabela 4. Observou-se um perfil característico de monoglicosídios de quercetina, o qual foi encontrado em estudos prévios com mangas (SHIEBER et al., 2003; BERARDINI et al., 2005), com exceção de quercetina 3-*O*-glucosídeo, que foi o componente predominante nas variedades analisadas, em vez da quercetina 3-*O*-galactosídeo. Apenas a polpa da variedade Ubá mostrou o perfil completo de glicosídios de xantonas e de flavonóis.

As quatro variedades de manga de interesse comercial apresentam diferenças qualitativa e quantitativa na composição em relação aos glicosídios de flavonóis e de xantonas (Tabela 4). A mangiferina está presente nas variedades Haden, Tommy Atkins e Ubá; sua concentração nas duas primeiras é, respectivamente, 4,2 e 5,6 vezes menor do que na cultivar Ubá. Glicosídeo de quercetina foi detectado apenas na polpa das variedades Ubá e Haden, em concentrações aproximadamente 10 vezes superiores às da manga Ubá. Glicosídeo de kaempherol foi detectado apenas na variedade Ubá. Não foram detectados flavonóis na polpa da variedade Palmer.

Diferenças no perfil e no teor de flavonóis e de xantonas na polpa de variedades de manga, procedentes de diversos países, foram observadas também em outro estudo, no qual a mangiferina foi detectada apenas em cinco das nove cultivares avaliadas, variando de 3,0 a 19,4 miligramas por quilo de matéria seca; a quercetina foi encontrada apenas em uma das variedades, na quantidade de 12,2 miligramas por quilo de matéria seca (BERARDINI et al., 2005).

Os conteúdos totais de quercetina na polpa da variedade Ubá (13,4 miligramas por quilo de matéria seca) e de xantona (19,3 miligramas por quilo de matéria seca) são próximos aos teores quantificados na polpa da manga Haden originária do Peru (16,2 e 12,2 miligramas por quilo de matéria seca, respectivamente). Teores de mangiferina em variedades de manga procedentes de diversos países variaram de 3,0 a 19,4 miligramas por quilo de matéria seca (BERARDINI et al., 2005). Com base no peso úmido, os teores dos compostos analisados em 100 g de polpa são: quercetina total (0,1, zero, zero e 2,36 miligramas para as variedades Haden, Tommy Atkins, Palmer e Ubá, respectivamente); xantona total (0,47, 0,42, zero e 3,2 miligramas para as variedades Haden, Tommy Atkins, Palmer e Ubá, respectivamente); e kaempferol (0,1 miligrama para a manga Ubá).

Tabela 3 – Espectro UV e íons característicos dos glicosídios de xantona e de flavonol extraídos da polpa das variedades de manga

Pico	Identidade	HPLC-DAD λ_{\max} [nm]	[M-H] ⁻ m/z	Experimento HPLC-ESI(-)-MS ⁿ m/z (% base peak)
1	Mangiferina	241, 258, 275sh, 318, 366	421	- MS ² [421]: 403 (38), 331 (100), 301 (77)
2	Isomangiferina	241sh, 256, 275sh, 317, 365	421	- MS ² [421]: 403 (12), 331 (76), 302 (10), 301 (100)
3	Mangiferina galato ^a	241, 258, 275sh, 318, 366	573	- MS ² [573]: 421 (100), 403 (10), 331 (7), 301 (9), - MS ³ [573 → 421]: 403 (25), 331 (83), 301 (100), - MS ⁴ [573 → 421 → 301]: 273 (100)
4	isomangiferina galato ^a	241sh, 256, 275sh, 317, 366	573	ND ^b
5	quercetina 3- <i>O</i> -galactosídeo	232, 256, 266sh, 296sh, 353	463	- MS ² [463]: 301 (100) - MS ³ [463 → 301]: 179 (89), 151 (100)
6	quercetina 3- <i>O</i> -glicosídeo	232, 256, 266sh, 296sh, 353	463	- MS ² [463]: 301 (100) - MS ³ [463 → 301]: 179 (100), 151 (95)
7	quercetina 3- <i>O</i> -xilósídeo	232, 256, 266sh, 296sh, 354	433	- MS ² [433]: 301 (100) - MS ³ [433 → 301]: 179 (100), 151 (81)
8	quercetina 3- <i>O</i> -arabinopiranosídeo	231, 256, 266sh, 296sh, 354	433	- MS ² [433]: 301 (100) - MS ³ [433 → 301]: 179 (100), 151 (62)
9	quercetina 3- <i>O</i> -arabinofuranosídeo	230, 256, 266sh, 296sh, 354	433	- MS ² [433]: 301 (100) - MS ³ [433 → 301]: 179 (100), 151 (81)
10	quercetina 3- <i>O</i> -ramnosídeo	231, 256, 350	447	- MS ² [447]: 301 (100) - MS ³ [447 → 301]: 179 (100),
11	kaempferol 3- <i>O</i> -ramnosídeo	232, 265, 347	447	- MS ² [447]: 447 (26), 285 (60), 284 (46), 255 (8) - MS ³ [447 → 285]: 257 (22), 256 (100), 241 (16) - MS ³ [447 → 284]: 255 (100)
12	Quercetina	230, 255, 266sh, 371	301	- MS ² [301]: 179 (100), 151 (73)

^a Identificado por tentativa. ^b ND, não detectável.

Tabela 4 – Teores de glicosídeos de flavonol e de xantona na polpa das quatro cultivares de manga, expressos em matéria seca

Cultivares	Ubá (mg kg ⁻¹)	Haden (mg kg ⁻¹)	Tommy Atkins (mg kg ⁻¹)	Palmer (mg kg ⁻¹)
Mangiferina	12,4 ± 0,3	2,9 ± 0,1	2,2 ± 0,1	ND
Isomangiferina ^a	1,1 ± 0,1	ND ^d	0,5 ± 0,0	ND
Mangiferina-galato ^b	1,3 ± 0,0	ND	ND	ND
Isomangiferina –galato ^b	4,5 ± 0,0	ND	ND	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -gal	2,5 ± 0,2	ND	ND	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -glc	6,3 ± 0,4	0,6 ± 0,0	ND	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -xil ^c	1,7 ± 0,1	ND	ND	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -arap ^c	1,2 ± 0,1	ND	ND	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -araf ^c	1,2 ± 0,1	ND	ND	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -ram ^c	0,5 ± 0,0	ND	ND	ND
Kaempferol 3- <i>O</i> -glc ^c	0,6 ± 0,0	ND	ND	ND
Quercetin	0,6 ± 0,0	ND	ND	ND
Total	33,9 ± 1,3	3,5 ± 0,1	2,7 ± 0,1	0,0 ± 0,0

^a Quantificado como mangiferina. ^b Quantificado como mangiferina (incluindo o fator de correção da massa molecular). ^c Quantificado como quercetina 3-*O*-galactosídeo (incluindo o fator de correção da massa molecular). ^d ND, não detectado.

As diferenças na composição qualitativa e quantitativa em compostos antioxidantes são determinadas não só pelas características genéticas, mas também pelas práticas agrícolas. A hipótese é de que a produção da manga Ubá, isenta de agrotóxicos e com uso de técnicas simplificadas de manejo (RAMOS et al., 2005), viabiliza a defesa natural da planta e do fruto contra as adversidades ambientais, o que resulta na síntese aumentada de metabólitos secundários, aumentando o teor e a diversidade de compostos fenólicos. Tal meio de produção possibilita elevar o teor de substâncias com potencial bioativo e, conseqüentemente, melhorar as propriedades funcionais dos frutos. De fato, foi detectado na polpa da variedade Ubá, por GC-MS, o ácido chiquímico, o qual é o precursor na via biossintética dos flavonóides, além do ácido protocatéquico (dados não mostrados), o qual tem sido considerado um metabólito de defesa contra fungos (GHOSAL et al., 1978). Singh (2006) verificou que o teor de mangiferina era mais elevado em cultivares de manga resistentes à síndrome de malformação associada à inflorescência anormal e sugeriu que a xantona é um potente estimulador da defesa natural da planta, podendo ser considerada um bom marcador bioquímico para seleção de genótipos de resistência à malformação, na região da Índia.

As considerações anteriores levam a suposições que podem ser intrigantes no século XXI. Apesar do grande esforço do homem para aumentar a produtividade dos alimentos, visando atender a demanda populacional e melhorar a aparência destes para atender às exigências do consumidor, no caso de frutas, pode ser que o uso de técnicas de manejo que minimizem as adversidades ambientais interfiram na qualidade destas, diminuindo as suas propriedades funcionais.

5 CONCLUSÃO

A composição da polpa das quatro variedades de manga em flavonóis e xantonas é qualitativa e quantitativamente diferente. Os resultados indicam a necessidade de estudos para a seleção de cultivares de frutas e de alimentos vegetais com melhores propriedades funcionais. A manga Ubá mostrou ser uma fonte promissora de compostos bioativos, e isso justifica estudos adicionais sobre os seus efeitos biológicos.

6 REFERÊNCIAS

- ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. B. Aroma volatile constituents of brazilian varieties of mango fruit. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, n. 1, p. 27-33, 2000.
- ANSARI, M. A. E.; REDDY, K. K.; SASTRY, K. N. S.; NAYUDAMMA, Y. Polyphenols of *Mangifera indica*. **Phytochemistry**, v. 10, n. 8, p. 2239-2241, 1971.
- ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 1124-1131, 2004.
- AWAD HM. **Studies on the pro-oxidant chemistry of flavonoids**. PhD Thesis. Dutch: Department of Biochemistry, Wageningen University. 2002.
- BERARDINI, N.; FEZER, RAMONA, 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, p. 1563-1570, 2005.
- DECKER, E. A. The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. **Nutrition Reviews**, v. 53, n. 3, p. 49-58, 1995.

GARCIA, D.; DELGADO, R.; UBEIRA, F. M.; LEIRO, J. Modulation of rat macrophage function by the *Mangifera indica* L. extracts Vimang and mangiferin. **International Immunopharmacology**, v. 2, p. 797-806, 2002.

GHOSAL, S.; BISWAS, K.; CAHATTOPADHYAY, B. K. Differences in the chemical constituents of *Mangifera indica*, infected with *Aspergillus niger* and *Fusarium montiliformae*. **Phytochemistry**, v. 17, p. 689-694, 1978.

HOLLMAN, P. C.; URIES, J. H.; VAN LEEUWEN, S. D.; MENGELERS, M. J.; KATAN, M. B. Absorption of dietary quercetin-glycosides and quercetin in health ileostomy volunteers. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 6, p. 1276-82, 1995.

HUDSON, B. J. F.; LEWIS, J. I. Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils: structural criteria for activity. **Food Chemistry**, v. 10, p. 47-51, 1983.

JAGETIA, G. C.; VENKATESHA, V. A. Mangiferin protects human peripheral blood lymphocytes against γ -radiation-induced DNA strand breaks: a fluorescence analysis of DNA unwinding assay. **Nutrition Research**, v. 26, p. 303-311, 2006.

KAUER, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the milenium's heath. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 36, p. 703-725, 2001.

LAUGHTON, E. J.; EVANS, P. J.; MORONEY, M. A.; HOULT, J. R.C.; HALLIWELL, B. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and ciclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: relationship to antioxidant activity and to rion-reducing ability. **Biochemical Pharmacology**, v. 42, p. 1673-1681, 1991.

LEIRO, J. M.; ÁLVAREZ, E.; ARRANZ, J. A.; SISO, I. G.; ORALLO, F. *In vitro* effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric oxide synthase, tumor necrosis factor- α and transforming growth factor- β genes. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, p. 1361-1371, 2003.

LEIRO, J.; ARRANZ, J. A.; YÁÑEZ, M.; UBEIRA, F. M.; SANMARTIN, M. L.; ORALLO, F. Expression profiles of genes involved in the mouse nuclear factor-kappa B signal transduction pathway are modulated by mangiferin. **International Immunopharmacology**, v. 4, p. 763-778, 2004.

MANN, J.; DAVIDSON, R. S.; HOBBS, J. B.; BANTHORPE, D. V.; HARBORNE, J. B. **Natural products**. Their chemistry and biological significance. 3.ed. Harlow: Addison Wesley Longman Limited, 1996. p. 362-363.

MOSKAUG, J. Ø.; CARLSEN, H.; MYHRSTAD, M.; BLOMHOFF, R. Molecular imaging of the biological effects of quercetin and quercetin-rich foods. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 125, p. 315-324, 2004.

MURUGANANDAN, S.; GUPTA, S.; KATARIA, M.; LAL, J.; GUPTA, P. K. Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats. **Toxicology**, v. 176, p. 165-173, 2002.

PAGANGA, G.; MILLER, N.; RICE-EVANS, C. A. The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute? **Free Radical Research**, v. 30, 153-162, 1999.

PRASAIN, J. K.; WANG, C.; BARNES, S. Flavonoids and isoflavonoids (phytoestrogens): absorption, metabolism and bioactivity. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, n. 9, p. 1324-1350, 2004.

RAMOS, A. M.; D'ARAÚJO COUTO, F. A.; REZENDE, P. M.; LELIS, F. M. V.; BENEVIDES, S. D.; PEREZ, R. **Manga Ubá**. Boas práticas agrícolas para produção destinada à agroindústria. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 9-10.

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

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review Nutrition**, v. 22, p. 19-34, 2002.

SÁNCHEZ, G. M.; RE, L.; GIULIANI, A.; NÚÑEZ-SELLÉS, A. J.; DAVISON G. P.; LÉON-FERNÁNDEZ, O. S. Protective effects of *mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA-induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice. **Pharmacological Research**, v. 42, p.565-573, 2000.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073S-2085S, 2000.

SCHIEBER, A.; BERARDINI, N.; CARLE, R. Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins) peels by high-performance chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5006-5011, 2003.

SCHIEBER, A.; ULRICH, 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, p. 161-166, 2001.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Review Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SINGH, V. K. Physiological and biochemical changes with special reference to mangiferin and oxidative enzymes level in malformation resistant and susceptible cultivars of mango (*Mangifera indica* L.) **Scientia Horticulturae**, v. 108, p. 43-48, 2006.

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 rats. **Cancer Letters**, v. 163, p. 163-170, 2001.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE *IN VIVO* DA POLPA DE MANGA (variedade Ubá)

1 INTRODUÇÃO

1.1 Potencial antioxidante *in vivo* de compostos da dieta

Os organismos vivos utilizam-se de vários mecanismos para se protegerem dos efeitos deletérios das espécies reativas. O mecanismo antioxidante não-enzimático, formado pela interação de diferentes antioxidantes no plasma, soro, urina e outros compartimentos biológicos, fornece uma importante contribuição para o *status* antioxidante do organismo e influencia a capacidade antioxidante total do meio biológico.

Moléculas presentes nos alimentos, ao serem ingeridas e absorvidas, atuam como antioxidantes por mecanismos diretos, eliminando os radicais livres (RL); ou intermediários, formados em reações iniciadas por estes; ou, ainda, por mecanismos indiretos, através da expressão de genes, cujos produtos atuam em mecanismos antioxidantes (MICHIELS et al., 1994; CHUI et al., 2003).

O efeito antioxidante *in vivo* de componentes da dieta ainda é difícil de ser avaliado e confirmado. As pesquisas nesse âmbito mostram, freqüentemente, resultados controversos. Uma das limitações é a dificuldade de avaliar biomarcadores de oxidação que sejam sensíveis, em curto prazo, à baixa concentração da molécula antioxidante, comumente presente nos alimentos. Por isso, os resultados de estudos *in vitro*, *in vivo* e

ex vivo são contrastantes (LOTITO; FREI, 2004a). A maioria dos estudos explora os efeitos de extratos concentrados ou do componente isolado (purificado) em elevada concentração, o que representa uma condição diferente do que realmente ocorre na ingestão dietética. Outra limitação dos estudos é a dificuldade em atribuir efeito exclusivo a um componente, considerando o efeito em conjunto das moléculas antioxidantes presentes na dieta. Ressalta-se, ainda, a possibilidade de o efeito dos antioxidantes naturalmente presentes na dieta ser confundido com os efeitos metabólicos de outros componentes do alimento sobre os antioxidantes endógenos (LOTITO; FREI, 2004b).

O forte argumento que suporta a existência da propriedade antioxidante dos componentes dietéticos é a evidência epidemiológica que correlaciona a baixa incidência de doenças, associadas aos danos moleculares oxidativos, com a elevada ingestão de alimentos-fonte de compostos com potencial antioxidante (KANT et al., 2000).

Há outro aspecto interessante a ser considerado, o qual pode redirecionar os conceitos e as pesquisas: existem evidências crescentes da bioatividade de compostos “com potencial antioxidante”, mediada por mecanismo prooxidante (AWAD, 2002; LUNEC et al., 2002). O efeito de alguns compostos denominados antioxidantes, mediado por interferências na expressão gênica, pode ser atribuído à propriedade de tais substâncias em deslocar o equilíbrio redox intracelular, dentro de limites fisiológicos ajustáveis. Nessa abordagem, o efeito pode resultar em aumento da condição oxidativa intracelular ou de alvos moleculares (em vez da diminuição), e a denominação “antioxidante” poderia ser considerada inadequada. Nessa situação, o efeito fisiológico benéfico é resultante da atividade prooxidante da molécula.

Entretanto, a capacidade para reciclar moléculas biológicas oxidadas e eliminar fortes oxidantes do meio biológico ou reagir com estes, reduzindo o seu potencial de reatividade, atribui às substâncias presentes nos alimentos a propriedade antioxidante.

1.2 Sinergismo

A ação de antioxidantes *in vitro* e *in vivo* apresenta o fenômeno do sinergismo, o qual pode ser definido como a ação cooperativa entre as várias substâncias com propriedades antioxidantes, para proteger um alvo da oxidação (ZHOU et al., 2005; NORDBERG; ARNÉR, 2001). O sinergismo ocorre por efeito co-antioxidante, por

mais de um antioxidante, com potenciais de redução diferentes, os quais participam de reações redox em um sistema que está sob condição prooxidante, até que se forme um produto não-reativo, estabilizando o meio. O efeito sinérgico resulta na recuperação das moléculas antioxidantes e na formação de um produto estável, e este deve ser o princípio da proteção antioxidante do organismo por moléculas endógenas e exógenas. O efeito prooxidante, observado em alguns estudos, quando se utiliza um único antioxidante, pode ser a consequência da impossibilidade de efeitos co-antioxidantes ou sinérgicos, por causa da desproporção entre as concentrações de moléculas antioxidantes.

1.3 Estudos sobre o potencial antioxidante de frutas *in vivo*

A maçã tem sido a fruta com maior foco de atenção quanto ao potencial antioxidante, mas existem alguns estudos com outras frutas e extratos de ervas. Lotito e Frei (2004a) investigaram a capacidade antioxidante dos polifenóis da maçã e verificaram que, apesar dos resultados positivos alcançados nos testes *in vitro*, a ingestão de 1.037 ± 38 g de maçã, contendo 1,825 g de fenóis totais, por seis indivíduos adultos voluntários não resultou em equivalente efeito antioxidante do plasma nos testes *ex vivo*. Posteriormente, Lotito e Frei (2004b) mostraram que o efeito antioxidante da ingestão de maçãs era mediado pelo efeito da ingestão de frutose em aumentar a concentração de urato no soro. Os autores comentam que a conversão da frutose a frutose 1-fosfato pela frutoquinase leva a uma diminuição transitória no nível de ATP hepático e fosfato inorgânico, os quais são inibidores da deaminase AMP e 5'-nucleotidase; assim, há diminuição da degradação do urato e aumento do seu nível sérico. Afirma-se que o urato apresenta função antioxidante no meio biológico (SCOTT et al., 1998). Essas observações mostraram que os efeitos antioxidantes dos polifenóis de frutas podem ser confundidos com os efeitos metabólicos da frutose sobre o metabolismo do urato.

Estudos realizados com maçãs, morangos e tomates demonstraram redução da concentração de malondialdeído no plasma de animais que consumiram dietas contendo óleo de linhaça, bem como diminuição de danos oxidativos ao DNA (PAJK et al., 2006).

Outro estudo avaliou o *status* antioxidante do plasma de indivíduos adultos do sexo masculino que consumiram, por duas semanas, uma dieta contendo de cinco a

sete porções de frutas e vegetais de conhecida composição em antioxidantes. Verificou-se que, apesar do aumento da concentração de antioxidantes no plasma, a capacidade antioxidante total não foi afetada significativamente (RECORD et al., 2001).

Young et al. (2002) realizaram um estudo com indivíduos adultos (fumantes e não-fumantes) para avaliar o efeito da ingestão de polifenóis contidos no extrato de chá verde (18,6 mg de catequina/dia) sobre os marcadores do *status* oxidativo pós-prandial. Verificaram que a intervenção não teve efeito a longo prazo nos marcadores de oxidação no plasma nem nas atividades das enzimas antioxidantes, exercendo o efeito apenas no período pós-prandial.

1.4 Métodos e marcadores bioquímicos para o estudo biológico sobre antioxidantes

Vários métodos têm sido desenvolvidos e propostos para o estudo de antioxidantes da dieta. Considerando a meia-vida curta dos radicais livres, o que dificulta as análises envolvendo a sua mensuração direta, os estudos indiretos são os mais utilizados. Algumas estratégias e abordagens usadas para avaliar o estresse oxidativo podem ser empregadas em estudos sobre antioxidantes. Dentre elas, citam-se: abordagem química, utilizando-se biomarcadores, os quais são produtos de oxidação de peroxidação de lipídios, proteínas, DNA; abordagem da homeostase, a qual avalia o equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, determinando-se o nível de moléculas e a atividade de enzimas antioxidantes; abordagem molecular, a qual enfoca a expressão de proteínas envolvidas no equilíbrio redox da célula; e, por último, a abordagem clínica, que detecta sinais precoces de estresse oxidativo, podendo ser realizada *in vivo*, através de métodos não-invasivos, baseados em ressonância magnética (BRAY, 2000). Os testes da capacidade antioxidante de amostras biológicas na presença dos antioxidantes da dieta e os ensaios dos efeitos destes sobre os marcadores biológicos de oxidação têm sido os mais utilizados.

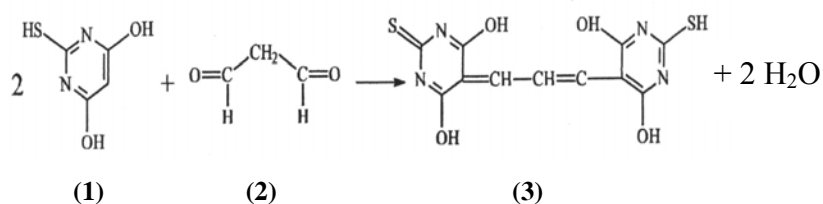
A compreensão sobre as limitações e dificuldades de cada método é necessária. Há que se considerar que os termos *redutor* e *oxidante* são termos químicos, enquanto *antioxidante* e *prooxidante* devem ser compreendidos dentro de um sistema biológico (PRIOR; CAO, 1999). O efeito de moléculas antioxidantes em diminuir a oxidação de moléculas biológicas (proteínas, lipídios, ácidos nucleicos) pode ser utilizado como um teste de potencial antioxidante de moléculas isoladas ou combinadas

(IOM, 1998). Assim, moléculas biológicas alteradas pelos radicais livres, através de reações de abstração de próton, transferência de elétron ou adição direta, podem se constituir em biomarcadores para estudos relacionados a oxidantes e antioxidantes (OFFORD et al., 2000). Os biomarcadores fornecem informações em três níveis: danos mensuráveis em proteínas, aminoácidos, lipídios e bases do DNA; alterações funcionais, como agregação plaquetária, fluxo sanguíneo, função cognitiva; e alterações fisiopatológicas (GRIFFITHS et al., 2002).

O efeito dos antioxidantes da dieta sobre a oxidação de lipídios tem sido o mecanismo mais explorado em estudos sobre o estresse oxidativo (SIES, 1985) e também nas pesquisas sobre o potencial ou a capacidade antioxidante de compostos naturais (BAGCHI et al., 1993; ALESSIO et al., 2002; ZAIDI et al., 2003; ACTIS-GORETA et al., 2004; AUGER et al., 2005; PAJK et al., 2006).

Os lipídios poliinsaturados presentes nas membranas do citossol, das organelas e das lipoproteínas são alvos para as reações com radicais livres. O mecanismo proposto para a peroxidação de lipídio pelas espécies reativas de oxigênio envolve a abstração de hidrogênios das duplas ligações, formação de hidroperóxidos e degradação de produtos com subsequente formação de aldeídos, entre eles o malondialdeído. Este tem sido amplamente utilizado como biomarcador em estudos que avaliam a eficácia de antioxidantes *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo* (GRIFFITHS et al., 2002).

Um dos métodos frequentemente utilizados para mensuração de malondialdeído é a determinação do aduto ácido tiobarbitúrico (TBA) e malondialdeído (MDA) (Figura 1).



Fonte: Griffiths et al. (2002).

Figura 1 - Reação de TBA (1) e de MDA (2) com a formação de TBA-MDA (3).

Nos processos de peroxidação de lipídios, em nível fisiológico, pequenas quantidades de MDA são formadas (GRIFFITHS et al., 2002), e isso pode ser uma

limitação para o seu uso como biomarcador, quando este é analisado pelo Teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico. Uma estratégia para intensificar a formação de MDA é a indução do estresse oxidativo com xenobióticos (SIDHARTHA et al., 1996; SUN et al., 2001).

1.5 Indução do estresse oxidativo por fármacos utilizando animais como modelos experimentais

O diclofenaco-DCFC (2-[2-(2,6-diclorofenil aminofenil ácido acético) é um fármaco do grupo antiinflamatório não esteroideal (AINE), amplamente utilizado na prática clínica para tratamento de dor e de inflamação. Os AINE exercem seus efeitos terapêuticos através da inibição da ciclo-oxigenase-2, mas alguns de seus efeitos tóxicos resultam de sua ação inibitória sobre a ciclo-oxigenase-1 (LANEUVILLE et al., 1994 e GIERSE et al., 1995, citados por HICKEY et al., 2001).

A biotransformação do DCFC ocorre via sistema enzimático da citocromo - P450 com a formação de radicais livres (TANG et al., 1999). Hickey et al. (2001) demonstraram em seu estudo com camundongos que a nefrotoxicidade induzida pelo diclofenaco, administrado na dose que variou de 100 a 300 miligramas por quilo do animal, foi mediada pelo estresse oxidativo. Foram observados vários eventos que comprovaram o aumento dos radicais livres diante da exposição ao DCFC: aumento do MDA sérico, aumento da superóxido dismutase sérica e presença de apoptose em tecido renal. Há evidências de que as espécies reativas de oxigênio agem como mensageiros secundários na sinalização de apoptose (BUTTKE; SANDSTROM, 1994).

O paracetamol (*N*-acetil-*p*-aminofenol ou acetaminofen) é um fármaco amplamente utilizado como antitérmico e analgésico. Em doses elevadas o paracetamol apresenta hepatotoxicidade, a qual é mediada por metabólitos reativos formados pelo sistema de oxidases de função mista do citocromo P450 (ARANIZ et al., 1995; DAHLIN et al., 1984, citados por SIDHARTHA et al., 1996; AMIMOTO et al., 1995; JODYNIS-LIEBERT et al., 2005). A administração de paracetamol em doses entre 350 e 500 miligramas por quilo a camundongos resultou em injúria hepática com necrose e apoptose (SIDHARTHA et al., 1996) e aumento de peroxidação lipídica em homogenados de fígado de camundongos (AMIMOTO et al., 1995; ARANIZ et al., 1995) e ratos (JODYNIS-LIEBERT et al., 2005).

2 JUSTIFICATIVA

A variedade Ubá foi escolhida para o estudo em razão da facilidade de aquisição e por sua importância regional. Optou-se por modelos de estresse oxidativo induzido por fármacos, a fim de verificar o potencial antioxidante da polpa de manga, avaliando-se o efeito de sua ingestão sobre o marcador de peroxidação de lipídios (malondialdeído).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Objetivou-se neste estudo avaliar o potencial antioxidante da polpa de manga (variedade Ubá), utilizando dois modelos de estresse oxidativo induzido pelos fármacos diclofenaco (**modelo 1**) e paracetamol (**modelo 2**).

3.2 Específicos

3.2.1 Modelo experimental 1

- Determinar a uréia e a alanina aminotransferase no soro dos animais.
- Determinar o malondialdeído no soro e nos homogenados de rim e fígado dos animais.
- Avaliar o ganho de peso e o consumo alimentar dos animais durante o experimento.

3.2.2 Modelo experimental 2

- Determinar a alanina aminotransferase no soro dos animais.
- Determinar o malondialdeído nos homogenados de fígado dos animais.
- Avaliar o consumo alimentar dos animais durante o experimento.

4. MODELO EXPERIMENTAL 1

Efeito da suplementação de manga a 10% na ração comercial sobre os níveis de malondialdeído no soro e nos homogenados de fígado e rim de ratos *wistar* submetidos ao estresse oxidativo induzido por diclofenaco (DCFC)

4.1 Material e métodos

4.1.1 Animais

Setenta ratos *wistar* machos adultos com 90 dias de idade e pesos corporais variando de 293,80 a 392,76 gramas foram distribuídos em oito grupos de cinco ou dez animais em cada, de maneira a se obter homogeneidade na média do peso entre os grupos. Os animais permaneceram em gaiolas, reunidos em grupos de cinco cada uma, tiveram livre acesso à ração e água e foram mantidos em sala climatizada, em temperatura de 22-25 °C, sob ciclos claro-escuros de 12 horas. O ensaio biológico foi conduzido no Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

4.1.2 Dietas experimentais

Foi utilizada a ração comercial (Labcil®, Belo Horizonte-MG) para elaborar as seguintes dietas experimentais: **controle** (ração comercial), **suplementada com manga** (ração comercial acrescida de manga liofilizada a 10%) e **suplementada com vitamina E** (ração comercial acrescida de vitamina E – 400 mg por quilo de ração).

Tendo em vista que o teor da polpa da manga Ubá em constituintes antioxidantes não era ainda conhecido quando o presente estudo foi realizado, estabeleceu-se o nível de suplementação de 10%, o qual é equivalente à ingestão humana de 5,8 porções de 150 gramas de polpa de manga por dia. As informações utilizadas para se obter a equivalência para o consumo humano estão apresentadas a seguir:

	Ração com manga a 10%	Dieta humana de 2.800 kcal*
Quantidade total (g)	100	1.482,66
Quantidade de manga liofilizada (10 g)	10	148
Calorias totais (kcal)	188,85	2.800
Densidade calórica (kcal g ⁻¹)	1,89	1,89

* Referência: indivíduo adulto, sexo masculino, peso corporal de 70 kg, recebendo 40 kcal kg⁻¹ de peso por dia.

O cálculo de quantas porções de manga equivalem a 148 gramas de polpa liofilizada foi obtido a partir das seguintes informações:

- 100 gramas de polpa úmida = 16,83 gramas de polpa liofilizada; portanto:
- 150 gramas equivalem a 25,24 gramas de polpa liofilizada.

O nível de suplementação é acima do consumo humano usual, uma vez que 150 gramas de polpa equivalem a 2,22 unidades de manga da variedade Ubá, com peso médio total de 119,23 gramas e 67,50 gramas de polpa. Assim, 5,8 porções equivalem a aproximadamente 13 unidades de manga Ubá e 870 gramas de polpa.

A escolha por um estudo com a suplementação de maneira concentrada foi subsidiada por um estudo sobre o potencial antioxidante de maçãs, realizado com seres humanos, o qual utilizou a quantidade aproximada de 1,0 quilo de fruta por dia (LOTITO; FREI, 2004a).

A vitamina E na forma de acetato de α -tocoferol foi usada como um padrão de antioxidante para efeito de comparação; a quantidade de 400 miligramas por quilo de ração equivale a 50% da concentração utilizada em estudos que observaram redução de lesões ateroscleróticas em camundongos *knockout* para a apolipoproteína E (PELÚZIO et al., 2003).

A ração peletizada foi triturada em moinho, utilizando-se peneira número 3 para se obter o farelo, ao qual foram acrescentados os ingredientes a serem suplementados: manga liofilizada e vitamina E. A mistura contendo o farelo da ração e os ingredientes suplementados foi homogeneizada manualmente e, após o acréscimo de água destilada, “amassada”, para se obter novamente os *pellets*. A ração, preparada semanalmente, foi acondicionada em embalagens plásticas, protegidas de luz e mantidas a - 4 °C até o uso. Foi determinada a composição centesimal da ração em carboidrato, proteína, lipídio, cinzas e umidade por técnicas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2005). O teor de compostos fenólicos foi determinado pelo método descrito por Singleton (2001). Após o término do ensaio biológico, com os resultados obtidos do estudo da quantificação dos constituintes antioxidantes na polpa das mangas, foi calculada a composição das dietas experimentais em ácido ascórbico, β -caroteno, fenóis totais, manganês, zinco e cobre. A composição das dietas está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais em 100 gramas (peso úmido)

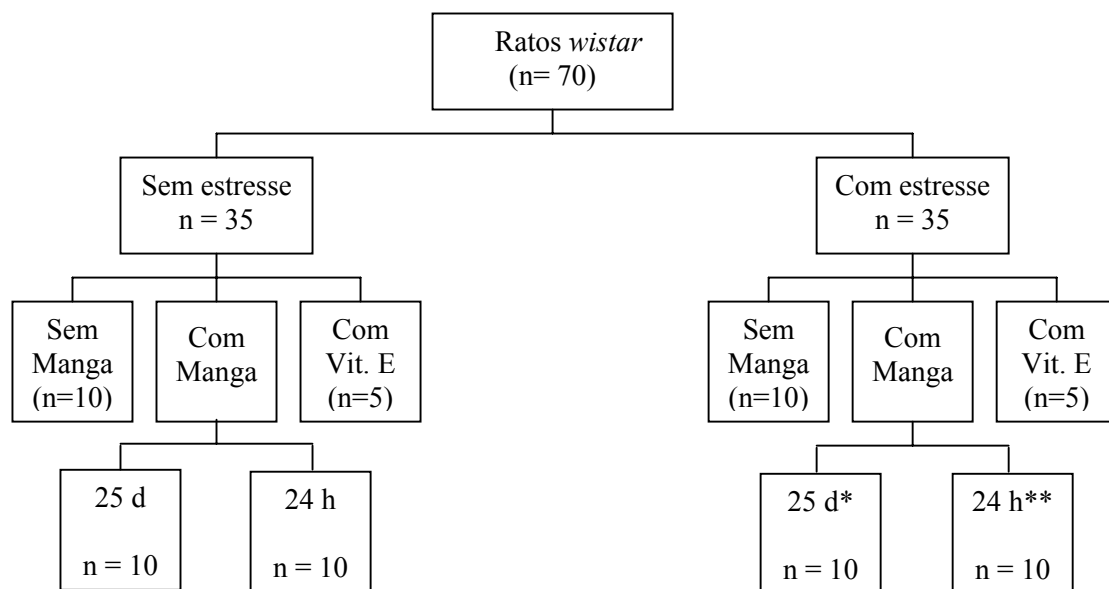
Composição	Controle	Controle + Manga	Controle + vitamina E
Carboidrato ⁽¹⁾ (g)	34,06	32,53	34,06
Proteína ⁽¹⁾ (g)	11,79	12,59	11,79
Lipídio ⁽¹⁾ (g)	0,85	0,93	0,85
Cinzas ⁽¹⁾ (g)	3,79	3,93	3,79
Umidade ⁽¹⁾ (g)	49,51	50,02	49,51
vitamina E ⁽²⁾ (mg)	0,76	0,76	10,86
Vitamina A ⁽²⁾ (UI)	303	303	303
Manganês ⁽³⁾ (mg)	1,51	1,40	1,51
Selênio ⁽²⁾ (mg)	0,0013	0,0013	0,0013
Zinco ⁽³⁾ (mg)	1,5	1,39	1,5
Cobre ⁽³⁾ (mg)	0,25	0,24	0,25
Antioxidantes ⁽³⁾ (mg)	2,52	2,5	2,52
Vitamina C ⁽⁴⁾ (mg)	-	11,44	-
β-caroteno ⁽⁴⁾ (mg)	-	0,33	-
Fenóis totais ⁽⁴⁾ (mg)	11,78	21,93	11,78
kcal/100 g	191,05	188,85	191,05

⁽¹⁾ Determinado segundo técnicas do Instituto Adolfo Lutz (2005); ⁽²⁾ valores baseados na composição informada na rotulagem do produto e fornecidos como níveis de garantia (mínimo ou máximo); ⁽³⁾ valores baseados em informações contidas no rótulo e determinações feitas na polpa da manga; e ⁽⁴⁾ valores baseados em determinações feitas na polpa da manga.

4.1.3 Desenho experimental

O desenho experimental foi o de estudo controlado e está ilustrado na Figura 2. A duração do experimento foi de 26 dias. Foi feito um estudo de suplementação da ração comercial com polpa de manga liofilizada, como fonte de antioxidantes, utilizando-se ratos *wistar*, os quais foram submetidos ao estresse oxidativo induzido por droga (diclofenaco), conforme descrito por Hickey et al. (2001). O efeito dos antioxidantes para proteger contra o estresse oxidativo, induzido pela droga, foi avaliado nos grupos de animais que consumiram a ração suplementada com polpa de manga de forma crônica (por 25 dias antes do estresse e durante 24 horas subseqüentes ao estresse) e aguda (durante 24 horas subseqüentes ao estresse). Dois grupos de animais (com estresse e sem estresse) consumiram dieta suplementada com vitamina E de forma aguda e foram utilizados para comparação. Ao final de 25 dias, os animais permaneceram em jejum por 12 horas, sendo submetidos à gavagem para administração do diclofenaco na dose de 250 miligramas por quilo de peso do animal (grupos com estresse) e do veículo (grupos sem estresse). A dose da droga foi calculada para cada animal, considerando-se o seu peso individual, o qual foi registrado imediatamente antes da gavagem. O volume do veículo da droga (suspensão) também foi administrado em equivalência com o peso corporal dos animais. Duas horas após a administração do

diclofenaco, os animais tiveram livre acesso às dietas e água; após 24 horas de exposição à droga, eles foram sacrificados por asfixia com CO₂. Amostras de sangue foram coletadas da aorta abdominal para análises de parâmetros bioquímicos séricos, os quais foram realizados no prazo de 12 horas. Amostras de fígado e rim foram coletadas em tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4 e congeladas a - 20 °C, para análise bioquímica do marcador de peroxidação lipídica (malondialdeído).



* 25 dias antes e 24 horas subseqüentes à exposição ao diclofenaco

** 24 horas subseqüentes à exposição ao diclofenaco

Figura 2 - Desenho experimental.

4.1.4 Parâmetros avaliados

4.1.4.1 Ganho de peso corporal e consumo alimentar

O ganho de peso dos animais foi avaliado registrando-se o seu peso no início e no final do experimento. O consumo alimentar dos grupos de animais foi estimado por meio do registro da oferta e do resto de ração. Devido à reconstituição da ração e ao acréscimo de água para se conseguir a peletização, a perda espontânea de umidade desta foi avaliada pela diferença de peso, deixando-se uma pequena quantidade de ração sobre a gaiola, em local não acessível aos animais. A variação de peso relativo à perda de umidade foi utilizada para corrigir o cálculo do consumo alimentar.

4.1.4.2 Parâmetros bioquímicos

Uréia e alanina aminotransferase séricas - As dosagens bioquímicas foram determinadas utilizando-se *kits* bioquímicos, disponíveis comercialmente (Bioclin®). A nefrotoxicidade foi avaliada por meio da determinação dos níveis de uréia sérica e a hepatotoxicidade, através da determinação da enzima alanina aminotransferase.

Malondialdeído no soro e nos homogenados de rim e de fígado - A extensão do estresse oxidativo foi avaliada utilizando-se o malondialdeído (MDA) como o marcador bioquímico da peroxidação de lipídio. Níveis de MDA no soro e nos homogenados de fígado e de rim foram avaliados através do Teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com o método descrito por Buege e Aust (1978). O reagente TBARS foi preparado imediatamente antes do uso, sendo constituído de ácido tiobarbitúrico 0,375% (p/v) e ácido tricloroacético 15% (m/v) em HCl 0,25 mol L⁻¹. A concentração de malondialdeído foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade molar $E_o = 1,56 \times 10^5 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (BUEGE; AUST, 1978). Os resultados foram expressos em nmols de malondialdeído por miligrama de proteína, para os homogenados de rim e de fígado, e em nmols de malondialdeído por 500 microlitros, para amostras de soro. Para comparação dos níveis de MDA entre os grupos-controle (sem estresse e com estresse) os resultados foram convertidos em valores relativos, considerando-se o grupo não exposto ao diclofenaco como 100%.

MDA no soro - Amostras de soro (500 microlitros) foram adicionadas a um tubo contendo 1,0 mililitro do reagente TBARS. A mistura foi agitada e submetida à temperatura de 90 °C (banho-maria), por 15 minutos. A seguir o material foi resfriado e centrifugado a 1.000 g, por 10 minutos. O sobrenadante foi submetido à leitura de absorvância em 535 nm, contra branco, o qual continha todos os reagentes (exceto a amostra).

MDA nos homogenados de fígado e de rim - Fragmentos de 1,0 grama de cada um dos tecidos foram homogeneizados em homogeneizador (Quimis), utilizando-se 10 mililitros de tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4, contendo hidroxitolueno butilado (BHT) 0,01% (m/v). O homogenado foi centrifugado a 1.000 g, por 15 minutos, e o sobrenadante foi utilizado imediatamente no ensaio do TBARS. Tubos contendo alíquotas de 1,0 mililitro do homogenado e 2,0 mililitros do reagente TBARS foram agitados e submetidos à temperatura de 90 °C (banho-maria) por 15 minutos. A seguir, o material foi resfriado e centrifugado a 1.000 g, por 10 minutos. O sobrenadante

foi submetido à leitura de absorvância em 535 nm, contra branco, o qual continha todos os reagentes (exceto a amostra).

4.1.4.3 Determinação da concentração de proteínas

A concentração protéica nos homogenados de fígado e de rim foi estimada pelo método de Lowry et al. (1951), utilizando-se soroalbumina bovina como padrão. As leituras foram realizadas em 700 nm, em espectrofotômetro Shimadzu UV-VIS (Kyoto, Japan).

4.1.5 Estatística

Utilizou-se o *software* Sigma Stat, versão 2.03, para análise descritiva dos dados e para os testes de comparação de grupos independentes, entre controle e tratamentos e entre tratamentos. Usou-se análise paramétrica para variáveis que apresentaram distribuição normal e análise não-paramétrica para aquelas que não apresentaram distribuição normal. Para testar as diferenças entre grupos, utilizaram-se os testes Tukey e Mann-Wthitney, considerando o nível de significância de 5%.

4.2 Resultados e discussão

4.2.1 Ganho de peso e consumo alimentar

4.2.1.1 Ganho de peso

Ao final de 25 dias, verificou-se que não houve diferença estatística na variável peso entre os grupos, mostrando que o ganho de peso foi igual para os diferentes tratamentos e que a suplementação de manga e de vitamina E não interferiu nesse parâmetro (Tabela 2).

4.2.1.2 Consumo

Não houve diferença no consumo alimentar entre os grupos durante os 25 dias de experimento (Tabela 2). Entretanto, nas 24 horas subseqüentes à exposição ao diclofenaco, observou-se que os grupos que receberam a droga consumiram menor quantidade do que aqueles que receberam apenas o veículo (Figura 3). De fato, o

diclofenaco, na concentração de 250 mg kg⁻¹ de peso do animal de peso, induz alterações fisiopatológicas que podem resultar na diminuição do apetite. Aspectos macroscópicos anormais no trato gastrintestinal dos animais que receberam diclofenaco foram observados durante a excisão dos órgãos.

Tabela 2 - Ganho de peso e ingestão dietética dos animais antes e durante a indução do estresse oxidativo por diclofenaco

Grupo	Ganho médio de peso (g)	Consumo médio (g por dia) 25 dias	Consumo ⁽¹⁾ (g por dia) 24 horas
Controle (DCFC-)	22,68	28,48 ± 1,59 ^a	29,77
Controle (DCFC+)	24,46	33,07 ± 5,15 ^a	20,11
Manga 25 d (DCFC-)	23,02	30,58 ± 2,40 ^a	32,17
Manga 25 d (DCFC+)	21,36	30,54 ± 5,25 ^a	17,28
Manga 24 h (DCFC-)	21,46	26,64 ± 1,95 ^a	46,26
Manga 24 h (DCFC+)	22,88	27,34 ± 2,07 ^a	16,84
vitamina E (DCFC-)	25,40	29,1 ± 3,67 ^a	40,66
vitamina E (DCFC+)	23,60	28,96 ± 1,23 ^a	27,93

⁽¹⁾ Valores referentes a um registro de consumo nas 24 horas subseqüentes à exposição ao diclofenaco. Médias na coluna seguida por letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05).

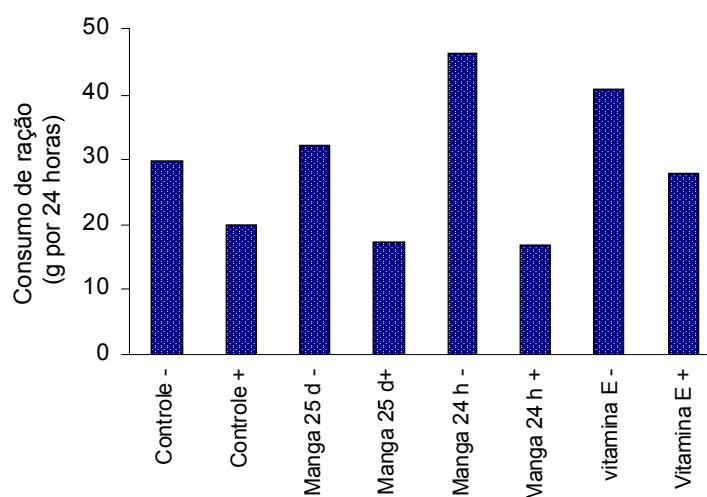


Figura 3 - Consumo alimentar dos grupos de animais durante as 24 horas subseqüentes à exposição ao diclofenaco (+) e ao veículo (-).

O consumo de energia e de antioxidantes dos grupos de animais, antes e durante a exposição ao diclofenaco, foi calculado a partir das informações da composição da ração, da composição das mangas em constituintes antioxidantes e do consumo alimentar (Tabela 3).

Tabela 3 - Ingestão de energia e de antioxidantes durante 25 dias antes e 24 horas após à exposição ao diclofenaco

Grupo	Em 25 dias					Em 24 horas				
	Calorias (kcal)	Vit. C (mg)	Vit. E (mg)	β -caroteno (μ g)	FT (mg)	Calorias (kcal)	Vit. C (mg)	Vit. E (mg)	β -caroteno (μ g)	Fenólicos Totais (mg)
Controle (DCFC-)	54,41	-	0,22	-	3,35	56,87	-	0,23	-	3,51
Controle (DCFC+)	63,18	-	0,25	-	3,89	38,42	-	0,15	-	2,37
Manga 25 d (DCFC-)	57,75	3,49	0,23	0,40	6,71	60,75	3,68	0,24	0,11	7,05
Manga 25 d (DCFC+)	57,67	3,42	0,23	0,39	6,69	32,63	1,98	0,13	8,06	3,79
Manga 24 h (DCFC-)	50,89	-	0,20	-	3,14	87,36	5,29	0,35	8,15	10,14
Manga 24 h (DCFC+)	52,23	-	0,21	-	3,22	31,80	1,93	0,13	0,05	3,69
Vitamina E (DCFC-)	55,59	-	0,22	-	3,43	77,68	-	4,41	-	4,79
Vitamina E DCFC+	55,33	-	0,22	-	3,41	53,36	-	3,03	-	3,29

4.2.2 Efeitos do diclofenaco nas funções renal e hepática e no marcador de estresse oxidativo dos grupos-controle

4.2.2.1 Uréia

A uréia sérica foi utilizada como um marcador bioquímico de lesão renal causada pelo diclofenaco (DCFC), uma vez que o estudo de Hickey et al. (2001) mostrou que o rim foi o tecido alvo de lesão pela droga. A comparação entre os grupos-controle (não tratados com suplementação) expostos e não-expostos ao DCFC mostra aumento nos valores da média e da mediana da uréia sérica dos grupos DCFC+, sendo a diferença, entre os grupos, estatisticamente significante ($p < 0,001$) (Tabela 4).

O perfil da diferença da uremia entre os dois grupos é ilustrado na Figura 4. O aumento de 3,8 vezes nos níveis de uréia sérica obtido com a dose de 250 mg kg⁻¹ é inferior ao descrito por Hickey et al. (2001), que foi de 4,4 vezes com uma dose de diclofenaco de 200 mg kg⁻¹ de peso do animal, utilizando-se camundongos. Entretanto, o aumento observado no estudo é indicativo de que a dose empregada foi suficiente para causar lesão renal nos animais expostos à droga.

Tabela 4 - Uréia sérica (mg dL^{-1}) dos animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco, consumindo as quatro dietas

		DCFC-	DCFC+
Controle	Média \pm DP	45,97 \pm 14,51	175,17 \pm 41,71
	Mediana	41,70 ^{a, A}	178,30 ^{a, B}
	Mín. – Máx.	27,3 - 71,80	117 – 237,50
Manga 24 h	Média \pm DP	34,62 \pm 4,39	161,60 \pm 29,07
	Mediana	35,30 ^{b, c, A}	165,00 ^{a, B}
	Mín. – Máx.	24,80 – 39,30	125,40 – 208,40
Manga 25 d	Média \pm DP	40,57 \pm 5,54	183,82 \pm 40,64
	Mediana	39,30 ^{a, A}	184,80 ^{a, B}
	Mín. – Máx.	33,40 – 49,70	127,00 – 272,00
Vitamina E	Média \pm DP	37,46 \pm 4,82	168,42 \pm 58,01
	Mediana	37,10 ^{a, c, A}	179,50 ^{a, B}
	Mín. – Máx.	31,50 – 42,90	105,00 – 236,80

Medianas seguidas por letras diferentes (minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas) diferem estatisticamente (Mann-Whitney, $p < 0,05$).

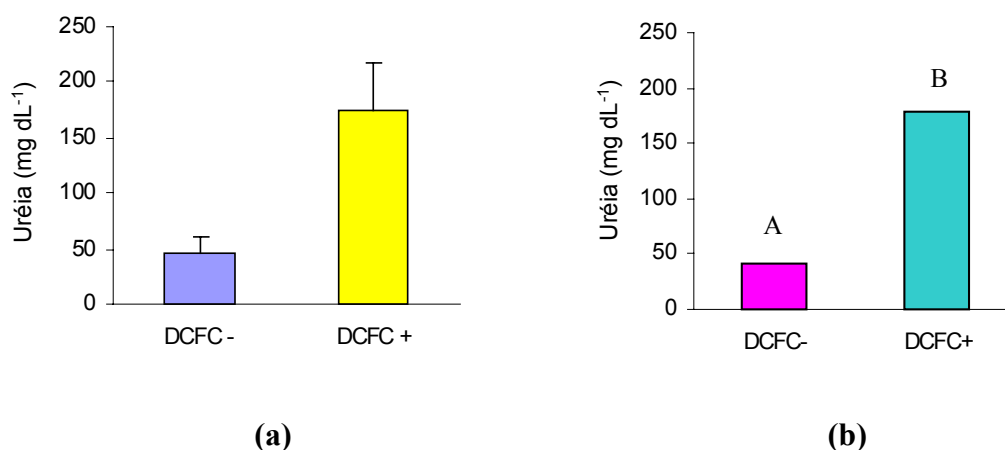


Figura 4 - Efeito do diclofenaco sobre a uréia sérica dos grupos-controle. Valores das médias (a) e das medianas (b).

4.2.2.2 Alanina aminotransferase- ALT

A alanina aminotransferase sérica foi utilizada como um marcador bioquímico de lesão hepática. Observou-se aumento na média e na mediana de ALT sérica do grupo-controle exposto ao diclofenaco, em comparação com aquele não-exposto (Tabela 5; Figura 5). Entretanto, a diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa ($p = 0,348$) (Tabela 5). A elevação de 1,29 vez na média de ALT do grupo que recebeu diclofenaco é similar à obtida por Hickey et al. (2001), que constataram aumento de 1,3 vez na ALT sérica dos camundongos com uma dose de 200 mg kg^{-1} .

Tabela 5 - Níveis séricos de alanina aminotransferase (U mL⁻¹) dos grupos de animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco, consumindo as quatro dietas

		DCFC-	DCFC+
Controle	Média ± DP	44,90 ± 27,97	58,33 ± 19,62
	Mediana	40,00 ^{a, A}	57,65 ^{a, A}
	Mín. – Máx.	11,00 – 88,00	32,00 – 88,00
Manga 24 h	Média ± DP	64,56 ± 29,93	46,67 ± 19,79
	Mediana	79,00 ^{a, b, A}	44,00 ^{a, b, A}
	Mín. – Máx.	20,00 – 96,00	23,00 – 93,00
Manga 25 d	Média ± DP	64,20 ± 14,43	35,70 ± 8,27
	Mediana	62,50 ^{a, A}	34,00 ^{b, B}
	Mín. – Máx.	46,00 – 87,00	28,00 – 55,00
Vitamina E	Média ± DP	86,00 ± 12,53	44,40 ± 19,05
	Mediana	90,00 ^{b, A}	40,00 ^{b, B}
	Mín. – Máx.	65,00 – 97,00	29,00 – 77,00

Medianas seguidas por letras diferentes (minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas) diferem estatisticamente (Mann-Whitney, $p < 0,05$).

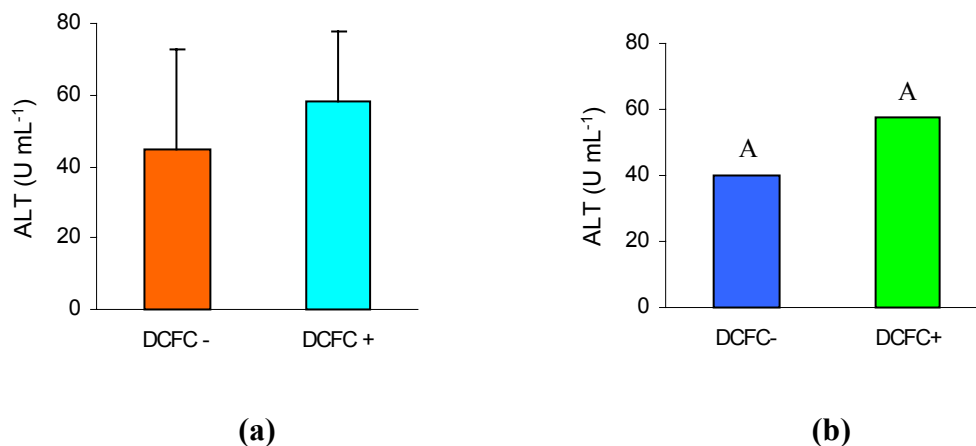
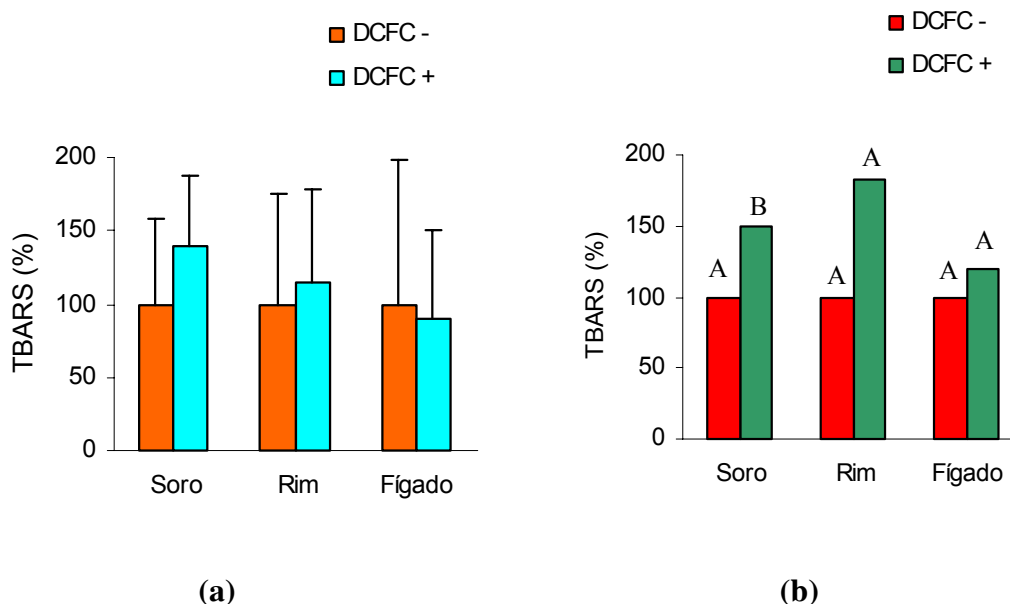


Figura 5 - Efeito do diclofenaco sobre a alanina aminotransferase (ALT) sérica dos grupos-controle. Valores das médias (a) e das medianas (b).

4.2.2.3 Marcador de estresse oxidativo

O nível de malondialdeído-MDA determinado no soro sangüíneo e nos homogenizados de fígado e de rim foi utilizado como um marcador de estresse oxidativo, mais especificamente de peroxidação lipídica. Para verificar se o diclofenaco induziu o estresse oxidativo, estabeleceu-se a comparação entre os grupos-controle, exposto e não-exposto ao diclofenaco. Houve elevação na média dos valores de MDA no soro e no rim dos grupos que receberam diclofenaco (Figura 6a) e elevação nas medianas dos

valores de MDA no soro, no rim e no fígado (Figura 6b). Entretanto, apenas no soro a diferença das medianas foi estatisticamente significativa ($p = 0,031$) (Tabela 6). O perfil do resultado no soro é similar ao obtido por Hickey et al. (2001), porém o aumento de 39% na média do MDA sérico com a administração de diclofenaco, na concentração de 250 miligramas por quilo de peso do animal, diferiu do aumento observado pelos autores, que foi de 500% com a dose de 200 miligramas por quilo. Ressalta-se que no estudo, referido anteriormente, os níveis de MDA nos homogenados de fígado e rim não foram avaliados. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis de MDA nos homogenados de rim e de fígado dos grupos-controle expostos e não-expostos ao diclofenaco (Tabelas 7 e 8).



Valores médios de MDA dos animais dos grupos-controle (DCFC-): soro = $0,030 \text{ nmol } 500 \mu\text{L}^{-1}$; rim = $0,085 \text{ nmol por mg de proteína}$; fígado: $0,052 \text{ nmol por mg de proteína}$.

Figura 6 - Aumento dos valores das médias (a) e das medianas (b) de malondialdeído-MDA no soro sanguíneo e nos homogenados de fígado e de rim dos animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco que consumiram dieta-controle.

Tabela 6 - Níveis séricos de malondialdeído - MDA (nmol de MDA por 500 µL de soro) dos grupos de animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco, consumindo as quatro dietas

		DCFC-	DCFC+
Controle	Média ± DP	0,033 ± 0,019	0,046 ± 0,016
	Mediana	0,030^{a, A}	0,045^{a, B}
	Mín. – Máx.	0,014 – 0,080	0,030 – 0,080
Manga 24 h	Média ± DP	0,178 ± 0,039	0,243 ± 0,031
	Mediana	0,175 ^{b, A}	0,235 ^{b, B}
	Mín. – Máx.	0,130 – 0,270	0,197 – 0,292
Manga 25 d	Média ± DP	0,193 ± 0,034	0,207 ± 0,036
	Mediana	0,196 ^{b, A}	0,197 ^{c, A}
	Mín. – Máx.	0,143 – 0,243	0,153 – 0,260
Vitamina E	Média ± DP	0,289 ± 0,048	0,222 ± 0,018
	Mediana	0,290 ^{c, A}	0,220 ^{b, c, B}
	Mín. – Máx.	0,220 – 0,346	0,200 – 0,250

Medianas seguidas por letras diferentes (minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas) diferem estatisticamente (Mann-Whitney, $p < 0,05$).

Tabela 7 - Valores de malondialdeído - MDA (nmoles de MDA por miligrama de proteína) no homogenado de rim dos grupos de animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco, consumindo as quatro dietas

		DCFC-	DCFC+
Controle	Média ± DP	0,103 ± 0,077	0,118 ± 0,066
	Mediana	0,085^{a, b, A}	0,156^{a, b, A}
	Mín. – Máx.	0,030 – 0,280	0,010 – 0,180
Manga 24 h	Média ± DP	0,093 ± 0,086	0,081 ± 0,048
	Mediana	0,080 ^{a, A}	0,076 ^{a, A}
	Mín. – Máx.	0,020 – 0,310	0,030 – 0,190
Manga 25 d	Média ± DP	0,131 ± 0,048	0,152 ± 0,047
	Mediana	0,146 ^{a, b, A}	0,144 ^{b, A}
	Mín. – Máx.	0,055 – 0,200	0,099 – 0,221
Vitamina E	Média ± DP	0,182 ± 0,032	0,128 ± 0,093
	Mediana	0,200 ^{b, A}	0,100 ^{a, b, A}
	Mín. – Máx.	0,145 – 0,210	0,050 – 0,290

Medianas seguidas por letras diferentes (minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas) diferem estatisticamente (Mann-Whitney, $p < 0,05$).

Tabela 8 - Níveis de malondialdeído – MDA (nmoles de MDA por miligrama de proteína) nos homogenizados de fígado dos grupos de animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco, consumindo as quatro dietas

		DCFC-	DCFC+
Controle	Média ± DP	0,082 ± 0,081	0,074 ± 0,049
	Mediana	0,052 ^{a, A}	0,060 ^{a, b, A}
	Mín. – Máx.	0,020 – 0,270	0,020 – 0,170
Manga 24 h	Média ± DP	0,044 ± 0,045	0,056 ± 0,057
	Mediana	0,030 ^{a, A}	0,035 ^{a, A}
	Mín. – Máx.	0,010 – 0,150	0,020 – 0,210
Manga 25 d	Média ± DP	0,057 ± 0,040	0,088 ± 0,056
	Mediana	0,054 ^{a, A}	0,087 ^{a, b, A}
	Mín. – Máx.	0,011 – 0,150	0,021 – 0,180
Vitamina E	Média ± DP	0,154 ± 0,049	0,087 ± 0,036
	Mediana	0,170 ^{b, A}	0,075 ^{b, B}
	Mín. – Máx.	0,070 – 0,200	0,060 – 0,140

Medianas seguidas por letras diferentes (minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas) diferem estatisticamente (Mann-Whitney, $p < 0,05$).

4.2.3 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre a uréia sérica

Os valores de uréia sérica dos animais expostos e não-expostos ao diclofenaco estão apresentados na Tabela 4. Os animais suplementados DCFC+ apresentaram os níveis de uréia estatisticamente mais elevados do que os seus grupos de comparação DCFC- (Figura 7).

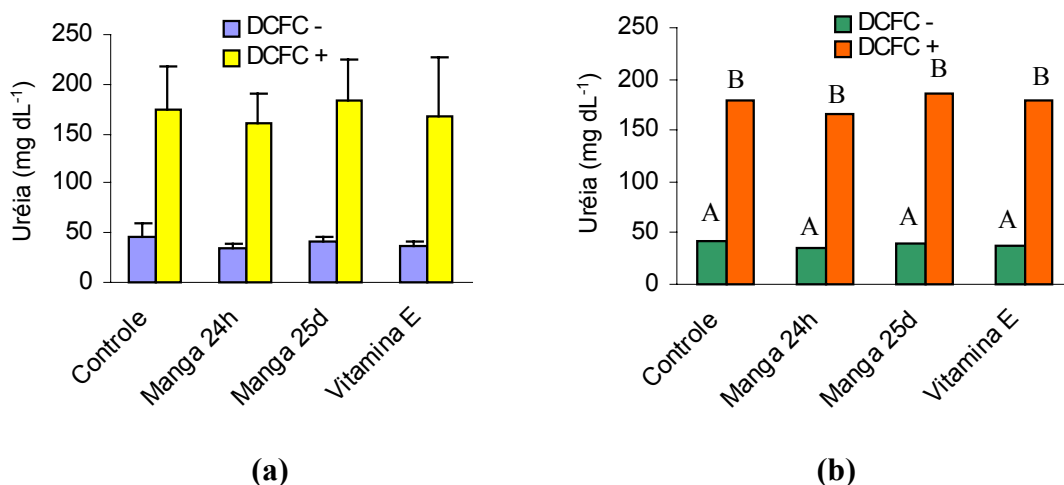


Figura 7 - Efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre a uréia sérica dos animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

Entre os grupos DCFC+, observou-se que os níveis de uréia não diferiram, indicando que a suplementação da ração com antioxidantes não protegeu o rim contra a lesão por diclofenaco (Tabela 4).

Para os animais DCFC-, verificou-se que os grupos-controle e suplementados com manga por 25 dias e vitamina E mostraram valores de uréia estatisticamente iguais (Tabela 4). Os animais suplementados com manga por 24 horas apresentaram redução estatisticamente significativa na uremia, em comparação com os grupos-controle ($p = 0,034$) e suplementado com manga por 25 dias ($p = 0,020$). Esse efeito pode ser atribuído à redução do catabolismo de proteína ou a uma alteração no ciclo da uréia. O resultado sugere a ocorrência de uma resposta do organismo do animal à ingestão aguda de bioativos e uma adaptação fisiológica diante do consumo crônico destes. Não houve diferença na uremia entre os grupos manga 24 horas e vitamina E ($p = 0,424$).

Em resumo, a análise do parâmetro uréia sérica mostra que os antioxidantes não protegeram a lesão renal induzida por diclofenaco e, na ausência do estresse oxidativo induzido, reduziram a uréia sérica quando ingeridos de forma aguda.

4.2.4 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre a alanina aminotransferase sérica

Os valores de ALT dos animais DCFC+ e DCFC- estão apresentados na Tabela 5. Grupos de animais DCFC+ que consumiram dieta suplementada com manga por 25 dias e vitamina E mostraram valores de ALT estatisticamente menores do que os seus grupos de comparação DCFC- (manga 25 dias, $p < 0,001$, e vitamina E, $p = 0,016$) (Figura 8).

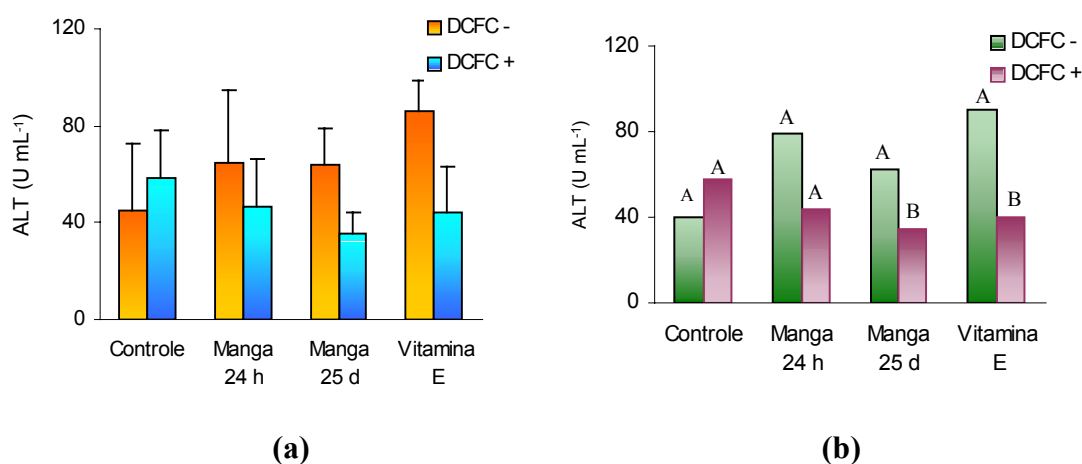


Figura 8 - Comparação dos efeitos da suplementação de manga e de vitamina E sobre a alanina aminotransferase sérica – ALT dos animais expostos e não-expostos ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

A magnitude da redução foi de 44 e 48% para o grupo da manga 25 dias e da vitamina E, respectivamente (Tabela 5). Neste estudo há poucos subsídios para explicar tal efeito. A dosagem de ALT sérica é utilizada como um exame laboratorial de rotina para estabelecer diagnósticos de doenças hepáticas que apresentam inflamação e necrose. A liberação da enzima na circulação, conseqüente à lesão do tecido, é um marcador da perda de viabilidade celular. Estudos histológicos, que serão realizados posteriormente, poderão apontar subsídios para sugestões sobre o mecanismo da redução de ALT nos dois grupos. Não houve diferença significativa nas medianas de ALT sérica entre os grupos DCFC- e DCFC+ que receberam dieta suplementada com manga por 24 horas ($p = 0,310$).

Em resumo, a suplementação com manga por 25 dias reduziu significativamente a ALT sérica dos animais expostos ao diclofenaco, e a manga por 24 horas não interferiu no parâmetro dos animais expostos à droga. Para os animais DCFC-, a suplementação com vitamina E aumentou significativamente a ALT sérica e a suplementação com manga não interferiu no parâmetro.

Para os animais DCFC-, houve tendência de aumento da ALT com a suplementação da dieta com antioxidantes (Figura 8). Entretanto, apenas o grupo que consumiu vitamina E apresentou o valor de ALT sérica estatisticamente mais elevado que o grupo-controle ($p = 0,012$) (Tabela 5). Esse efeito pode estar associado aos mecanismos relacionados aos eventos em membranas citoplasmática e organelar. Não houve diferença significativa na ALT sérica entre os grupos manga 24 horas e manga 25 dias ($p = 0,624$); e manga 24 horas e vitamina E ($p = 0,161$). O grupo de animais que consumiram vitamina E apresentou ALT sérica estatisticamente mais elevada do que o grupo que consumiu manga por 25 dias ($p = 0,017$). Se for correta a explicação para o efeito da vitamina E em aumentar a ALT sérica através de lesão de membranas, então o consumo de manga por 25 dias ofereceu proteção mais eficiente do que a suplementação aguda de um único antioxidante.

Para os animais DCFC+, houve tendência de redução dos níveis de ALT sérica nos grupos suplementados com antioxidantes (Figura 8). Os grupos manga por 25 dias e vitamina E apresentaram valores de ALT sérica menores do que o grupo-controle. Compostos bioativos da manga, consumidos por 25 dias, induziram uma resposta diferenciada do tecido frente à exposição ao diclofenaco. O presente estudo não oferece subsídios para se propor uma explicação plausível para esse efeito. Não houve diferença

significante nos níveis de ALT entre os tratamentos para os grupos expostos ao diclofenaco (Tabela 5).

Em resumo, a suplementação com antioxidantes (manga 25 dias e vitamina E) reduziu a ALT sérica nos grupos expostos ao diclofenaco. A vitamina E aumentou a ALT nos grupos não-expostos à droga. Portanto, a suplementação da ração com vitamina E e com manga (por 25 dias) ofereceu hepatoproteção contra a toxicidade induzida por diclofenaco.

4.2.5 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre os níveis de malondialdeído no soro

Os níveis de MDA sérico dos animais DCFC- e DCFC+ estão apresentados na Tabela 6.

Para os animais DCFC+, os grupos tratados apresentaram valores da mediana de MDA significativamente mais elevados do que os do grupo-controle (Tabela 6). A Figura 9 mostra o perfil das diferenças entre médias e medianas dos valores de MDA nos quatro grupos de animais.

O aumento na média dos valores de MDA em relação ao valor de MDA do grupo-controle foi de 5,3 vezes para o grupo manga 24 horas, 4,5 vezes para o grupo manga 25 dias e 4,8 vezes para o grupo vitamina E. Assim, a suplementação com antioxidantes não protegeu os animais contra o estresse oxidativo induzido por diclofenaco, considerando o marcador de peroxidação lipídica.

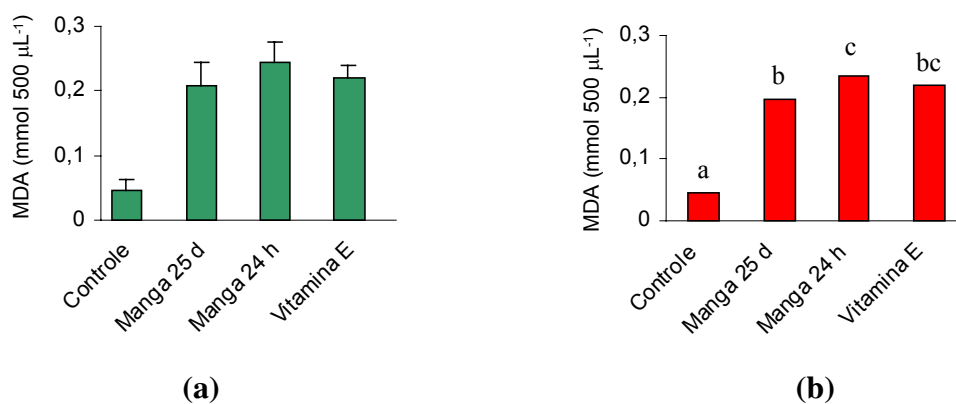


Figura 9 - Efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre os níveis de malondialdeído no soro dos animais expostos ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

A comparação entre os tratamentos mostrou que os grupos suplementados com manga por 25 dias apresentaram mediana de MDA estatisticamente menor do que aquele que consumiu manga por 24 horas ($p = 0,049$). A diferença dos efeitos da ingestão de manga de maneira aguda e crônica pode ser explicada por mecanismo de indução da expressão de genes envolvidos em mecanismos de proteção antioxidante. Já está estabelecido que alguns genes respondem aos antioxidantes ingeridos através dos Elementos de Resposta a Antioxidantes (ARE) presentes na região do promotor, resultando em síntese de proteínas que atuam na proteção contra o estresse oxidativo (NGUYEN et al., 2003).

Para os grupos DCFC-, verificou-se que os animais tratados também apresentaram valores de mediana de MDA estatisticamente mais elevados do que os do grupo-controle (Tabela 6). O aumento no valor da média foi de 5,4 vezes para o grupo manga 24 horas ($p < 0,001$), 5,9 vezes para o grupo manga 25 dias ($p < 0,001$) e 8,75 vezes para o grupo vitamina E ($p = 0,003$). Portanto, a suplementação com antioxidantes resultou em aumento da peroxidação de lipídio, em vez de diminuição, em consequência do efeito prooxidante. A Figura 10 ilustra o perfil dos efeitos.

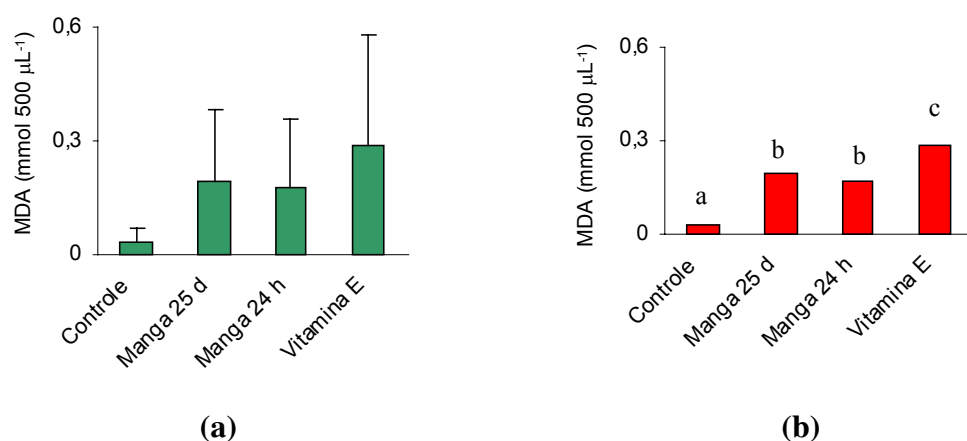


Figura 10 - Efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre os níveis de malondialdeído no soro dos animais não-expostos ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

A comparação entre os tratamentos mostrou que não houve diferença entre os grupos manga 24 horas e manga 25 dias ($p = 0,307$). Entretanto, o grupo vitamina E apresentou mediana de MDA estatisticamente mais elevada do que a dos grupos de animais que consumiram manga por 24 horas ($p = 0,005$) e por 25 dias ($p = 0,008$).

Apesar da suplementação de ambos (vitamina E e manga) ter resultado em efeito prooxidante sobre os lipídios, a vitamina E induziu maior efeito prooxidante. Isso pode significar diferenças de efeitos fisiológicos quando se administra um antioxidante isoladamente ou um conjunto de antioxidantes, como é o caso da manga que contém várias moléculas com potencial antioxidante (ZHOU et al., 2005).

Para ampliar a compreensão sobre o efeito dos antioxidantes suplementados nas duas diferentes condições fisiológicas (estresse induzido e não-estresse), os grupos de animais DCFC- e DCFC+ foram comparados aos pares em cada tratamento. A Figura 11 ilustra o perfil de comparações.

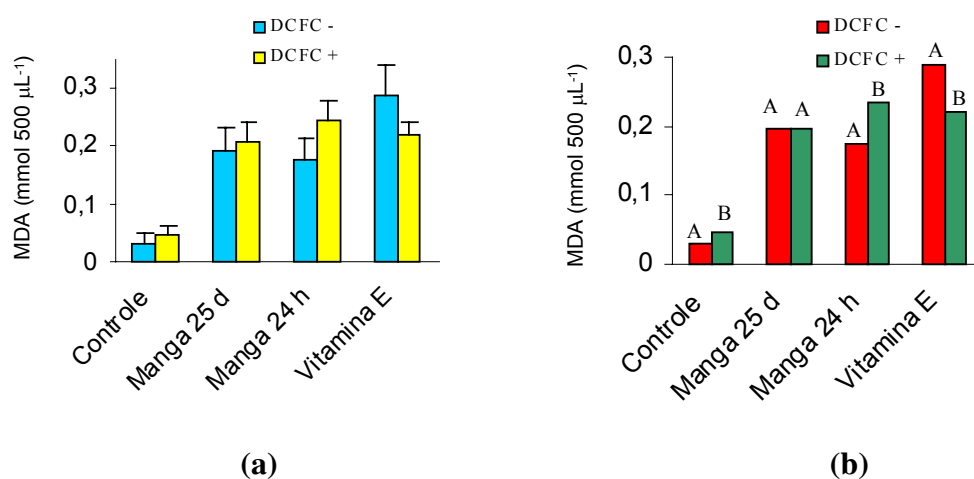


Figura 11 - Comparação do efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre os níveis de malondialdeído sérico dos animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

Conforme comentado anteriormente, o diclofenaco aumentou significativamente os níveis de MDA sérico nos animais alimentados com dieta-controle ($p = 0,031$). O aumento no valor da média foi de 39%. Na comparação entre os grupos tratados, observou-se que nos animais suplementados com manga por 24 horas o diclofenaco também aumentou significativamente o MDA sérico ($p = 0,002$), sendo o aumento de 36%. Para os animais que consumiram manga por 25 dias, não houve diferença nos níveis de MDA sérico ($p = 0,427$) entre os grupos DCFC- e DCFC+, significando que a situação de estresse oxidativo era a mesma na presença ou na ausência do diclofenaco. O diclofenaco não estimulou a peroxidação de lipídio no grupo que consumiu manga

por 25 dias (Figura 11b). O resultado sugere a possível ocorrência de mecanismos fisiológicos com a ingestão de manga por 25 dias, os quais aumentaram a proteção dos animais contra a oxidação de lipídio durante a biotransformação do diclofenaco. Uma forte sugestão envolve o aumento da expressão de proteínas envolvidas no mecanismo antioxidante (SEN; PACKER, 1996). Entre os grupos suplementados com vitamina E, o valor da mediana de MDA do grupo de animais expostos ao diclofenaco foi significativamente menor do que o grupo de animais não-exposto ($p = 0,032$). O decréscimo no valor da média foi de 23%, mostrando que na presença de níveis mais reduzidos de peroxidação lipídica o excesso de vitamina E pode exercer efeito prooxidante mais acentuado e que na condição do estresse oxidativo induzido o efeito prooxidante da vitamina E foi menor. A diferença nos efeitos pode também ser consequência do nível de ingestão de antioxidantes, já que os animais DCFC+ mostraram menor consumo alimentar nas 24 horas subsequentes à administração do diclofenaco.

Em resumo, a suplementação da dieta com manga não diminuiu o marcador de estresse oxidativo no compartimento sérico, sendo o resultado similar ao observado para a suplementação com a vitamina E. Em ambas as condições fisiológicas, ausência e presença do diclofenaco, a suplementação com manga e com vitamina E aumentou o marcador de estresse oxidativo. Pode-se afirmar que os antioxidantes induziram um efeito prooxidante nos grupos de animais expostos e não-expostos ao diclofenaco.

4.2.6 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de rim

A Tabela 7 apresenta os valores de MDA nos homogenados de rim dos animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco.

Primeiramente, deve-se ressaltar que não houve diferença nos níveis de MDA nos homogenados de rim entre os grupos (DCFC- e DCFC+) que consumiram dietas-controle ($p = 0,427$). Embora não significativa, houve aumento da média de MDA do grupo DCFC+ de 14%. Isso não significa que o tecido renal do grupo exposto ao diclofenaco não estava em condição de estresse oxidativo, uma vez que o malondialdeído é um parâmetro indireto que avalia o efeito do aumento dos radicais livres sobre os lipídios. Outros alvos celulares são oxidados numa situação prooxidante, como, por exemplo, as proteínas e os ácidos nucleicos (OFFORD et al., 2000).

Dois aspectos podem explicar o fato de o grupo-controle DCFC+ não ter apresentado valor de MDA estatisticamente maior do que o do grupo-controle DCFC-. Primeiramente, há afirmações de que o malondialdeído é eficientemente metabolizado em vários tecidos, estando envolvida uma enzima mitocondrial (HJELLE; PETERSEN, 1983). Griffiths et al. (2002) comentam que o MDA produzido *in vivo*, na sua forma livre, pode ser rapidamente metabolizado a dióxido de carbono e ácido acético pela aldeído desidrogenase. O tecido renal possui a aldeído desidrogenase, a qual possui atividade de metabolização de aldeídos tóxicos (HJELLE et al., 1983).

Uma outra explicação para os grupos de animais DCFC – e DCFC+ com dieta-controle não terem apresentado diferenças no marcador de peroxidação de lipídio é o fato de o experimento ter sido realizado com ração comercial, a qual contém, além dos nutrientes que atuam como antioxidantes, 2,5% de antioxidantes que são adicionados para a sua preservação. Frequentemente, esses antioxidantes adicionados à ração são o butil-hidroxitolueno (BHT) ou o butil-hidroxianisol (BHA), e ambos são absorvidos, podendo atuar no meio biológico como antioxidantes. Além disso, a ração contém farelos de soja e de milho, os quais também fornecem compostos com potencial antioxidante. Dessa forma, pode ser que o adequado *status* antioxidante fornecido pela ração tenha protegido o grupo exposto ao diclofenaco contra a peroxidação lipídica no tecido renal.

Para os animais DCFC+, os grupos tratados apresentaram valores de MDA nos homogenados de rim estatisticamente iguais ao do controle ($p = 0,307$, $0,199$ e $0,951$ para os grupos: manga 24 horas, manga 25 dias e vitamina E, respectivamente) (Tabela 7). O resultado mostra que os antioxidantes suplementados não tiveram influência na peroxidação lipídica no tecido renal, nos animais expostos ao diclofenaco. A Figura 12 mostra o perfil do efeito dos tratamentos sobre os valores das médias e medianas de MDA no homogenado de rim dos grupos DCFC+.

A comparação entre os tratamentos mostra que o grupo manga 24 horas apresentou valor de mediana de MDA estatisticamente menor que o do grupo manga 25 dias ($p = 0,004$) (Tabela 7). Esse resultado mostra primeiramente a biodisponibilidade de antioxidantes da manga para o tecido renal e o seu efeito em diminuir a peroxidação de lipídio, na condição de ingestão aguda, bem como que a ingestão de forma crônica ou aguda afeta diferentemente o tecido renal exposto a uma injúria química. Não houve diferença significativa entre o grupo manga 24 horas e o grupo vitamina E ($p = 0,244$) e entre os grupos manga 25 dias e vitamina E ($p = 0,198$).

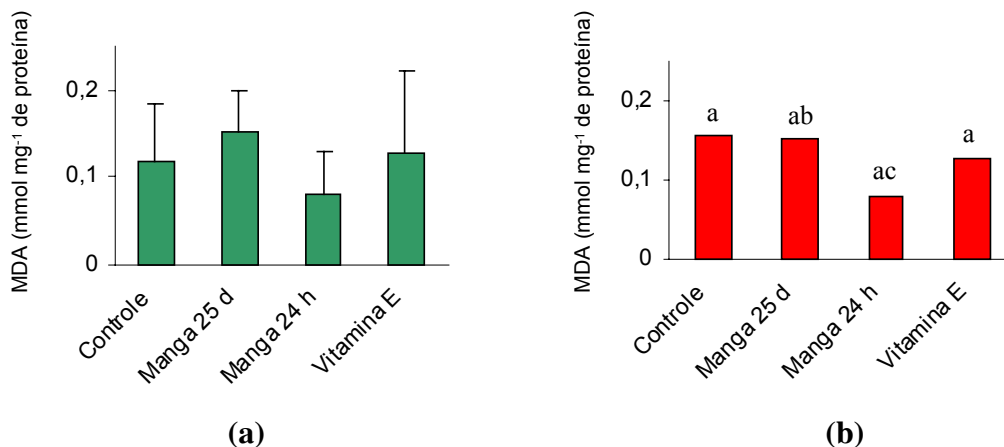


Figura 12 - Efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de rim dos animais expostos ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

No grupo DCFC-, os animais tratados apresentaram valores de MDA nos homogenados de rim estatisticamente iguais ao do controle ($p = 0,705$, $0,151$ e $0,058$ para os grupos manga 24 horas, manga 25 dias e vitamina E, respectivamente), apesar da tendência no aumento do parâmetro para alguns grupos tratados (Tabela 7). O perfil dos resultados obtidos para o grupo de animais DCFC – está representado na Figura 13. A comparação entre os grupos suplementados mostrou que o grupo manga 24 horas apresentou valor de MDA estatisticamente menor que o do grupo vitamina E ($p = 0,017$). Não houve diferença entre o grupo manga 24 horas e o grupo manga 25 dias ($p = 0,054$) e entre os grupos manga 25 dias e vitamina E ($p = 0,086$).

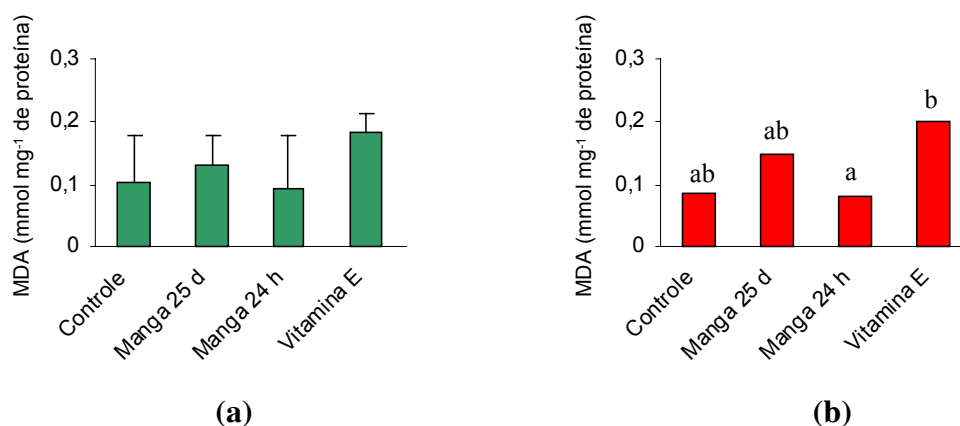


Figura 13 - Efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de rim dos animais não-expostos ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

A comparação entre os animais DCFC- e DCFC+ em cada tratamento mostrou não haver diferença significativa entre os grupos manga 24 horas ($p = 1,00$), manga 25 dias ($p = 0,427$) e vitamina E ($p = 0,151$), apesar das variações de -13%, +16% e -30% nos valores das médias de MDA para os grupos DCFC+ suplementados com manga 24 horas, manga 25 dias e vitamina E, respectivamente (Tabela 7). A Figura 14 ilustra o perfil de comparação entre os grupos.

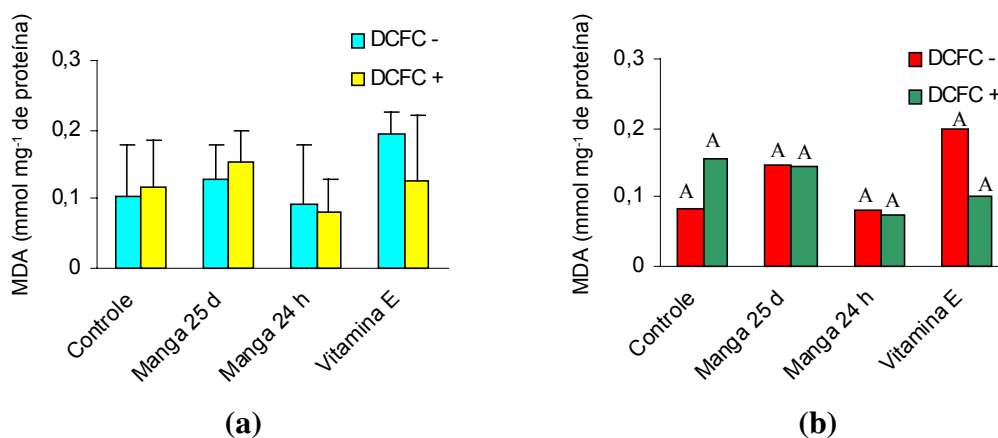


Figura 14 - Comparação do efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de rim dos animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

4.2.7 Efeitos da suplementação da dieta com manga e com vitamina E sobre os níveis de malondialdeído no fígado

A comparação entre os grupos que receberam dieta-controle mostrou que o grupo de animais DCFC+ apresentou diminuição de 9,75% no valor da média de MDA no homogenado de fígado, em comparação com o grupo DCFC- (Tabela 8). Entretanto, a diferença das medianas não foi estatisticamente significativa ($p = 0,623$). Esse resultado confirma a informação de que o diclofenaco apenas eventualmente causa o estresse oxidativo em nível hepático (HICKEY et al., 2001).

Para os grupos DCFC+ não houve diferença estatisticamente significativa nas medianas de MDA entre os grupos suplementados e o grupo-controle (Tabela 8). Entre os grupos suplementados, o grupo Vitamina E apresentou MDA mais elevado do que o grupo Manga - 24 horas ($p = 0,048$) e não houve diferença entre os demais grupos. A Figura 15 ilustra o perfil dos efeitos.

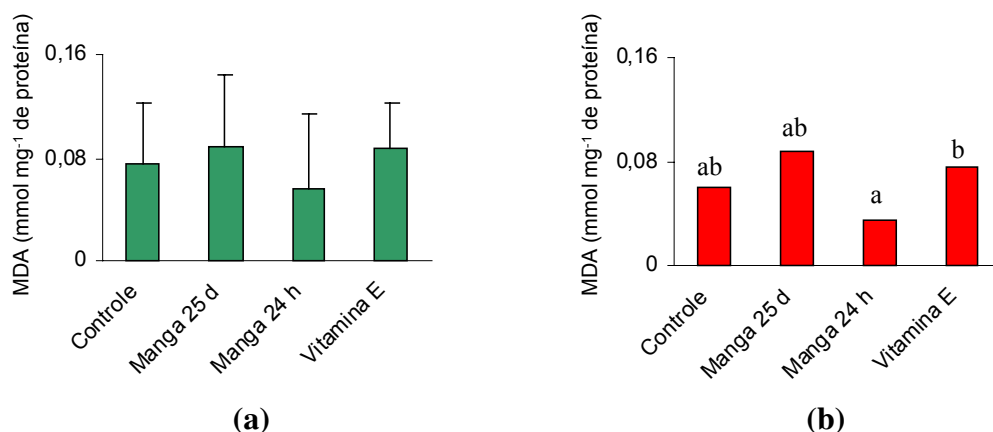


Figura 15 - Efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de fígado dos animais expostos ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

O perfil de resposta dos animais DCFC- foi diferente do observado para os animais expostos ao diclofenaco e está apresentado na Figura 16. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo-controle e os grupos suplementados com manga por 24 horas ($p = 0,150$) e o grupo suplementado com manga por 25 dias ($p = 1,000$). O grupo suplementado com vitamina E mostrou o valor da mediana de MDA estatisticamente mais elevado do que o do grupo-controle ($p = 0,032$). O aumento no valor da média do MDA foi de 1,88 vez em relação ao valor do controle. Assim, pode-se afirmar que a vitamina E no grupo não exposto ao diclofenaco apresentou efeito prooxidante, em nível hepático. A comparação entre os grupos tratados mostrou que não houve diferença significativa nas medianas de MDA entre os grupos manga 24 horas e manga 25 dias ($p = 0,173$), porém o grupo suplementado com vitamina E apresentou mediana de MDA estatisticamente mais elevada do que o do grupo manga 24 horas ($p = 0,006$) e do que o grupo manga 25 dias ($p = 0,008$).

Também não houve diferença significativa entre os grupos de animais DCFC+ e DCFC- que consumiram dieta controle, manga 24 horas e manga 25 dias ($p = 0,623$; $0,307$; $0,307$, respectivamente) (Tabela 8). Para os grupos que consumiram vitamina E, a mediana de MDA dos animais expostos ao diclofenaco (DCFC+) foi estatisticamente menor do que a mediana de MDA do grupos não exposto ao diclofenaco ($p = 0,048$). A manga não diminuiu a peroxidação lipídica na presença do diclofenaco; ao contrário, vitamina E protegeu os animais expostos ao diclofenaco contra a peroxidação lipídica. A Figura 17 apresenta o perfil das comparações entre os grupos DCFC- e DCFC+.

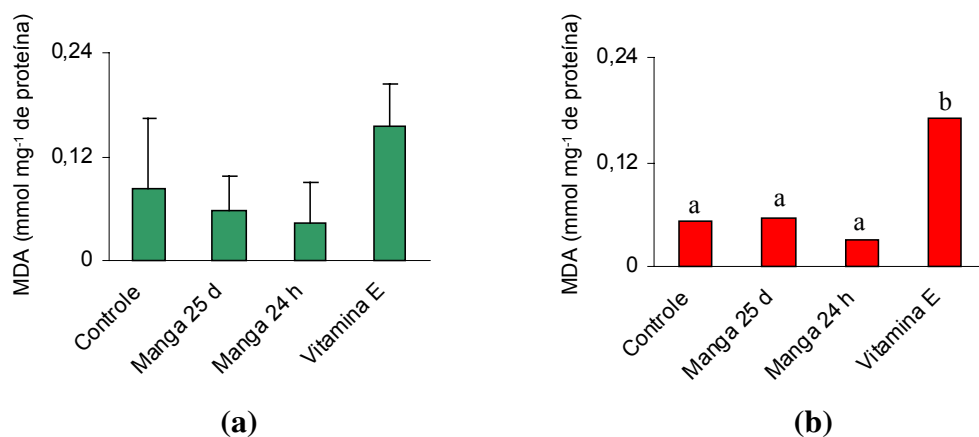


Figura 16 - Efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de fígado dos animais não expostos ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

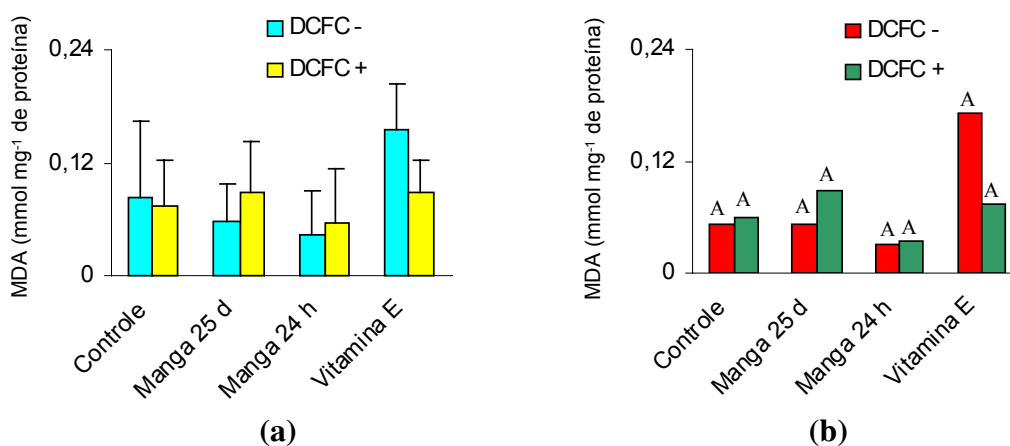


Figura 17 - Comparação do efeito da suplementação de manga e de vitamina E sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de fígado dos animais expostos (DCFC+) e não-expostos (DCFC-) ao diclofenaco. Valores das médias (a) e das medianas (b).

O fato de variações acentuadas nos valores das médias do MDA não resultarem em diferenças estatisticamente significantes é consequência da heterogeneidade de resposta dos animais. Essa observação é válida também para a análise no soro e rim. Guo et al. (2003) mostraram mutações hipomórficas espontâneas das enzimas antioxidantes catalase, superóxido dismutase, glutathiona peroxidase e glutathiona redutase em camundongos e conseqüente redução da atividade das enzimas. Assim, apesar de o ambiente nutricional ser o mesmo durante um experimento, o sinergismo entre a dieta e a genética diferenciada pode determinar a resposta individual do rato. Portanto, grandes diferenças no *status* antioxidante dos ratos podem ser encontradas.

Outros animais podem ser utilizados para os estudos do potencial antioxidante de alimentos *in vivo* e *ex vivo*. Pajk et al. (2006) utilizaram porcos para avaliação da eficiência de maçãs, morangos e tomates na redução do estresse oxidativo. Os autores propõem a utilização de porcos como modelos de animais na extrapolação de resultados para seres humanos, considerando que estes são omnívoros, podem consumir dieta idêntica à dos humanos e há semelhança de trato digestivo entre ambos; ainda, observa-se alta correlação na comparação entre as necessidades nutricionais de humanos e de porcos.

4.3 Discussão final

A hipótese do estudo era de que a suplementação da ração dos ratos com manga reduziria o marcador de estresse oxidativo dos animais, uma vez que a fruta possui vários compostos antioxidantes. Dessa forma, seria possível mensurar o potencial antioxidante da fruta. A ingestão por 24 horas e por 25 dias se justifica por causa do conhecimento já estabelecido de que os antioxidantes podem agir por mecanismo imediato na eliminação dos radicais livres, diminuindo conseqüentemente os marcadores de estresse oxidativo, e/ou por mecanismo de alteração da expressão de genes, cujos produtos aumentam a resistência do tecido para a exposição futura a uma condição prooxidante.

O fato de não ter sido observada a diminuição dos níveis de MDA pela ingestão da manga não significa que esta não tenha potencial antioxidante. Ao contrário, este estudo comprovou que a polpa da fruta apresenta bioatividade relacionada com o mecanismo de oxidação-redução. O comportamento prooxidante também foi observado para a vitamina E, a qual é uma molécula que apresenta ação antioxidante comprovada no meio biológico (BURTON; INGOLD, 1989). Esse resultado não é inédito, pois a ambigüidade de efeitos de moléculas antioxidantes nos estudos é comumente relatada (LONG; HALLIWEL, 2001; WEINBERG et al., 2001; JOSHI et al., 1999; PALOZZA et al., 2003). Tem sido afirmado que alguns antioxidantes podem exercer efeitos prooxidantes por mecanismos que envolvem sua interação com metais. Ascorbato, flavonóides e α -tocoferol podem reduzir Fe^{3+} e Cu^{2+} a Fe^{2+} e Cu^{+} , os quais podem estimular o dano oxidativo. Fenóis oxidados formados durante as reações redox podem também apresentar efeitos prooxidantes, em conseqüência da geração de H_2O_2 (LONG; HALLIWEL, 2001).

Acredita-se que o resultado prooxidante, em vez de antioxidante, observado para a manga, possa ser consequência da elevada concentração de antioxidantes pela suplementação a 10% adicionada a uma ração que também contém antioxidantes. Essa sugestão foi avaliada através da equivalência do consumo dos animais experimentais para o consumo humano, considerando como referência um indivíduo adulto, do sexo masculino, de 70 kg. Para isso, foi calculada a ingestão de antioxidantes por quilo de peso do animal (Tabelas 1A e 2A) e estabelecida uma inferência para o consumo humano (Tabelas 3A e 4A). A comparação com as recomendações de vitamina C, vitamina E e vitamina A (IOM, 2000) enfoca a quantidade de antioxidantes ingerida apenas com a suplementação, não incluindo nos cálculos as quantidades destes relativas à composição da ração.

Verificou-se que, para os grupos suplementados com manga e não-expostos ao diclofenaco (Tabela 3A), a ingestão crônica (25 dias) de vitamina C foi equivalente ao consumo diário de 7,45 vezes a recomendação diária; já o consumo agudo (24 horas) foi de 11,8 vezes a recomendação, situando-se abaixo da UL (*Tolerable Upper Intake Levels*), que é de 2.000 mg por dia (IOM, 2000). Ressalta-se ainda que ratos possuem a via biossintética de ascorbato e, portanto, o nutriente não é essencial para eles (FLAT, 2002). Em relação à vitamina E, verificou-se que os animais DCFC- ingeriram 7,6 e 4,2 vezes o valor da recomendação diária para um indivíduo adulto do sexo masculino. Como não há recomendação para β -caroteno, a equivalência foi feita considerando o Valor de Vitamina A, resultando na ingestão de 6.250 μ g, o que corresponde a 2,08 vezes a recomendação.

Constatou-se que para os grupos suplementados com manga e expostos ao diclofenaco (Tabela 4A) a ingestão crônica (25 dias) de vitamina C foi equivalente ao consumo diário de 7,6 vezes a recomendação diária, enquanto o consumo agudo (24 horas) foi de 4,2 vezes a recomendação (IOM, 2000). Quanto ao consumo da vitamina E, observou-se que os animais ingeriram o equivalente a 3,0 vezes a recomendação no período de 25 dias e 1,7 vez a recomendação durante as 24 horas (IOM, 2000). Para o β -caroteno, o consumo foi equivalente a 6.583 e de 833 μ g de retinol, o que corresponde a 2,19 e 0,28 vezes o valor da recomendação (IOM, 2001)

Quanto aos fenóis totais, também não há referência para a comparação, porém o nível do consumo (agudo e crônico) dos animais DCFC- e do consumo agudo dos animais DCFC+ ultrapassou o limite observado em estudos sobre a estimativa do consumo humano (até 1,0 g por dia). Dessa forma, a suplementação da ração com polpa

de manga da variedade Ubá a 10% pode ter sido elevada, e os resultados obtidos podem ser considerados como efeitos tóxicos.

4.4 Conclusão

Os resultados permitiram as seguintes conclusões:

- A polpa da manga Ubá não mostrou efeito antioxidante no estudo *ex vivo* com ratos *wistar* quando foi ofertada como suplementação da ração comercial na quantidade de 10% e o malondialdeído foi utilizado como marcador de estresse oxidativo induzido por diclofenaco. Entretanto, a suplementação de manga por 25 dias exerceu efeito hepatoprotetor contra a toxicidade induzida por diclofenaco, diminuindo os níveis séricos de alanina aminotransferase.
- O nível de suplementação de 10% da ração comercial com manga foi elevado e pode ter resultado em efeito prooxidante, e isso sugere bioatividade relacionada com mecanismo de redução-oxidação. Em razão disso, com o presente modelo experimental não foi possível mensurar o potencial antioxidante da polpa da manga Ubá.
- A vitamina E também mostrou efeito prooxidante em alguns grupos de animais.
- O potencial antioxidante da polpa de manga Ubá deve ser testado em um nível próximo do compatível ao do consumo humano.

5 MODELO EXPERIMENTAL 2

Efeito da suplementação de manga a 3% na ração AIN-G sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de fígado de ratos *wistar* submetidos ao estresse oxidativo induzido por paracetamol

5.1 Material e métodos

5.1.1 Animais

Foram utilizados 40 ratos *wistar* machos recém-desmamados (35 dias de idade), divididos em quatro grupos de dez animais cada. Os ratos permaneceram em gaiolas, reunidos em grupos de cinco animais em cada uma, tendo livre acesso à ração e

água. Foram mantidos em sala climatizada, em temperatura de 22-25 °C, sob ciclos claro-escuros de 12 horas, por uma semana. O ensaio biológico foi conduzido no Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Viçosa.

5.1.2 Dietas experimentais

Ingredientes adquiridos da RHOSTER e de mercados locais e polpa de manga liofilizada da variedade Ubá foram utilizados para preparar dois tipos de dietas formuladas: **controle** – AIN-G93 modificada (REEVES et al., 1993) e **suplementada com manga liofilizada a 3%** - composição igual a AIN-G93, substituindo-se 30 gramas de amido de milho por 30 gramas de polpa de manga liofilizada para cada mil gramas de ração.

A ração foi preparada, obtendo-se os *pellets*, os quais foram acondicionados sob proteção de luz e mantidos a -5 °C até o uso. O teor de umidade foi determinado por técnica descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2005) para corrigir o consumo dos animais e estimar a ingestão de antioxidantes durante as 24 horas de experimento. A Tabela 9 apresenta a composição da dieta-controle (AIN-G93 modificada) e da dieta experimental (suplementada com polpa de manga). A composição das dietas em antioxidantes está apresentada na Tabela 10.

Tabela 9 - Composição das dietas-controle e experimental em mil gramas

Ingrediente	Dieta-controle (g)	Dieta Experimental (g)
Caseína (81,50%)	208,38	208,38
Dextrosol	132,00	132,00
Sacarose	100,00	100,00
Óleo de milho	70,00	70,00
Fibra	50,00	50,00
Mistura mineral	35,00	35,00
Mistura de vitaminas	10,00	10,00
L-Cistina	3,00	3,00
Colina	2,50	2,50
Polpa de manga liofilizada	-	30,00
Amido de milho	q.s. p. 1.000,00	q.s. p. 1.000,00

Tabela 10 - Composição das dietas-controle e experimental em antioxidantes em mil gramas

Suplemento	Dieta-Controle	Dieta Experimental
Vitamina E (mg)	75,00*	75,00
Vitamina C (mg)	-	137,25
B-caroteno (µg)	-	3.956,65
Fenóis totais (mg)	n.d.	n.d. + 370
Mangiferina (mg)	-	5,70
Quercetina (mg)	-	4,20
Kaempferol (mg)	-	0,18

* Não foi considerado teor presente no óleo de milho.

n.d. = não determinado.

5.1.3 Desenho experimental

O experimento foi um estudo controlado. Os animais receberam por três dias a dieta AIN-G93 (contendo óleo de milho) para adaptação alimentar. Dois grupos de animais receberam nesse período de três dias o fenobarbital, adicionado à água do bebedouro na concentração de 3 gramas por litro, com os objetivos de ativar o sistema enzimático citocromo P450 (CREMONESE et al., 2001) e intensificar a peroxidação de lipídio, considerando que ratos são animais mais resistentes à injúria hepática por paracetamol (AMIMOTO et al., 1995). Após um jejum de 10-12 horas, o peso dos animais foi registrado e dois grupos de animais receberam, através de gavagem, uma dose única de paracetamol (250 miligramas por quilo de peso do animal), a qual foi calculada individualmente. Os outros dois grupos de animais (não submetidos ao estresse oxidativo) receberam água, também por gavagem. Após duas horas, os animais receberam as dietas experimentais e a água *ad libitum* por 24 horas. Os animais foram anestesiados com éter e sacrificados em guilhotina. O sangue foi coletado e os fígados removidos, sendo uma parte do órgão coletada em tampão fosfato, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH: 7,4, para determinação de malondialdeído, e o outro fragmento utilizado para a fixação, visando estudos histológicos posteriores.

5.1.4 Parâmetros avaliados

5.1.4.1 Consumo alimentar

No período de 24 horas subseqüentes à administração do paracetamol, foi feito o controle da ingestão dietética, considerando a diferença entre a oferta e o resto

alimentar. A partir do consumo total do grupo de cinco animais, foi obtida a estimativa do consumo individual.

5.1.4.2 Parâmetros bioquímicos

No soro - uréia, creatinina, proteínas totais, albumina, globulinas e alanina aminotransferase-ALT foram determinadas utilizando-se *kits* comerciais disponíveis (Bioclin®).

No fígado: Malondialdeído nos homogenados de fígado - Fragmentos de 1,0 grama de cada um dos tecidos foram homogeneizados em homogeneizador (Quimis), utilizando-se 10 mililitros de tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4. O homogenado foi centrifugado a 1.000 g, por 15 minutos, e o sobrenadante foi utilizado imediatamente para o ensaio do TBARS. Tubos contendo alíquotas de 1,0 mililitro do homogenado e 2,0 mililitros do reagente TBARS foram agitados e submetidos à temperatura de 90 °C (banho-maria) por 15 minutos. A seguir, o material foi resfriado e centrifugado a 1.000 g, por 10 minutos. O sobrenadante foi submetido à leitura de absorvância em 535 nm, contra branco, o qual continha todos os reagentes (exceto a amostra).

Os resultados foram expressos em nmoles de malondialdeído por miligrama de proteína. A concentração protéica nos homogenados de fígado e de rim foi estimada pelo método de Lowry et al. (1951), utilizando-se soroalbumina bovina como padrão. As leituras foram realizadas em 700 nm, em espectrofotômetro Shimadzu UV-VIS (Kyoto, Japan).

5.1.5 Estatística

Foi utilizado o software SigmaStat, versão 2.03, para análise descritiva dos dados e para os testes de comparação de grupos independentes. Utilizou-se análise não-paramétrica para variáveis que não apresentaram distribuição normal e análise paramétrica para variáveis que mostraram distribuição normal. Para testar as diferenças entre grupos, foram utilizados os testes de Tukey e Kruskal-Wallis, considerando o nível de significância de 5%.

5.2 Resultados e discussão

5.2.1 Consumo alimentar, peso dos animais e efeitos do paracetamol e da suplementação de manga sobre o consumo alimentar e os parâmetros bioquímicos séricos

Intencionalmente, o peso dos animais não diferiu estatisticamente (Tabela 11). Quanto ao consumo alimentar, verificaram-se diferenças entre alguns grupos (Tabela 11). O perfil do consumo alimentar está apresentado na Figura 18. Na condição de estresse oxidativo induzido, houve tendência à diminuição do consumo alimentar dos grupos, independentemente do tipo de dieta. Entretanto, a diminuição foi mais acentuada para o grupo suplementado com manga. Pode ser que a interação dos sintomas de intoxicação hepática com o aroma da manga tenha sido a razão de alguma rejeição pela dieta suplementada. Na condição sem estresse, o consumo alimentar entre os grupos que receberam a dieta-controle e que consumiram a dieta suplementada foi muito próximo.

Tabela 11 - Peso corporal, consumo alimentar e parâmetros bioquímicos séricos dos grupos de animais

	Controle		Manga a 3%	
	Sem estresse	Com estresse	Sem estresse	Com estresse
Peso corporal (g)	129,82 ± 14,09 ^a	133,99 ± 18,75 ^a	127,70 ± 9,42 ^a	137,84 ± 21,22 ^a
Consumo ⁽¹⁾ (g kg ⁻¹ de peso)	27,50 (20,28)	21,22 (15,65)	28,42 (22,07)	17,69 (13,74)
Uréia (mg dL ⁻¹)	54,70 ± 8,78 ^a	51,00 ± 3,23 ^a	51,50 ± 6,29 ^a	53,57 ± 8,52 ^a
Creatinina (mg dL ⁻¹)	0,41 ± 0,032 ^a	0,44 ± 0,07 ^a	0,43 ± 0,05 ^a	0,41 ± 0,06 ^a
Proteínas totais (g dL ⁻¹)	5,39 ± 0,17 ^a	5,20 ± 0,49 ^a	5,29 ± 0,57 ^a	5,07 ± 0,75 ^a
Albumina (g dL ⁻¹)	2,45 ± 0,23 ^a	2,36 ± 0,31 ^a	2,39 ± 0,22 ^a	2,34 ± 0,21 ^a
Globulina (g dL ⁻¹)	2,94 ± 0,26 ^a	2,92 ± 0,36 ^a	2,90 ± 0,39 ^a	2,74 ± 0,58 ^a
ALT (U mL ⁻¹)	26,10 ± 2,96 ^a	46,10 ± 7,72 ^b	24,5 ± 2,17 ^a	36,80 ± 7,81 ^c

Os valores são médias ± desvio-padrão (n=10). Médias seguidas em linha por diferentes letras diferem estatisticamente (teste de Tukey a 5%).

Parâmetros bioquímicos séricos determinados *ex vivo*, de amostras obtidas durante o sacrifício.

⁽¹⁾ Consumo registrado nas 24 horas subsequentes à exposição ao paracetamol e baseado no peso úmido da ração. Entre parênteses, consumo corrigido para peso seco considerando a umidade de 22,34% para a dieta suplementada e de 26,24% para a dieta-controle.

Não houve diferença estatisticamente significativa nos parâmetros séricos uréia, creatinina, proteínas totais, albumina e globulina (Tabela 11) entre os quatro grupos de animais. Esse resultado era esperado, por duas razões: primeiramente, o nível

de suplementação com antioxidantes é compatível com quantidades usualmente consumidas, o que não causaria rompimento da homeostase sérica; e, segundo, as proteínas avaliadas apresentam vida média superior a 24 horas e, conseqüentemente, os seus níveis circulantes não responderiam a um estímulo agudo; e a uréia e a creatinina são metabólitos excretados (FIDANZA, 1991).

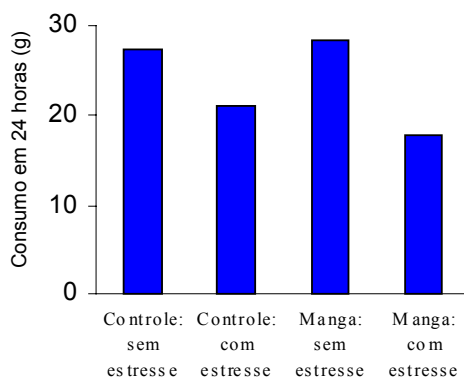


Figura 18 - Consumo alimentar médio dos animais no período de 24 horas subsequentes à administração do paracetamol.

A alanina aminotransferase sérica foi utilizada como um marcador bioquímico de injúria hepática, uma vez que lesões hepáticas resultam no extravasamento de transaminases para o compartimento sérico, indicando a desestabilização da membrana do hepatócito (ARNAIZ et al., 1995). Os grupos com estresse oxidativo induzido apresentaram alanina aminotransferase sérica estatisticamente mais elevada do que os grupos não-estressados (Tabela 11). O aumento foi de 77% para os grupos que receberam dieta-controle e 50% para aqueles que receberam dieta suplementada com manga. O perfil dos efeitos do estresse e da suplementação da manga sobre a ALT sérica está apresentado na Figura 19.

Na ausência do estresse oxidativo, não houve diferença no parâmetro entre os grupos de animais com dieta-controle e dieta suplementada com manga ($p = 0,089$). Na presença do estresse, o grupo de animais que consumiu dieta suplementada com manga apresentou ALT estatisticamente menor do que o grupo que recebeu dieta-controle ($p = 0,034$). Isso mostra que a manga protegeu o fígado de injúrias causadas pela administração do paracetamol. Contudo, a hepatoproteção da manga não foi total, pois o grupo submetido ao estresse oxidativo que consumiu manga apresentou ALT sérica estatisticamente mais elevada do que o grupo não-estressado com dieta-controle ($p = 0,011$), mostrando que o valor do parâmetro continuou mais elevado do que o nível fisiológico.

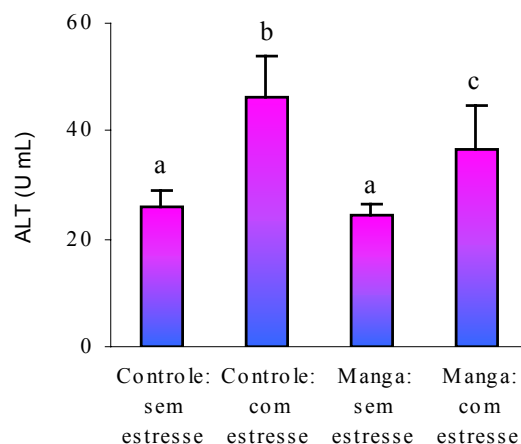


Figura 19 - Efeitos da administração de paracetamol e da suplementação da dieta com manga a 3% sobre a alanina aminotransferase sérica dos grupos de animais.

Os resultados são concordantes com outros estudos que também verificaram aumento de ALT sérica em animais expostos ao paracetamol (AMIMOTO et al., 1995; ARNAIZ et al., 1995).

5.2.2 Efeitos do paracetamol e da suplementação da dieta com manga sobre os níveis de malondialdeído nos homogenados de fígado

Os níveis de malondialdeído observados neste trabalho para os grupos com dieta-controle e não-expostos ao paracetamol (Figura 20) são similares aos descritos na literatura para homogenados de fígado de ratos, consumindo dieta com óleo de milho (AZZALIS et al., 1995).

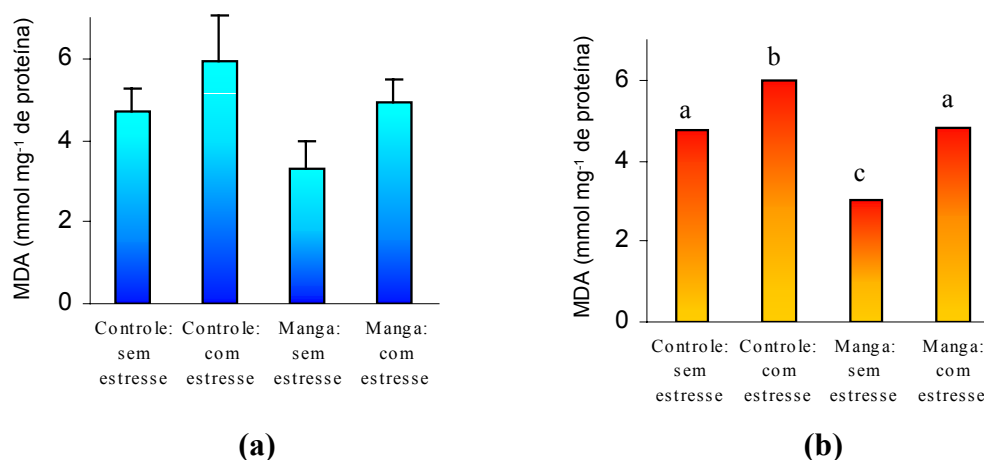


Figura 20 - Níveis de malondialdeído no homogenado de fígado dos grupos de animais (controles e suplementados com manga a 10%) na ausência e na presença do estresse oxidativo agudo induzido por paracetamol. Valores das médias (a) e das medianas (b).

A Figura 20 mostra o perfil dos efeitos do paracetamol e da manga sobre o MDA nos homogenizados de fígado. O grupo-controle exposto ao paracetamol apresentou MDA estatisticamente mais elevado do que o grupo-controle não exposto ($p = 0,004$), sendo o aumento de aproximadamente 27%. Isso mostra que houve indução do estresse oxidativo nos animais.

O grupo estressado que recebeu dieta suplementada com manga apresentou a mediana de MDA estatisticamente menor que a do grupo estressado que consumiu dieta-controle ($p = 0,022$), sendo a redução de aproximadamente 17%. Isso mostra que a manga protegeu o tecido hepático contra a peroxidação de lipídio induzida pelo paracetamol. Esse resultado comprova o potencial antioxidante no meio biológico da polpa de manga da variedade Ubá, nas condições de teste.

A mediana de MDA do grupo submetido ao estresse oxidativo que consumiu dieta suplementada com manga não diferiu estatisticamente daquela do grupo não-estressado que consumiu dieta-controle ($p = 0,921$). Isso mostra que na presença da manga a condição de peroxidação retornou ao valor fisiológico e significa que a quantidade de manga suplementada protegeu totalmente o órgão contra a lesão oxidativa sobre os lipídios.

Na ausência do estresse oxidativo induzido, verificou-se que o grupo de animais que consumiu dieta suplementada com manga também apresentou mediana de MDA estatisticamente menor que a do grupo que consumiu dieta-controle ($p = 0,002$). Dessa forma, o potencial antioxidante da polpa da manga Ubá sobre a peroxidação de lipídio em nível hepático pode ser visualizado e mensurado, mesmo na ausência de estresse oxidativo induzido.

A suplementação de manga utilizada neste estudo equivale ao consumo de aproximadamente 261 g de polpa de manga ou quatro unidades médias de manga Ubá. Essa quantidade equivale a um nível de consumo comum para indivíduos adultos.

Este estudo mostrou que a suplementação da dieta com polpa de manga da variedade Ubá em concentrações mais baixas do que a utilizada no experimento 1 resulta no efeito antioxidante sobre a peroxidação de lipídio. De fato, teste de potencial antioxidante *in vivo*, utilizando-se megadoses, contraria o próprio conceito de antioxidante biológico, o qual estabelece a definição: “uma substância que, quando presente **em baixas concentrações**, comparado à concentração do substrato oxidável, diminui significativamente ou impede a oxidação daquele substrato” (HALLIWELL; GUTERIDGE, 1995).

5.3 Conclusões

De acordo com os resultados, chegou-se às seguintes conclusões:

- A suplementação da ração formulada - AIN com polpa de manga a 3%, ingerida por ratos *wistar*, apresentou efeito antioxidante no fígado, na ausência e na presença de estresse oxidativo agudo induzido por paracetamol, reduzindo o marcador de peroxidação de lipídio, avaliado pelo Teste das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico.
- A ingestão da polpa de manga ofereceu hepatoproteção contra a injúria induzida por paracetamol, avaliada pelo marcador bioquímico: alanina aminotransferase sérica.
- É provável que os estudos de mensuração do potencial antioxidante *in vivo* tenham que ser realizados utilizando-se concentrações baixas de antioxidantes e que a estratégia de elevação da concentração destes para maximizar os eventos biológicos relacionados à oxidação-redução não seja correta.

6 REFERÊNCIAS

ACTIS-GORETTA, L.; CARRASQUEDO, F.; FRAGA, C. G. The regular supplementation with an antioxidant mixture decreases oxidative stress in healthy humans. Gender effect. **Clinica Chimica Acta**, v. 349, p. 97-103, 2004.

ALESSIO, H. M.; HAGERMAN, A. E.; ROMANELLO, M.; CARANDO, S.; THRELKELD, M. S.; ROGERS, J. DIMITROVA, Y.; MUHAMMED, S.; WILEY, R. L. Consumption of green tea protects rats from exercise-induced oxidative stress in kidney and liver. **Nutrition Research**, v. 22, p. 1177-1188, 2002.

AMIMOTO, T.; MATSURA, T.; KOYAMA, S.; NAKANISHI, T.; YAMADA, K.; KAJIYAMA, G. Acetaminophen-induced hepatic injury in mice: the role of lipid peroxidation and effects of pretreatment with coenzyme Q10 and α -tocopherol. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 19, p. 169-176, 1995.

ARANIZ, S. L.; LLESUY, S.; CUTRIN, J.; BOVERIS, A. Oxidative stress by acute acetaminophen administration in mouse liver. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 19, p. 303-310, 1995.

AZZALIA, L.A.; JUNQUEIRA, V. B. C.; SIMON, K.; GIAVAROTTI, L.; SILVA, M. A. KOGAKE, M.; SIMIZU, K.; BARROS, S.M.; FRAGA, C.; PORTA, E.A. Prooxidant and antioxidant hepatic factors in rats chronically fed and treated with an acute dose of lindane. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 19, p. 147-159, 1995.

AUGER, C.; ROUANET, J-M.; VANDERLINDE, R.; BORNET, A.; DÉCORDÉ, K.; LEQUEUX, N.; CRISTOL, J-P.; TEISSEDRE, P-L. Polyphenols-enriched chardonnay white wine and sparkling pinot noir red wine identically prevent early atherosclerosis in hamsters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 9823-9829, 2005.

AWAD, H. M. **Studies on the pro-oxidant chemistry of flavonoids**. 2002. Thesis (Ph.D.) – Wageningen University, Dutch, 2002.

AZZALIS, L. A.; JUNQUEIRA, V. B. C.; SIMON, K.; GIAVAROTTI, L.; SILVA, M. A.; KOGAKE, M.; SIMIZU, K.; BARROS, S. B. M.; FRAGA, C.; PORTA, E. A. Prooxidant and antioxidant hepatic factors in rats chronically fed on ethanol regimen and treated with an acute dose of lindane. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 19, p. 147-159, 1995.

BAGCHI, D.; HASSOUM, E. A.; BAGCHI, M.; STOHS, S. J. Protective effects of antioxidants against endrin-induced hepatic lipid peroxidation, DNA damage, and excretion of urinary lipid metabolites. **Free Radical in Biology and Medicine**, v. 15, p. 217-222, 1993.

BRAY, T. M. Dietary antioxidants and assessment of oxidative stress. **Nutrition**, v. 16, p. 578-581, 2000.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. In: FELISHER, S.; PACKER, L. (Eds.). **Methods in Enzymology**. San diego: Academic Press, 1978. v. 52 (Biomembranes, Part C).

BURTON, G. W.; INGOLD, K. U. Vitamin E as an vitro and in vivo antioxidant. **Annual New York Academic Science**, v. 570, p. 7-22, 1989.

BUTTKE, T. M.; SANDSTROM, P. A. Oxidative stress as a mediator of apoptose. **Immunol. Today**, v. 15, p. 7-10, 1994.

CHUI, P. Y.; TANG, M. H.; MAK, D. H. F.; POON, M. K. T.; KO, K. M. Hepatoprotective mechanism of schisandrin B: role of mitochondrial glutathione antioxidant status and heat shock protein. **Free Radical biology and Medicine**, v. 35, p. 368-380, 2003.

CREMONESE, R. V.; PEREIRA-FILHO, A. A.; MAGALHÃES, R.; MATTOS, A.; MARRONI, C. A.; ZETLER, C. G.; MARRONE, N. P. Cirrose experimental induzida pela inalação de tetracloreto de carbono: adaptação da técnica e avaliação de peroxidação lipídica. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 38, p. 40-47, 2001.

FLATT, W. P. Animals needs and use (comparative nutrition). In: BERDANIER, C. D. (Eds.). **Handbook of nutrition and food**. Washington: CRC Press, 2002. (Editorial Board)

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 35-3604, 2000.

GRIFFITHS, H. R.; MOLLER, L.; BARTOSZ, G.; BAST, A.; FREDDARI-BERTONI, C.; COLLINS, A.; COOKE, M.; COOLEN, S.; HAENEN, G.; HOBERG, A.; LOFT, S.; LUNEC, J.; OLINSKI, R.; PARRY, J. POMPELLA, A.; POULSEN, H.; VERHAGEN, H.; ASTLEY, S. B. Biomarkers. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 23, p. 101-108, 2002.

GUO, Z.; HIGUCHI, K.; MORI, M. Spontaneous hypomorphic mutations in antioxidant enzymes of mice. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 35, n. 12, p. 1645-1652, 2003.

HALLIWELL, B. Antioxidant defense mechanisms: From the beginning the end (of the beginning). **Free Radical Research**, v. 31, p. 261-272, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. The definition and measurement of antioxidant in Biological Systems. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 18, p. 125-26, 1995.

HICKEY, E. J.; RAJE, V. E.; GROSS, S. M.; RAY, S. D. Diclofenac induced in vivo nephrotoxicity may involve oxidative stress-mediated massive genomic DNA fragmentation and apoptotic cell death. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, p. 139-152, 2001.

HJELLE, J. J.; PETERSEN, D. R. Metabolism of malondialdehyde by rat liver aldehyde dehydrogenase. **Toxicology Applied in Pharmacology**, v. 70, p.57-66, 1983.

HJELLE, J. T.; PETERSEN, D. R.; HJELLE, J. J. Drug metabolism in isolated proximal tubule cells: aldehyde dehydrogenase. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapy**, v. 224, p. 699-706, 1983.

HOOPER, D. C.; SPITSIN, S.; KEAN, R. B.; CAMPION, J. M.; DICKSON, G. M.; CHAUDHRY, I.; KOPROWSKI, H. Uric acid, a natural scavenger of peroxynitrite, in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. **Proceedings of National Academic of Science USA**, v. 95, p. 675-680, 1998.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4.ed. Editora MS: Brasília, 2005.

INSTITUTE OF MEDICINE – IOM. **Dietary reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, selenium, and carotenoids**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000. 506 p.

INSTITUTE OF MEDICINE – IOM. **Dietary reference intakes for Vitamin A, Vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc**. Washington, D.C: National Academy Press, 2001. 769 p.

INSTITUTE OF MEDICINE – IOM, 1998. **Dietary reference intakes: proposed definition and plan for review of dietary antioxidants and related compounds**. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, 1998. Available in: <<http://www.nap.edu/catalog/6252.html>>. Accessed in: 19/06/2006.

JODYNIS-LIEBERT, J.; MATLAWSKA, I.; BYLKA, W.; MURIAS, M. Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) on APAP-induced oxidative stress in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 351-358, 2005.

JOSHI, M. S.; PONTHER, J. L.; LANCASTER, J. R. Cellular antioxidant and pro-oxidant actions of nitric oxide. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 27, p. 1357-1366, 1999.

KANT, A. K.; SCHATZKIN, A.; GRAUBARD, B. I.; SCHAIRER, C. A. A prospective study of diet quality and mortality in women. **JAMA**, v. 283, p. 2109-2115, 2000.

KARBOWSKI, M.; KURONO, C.; NISHIZAWA, Y.; SOJI, T.; WAKABAYASHI, T. Induction of megamitochondria by some chemicals inducing oxidative stress in primary cultured rat hepatocytes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1349, p. 242-250, 1997.

LONG, L. H.; HALLIWEL, B. Antioxidant and prooxidant abilities of foods and beverages. **Methods in Enzymology**, v. 335, p.181-190, 2001.

LOTITO, S. B.; FREI, B. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 36, p.201-11, 2004a.

LOTITO, S, FREI, B. The increase in human plasma antioxidant capacity after apple consumption is due to the metabolic effect of fructose on urate, not apple-derived antioxidant flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, p. 251-58, 2004b.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. C. et al. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p: 265- 275, 1951.

LUNEC, J.; HOLLOWAY, K. A.; COOKE, M. S.; FAUX, S.; GRIFFITHS, H. R.; EVANS, M. D. Urinary 8-oxo-2'-deoxyguanosine: redox regulation of DNA repair in vivo? **Free Radical in Biology and Medicine**, v. 33, p. 875-885, 2002.

MICHIELS, C.; RAES, M.; TOUSSAINT, O.; REMACLE, J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu-Sod for cell survival against oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 17, p. 235-248, 1994.

NGUYEN, T.; SHERRATT, P. J.; PICKETT, C. B. Regulatory mechanisms controlling gene expression mediated by antioxidant response element. **Annual Review Pharmacology and Toxicology**, v. 43, p. 233-260, 2003.

NORDBERG, J.; ARNÉR, E. S. J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, p. 1287-1312, 2001.

OFFORD, E.; POPPEL, G.; TYRRELL, R. Markers of oxidative damage and antioxidant protection: current status and relevance to disease. **Free Radical Research**, v. 33, p. S5-S19, 2000. (Supplement)

PAJK, T. P.; REZAR, V.; LEVART, A.; SALOBIR, J. Efficiency of apples, strawberries, and tomatoes for reduction of oxidative stress in pigs as a model for humans. **Nutrition**, v. 22, p. 376-384, 2006.

PALOZZA, P.; SERINI, S.; NICUOLO, F.; PICCIONI, E.; CALVIELLO, G. Prooxidant effects of β -carotene in cultured cells. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, p. 353-362, 2003.

PELÚZIO, M. C. G.; MIGUEL, E.; DRUMOND, T. C.; CÉSAR, G. C.; SANTIAGO, H. C.; TEIXEIRA, M. M.; VIEIRA, E. C.; ARANTES, R. EM. E.; ALVAREZ-LEITE, J. I. Monocyte chemoattractant protein-involvement in the α -tocopherol-induced reduction of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. **The British Journal of Nutrition**, v. 90, p. 3-11, 2003.

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

RECORD, I. R.; DREOSTI, E. E.; McINERNEY, J. K. Changes in plasma antioxidant status following consumption of diets high or low in fruit and vegetables or following dietary supplementation with and antioxidant mixture. **The British Journal of Nutrition**, v. 85, p. 459-464, 2001.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **American Institute of Nutrition**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

SCOTT, G. S.; HOOPER, D. C. The role of uric acid in protection against peroxynitrite-mediated pathology. **Medical Hypotheses**, v. 56, p. 95-100, 2001.

SEN, C. K.; PACKER, L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. **FASEB Journal**, v. 10, p. 709-720, 1996.

SIDHARTHA, D. R.; MUMAW, V. R.; RAJE, R. R.; FARISS, M. W. Protection of acetaminophen-induced hepatocellular apoptosis and necrosis by cholesteryl hemisuccinate pretreatment. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 279, p. 1470-1483, 1996.

SIES, H. **Oxidative stress**. London: Academic, 1985. 507 p.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteau reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999. (Parte A).

SUN, F.; HAMAGAWA, E.; TSUTSUI, C.; ONO, Y.; OGIRI, Y.; KOJO, S. Evaluation of oxidative stress during apoptosis and necrosis caused by carbonyl tetrachloride in rat liver. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1535, p. 186-191, 2001.

TANG, W.; STEARNS, R. A.; WANG, R. W.; CHUI, S. H.; BAILLIE, T. A. Roles of human hepatic cytochrome P450s 2C9 and 3A4 in the metabolic activation of diclofenac. **Chemical Research in Toxicology**, v. 12, p. 192-199, 1999.

TSAI, C. F.; LII, C. K.; YANG, J. J.; LIU, K.; LIN, W. L.; CHEN, H. W. Prostaglandin E2 is involved in the increase of cytochrome P-450 2B1 expression by alpha-tocopheryl succinate in primary rat hepatocytes in the presence of phenobarbital. **Nutrition and Cancer**, v. 41, p.188-195, 2001.

VINSON, J. A.; PROCH, J.; BOSE, P. Determination of quantity and quality of polyphenol antioxidants in foods and beverages. **Methods in Enzymology**, v. 335, p. 102-114, 2001.

WEINBERG, R. B.; WERKEN, B. S. V.; ANDERSON, R. A.; STEGNER, J. E.; THOMAS, M. J. Pro-oxidant effect of vitamin E in cigarette smokers consuming a high polyunsaturated fat diet. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 21, p. 1029-1033, 2001.

YOUNG, J. F.; DRAGSTED, L. O.; HARALDSDÓTTIR, J.; DANESHVAR, B.; KALL, M. A.; LOFT, S.; NILSSON, L.; NIELSEN, S. E.; MAYER, B.; SKIBSTED, L. H.; HUYNH-BA, T.; HERMETTER, A.; SANDSTRÖM, B. Green Tea extract only affects markers of oxidative status postprandially: lasting antioxidant effect of flavonoid-free diet. **The British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 343-355, 2002.

ZAIDI, S. M. K. R.; AL-QIRIM, T. M.; HODA, N.; BANU, N. Modulation of restraint stress induced oxidative changes in rats by antioxidant vitamins. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 14, p. 633-636, 2003.

ZHOU, B.; WU, L.; YANG, L.; LIU, Z. Evidence for α -tocopherol regeneration reaction of green tea polyphenols in SDS micelles. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 38, p. 78-84, 2005.

CAPÍTULO 6

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO DA AGROINDÚSTRIA DA MANGA (*Mangifera indica*, L.), VARIEDADE UBÁ

1 INTRODUÇÃO

O crescente interesse em nutracêuticos e alimentos funcionais tem motivado as pesquisas para identificação e seleção de fontes de antioxidantes naturais (DUTHIE et al., 2000). Os compostos fenólicos constituem um dos maiores grupos de fitoquímicos antioxidantes que exibem várias propriedades fisiológicas; em razão disso, a sua ingestão está associada aos efeitos protetores contra doenças crônico-degenerativas relacionadas ao estresse oxidativo (MANACH et al., 2005).

Recentes investigações têm mostrado a importância dos subprodutos de frutas e vegetais como fontes de uma ampla variedade de compostos fenólicos (PESCHEL et al., 2006; BALASUNDRAM et al., 2005). Os flavonóis (flavan-3-óis) possuem potente propriedade antioxidante (PANNALA et al., 2001; YANG et al., 2001), e estudos mostram que eles apresentam efeitos anticarcinogênicos (PENG et al., 2006; SCALTRINI et al., 2006) e antiaterogênicos (KIM et al., 2006). Dessa forma, os flavonóis são considerados promissores fitoquímicos quimopreventivos. A mangiferina, um polifenol glicosídeo de xantona, tem despertado grande interesse por suas variadas propriedades farmacológicas, incluindo atividades antioxidante (SÁNCHEZ et al., 2000), antidiabética (MIURA et al., 2001), antitumoral e antiviral (GUHA et al., 1996).

Estudos têm apontado o potencial de utilização de cascas de manga (*Mangifera indica*, L.) da variedade Tommy Atkins como fonte de polifenólicos (BERARDINI, et al., 2005), uma vez que ela contém flavonóis, xantonas (SCHIEBER et al., 2003) e antocianina (BERARDINI et al., 2005). A semente também contém compostos com potencial bioativo (BERARDINI et al., 2004).

Diante das considerações anteriores, foi conduzido um estudo exploratório sobre o potencial antioxidante do resíduo agroindustrial da variedade de manga Ubá, a qual é utilizada para a fabricação de suco, néctar e polpa. Por possuir frutos pequenos, com a cor de casca verde-amarelada quando maduros, a manga Ubá não apresenta atributos que atendem às exigências do mercado para o consumo *in natura*. Esta variedade tem sido utilizada na agroindústria com grande sucesso, pois a fruta apresenta excelentes características organolépticas.

A geração de resíduo proveniente de cascas e caroços tem sido um problema para a agroindústria, que busca a implantação de sistemas de produção no contexto do desenvolvimento sustentável. As principais conseqüências ambientais do resíduo são o problema higiênico-sanitário para a agroindústria e o seu deslocamento pelas águas da chuva, causando a poluição de cursos e nascentes de água. Assim, há necessidade urgente de explorar as potencialidades de uso desses resíduos.

O conhecimento do teor de fenólicos totais nos farelos da casca e do caroço é importante, já que esses compostos apresentam estruturas para serem potentes antioxidantes, estão presentes também nas partes comestíveis das frutas e vegetais e, portanto, são ingeridos na dieta humana. Isso avança a possibilidade do uso de tais compostos como antioxidantes naturais na preservação de alimentos e na fabricação de produtos alimentícios com propriedades funcionais (MOURE et al., 2001; DIMITRIOS, 2006; SHUI; LEONG, 2006). Além disso, deve ser destacado o potencial de uso dos compostos naturais como princípio ativo de fármacos e cosméticos e como antioxidantes na preservação de outros materiais, como cosméticos, tintas e outros.

Diante da necessidade de explorar possíveis usos do resíduo do processamento da manga Ubá, conduziu-se um estudo para avaliar o potencial antioxidante da casca, do caroço e da semente, cujos objetivos foram: calcular o rendimento do resíduo; avaliar a composição dos farelos do caroço e da casca quanto aos teores de umidade, proteína, lipídio, carboidrato, cinzas, cálcio, fósforo e fenólicos totais; identificar e quantificar os principais flavonóis e xantonas presentes na casca e na semente; e avaliar a atividade antioxidante nos extratos da casca e do caroço por dois testes *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes

2.2 Coleta e preparo de amostras

O resíduo, constituído de cascas e caroços, foi coletado na agroindústria Tropical Indústria de Alimentos – TIAL, em Visconde do Rio Branco, Minas Gerais. As partes foram separadas manualmente, e o peso úmido de cada uma delas foi registrado. O material foi submetido à secagem em estufa a 65 °C, por 72 horas, e triturado em moinho, obtendo-se os farelos da casca e do caroço. As sementes foram removidas dos caroços, liofilizadas e trituradas. Todo o material foi acondicionado a -20 °C, até as análises.

2.3 Rendimento do resíduo

O percentual das partes do resíduo em relação à massa total do fruto foi avaliado. Para isso, foram utilizadas 20 mangas maduras da variedade Ubá adquiridas no mercado local, sendo obtidas as massas relativas ao fruto inteiro (expressas em gramas) e às partes separadas (expressos em percentual da massa total do fruto).

2.4 Composição química centesimal dos farelos do resíduo

Foram avaliados os teores de umidade, proteínas, lipídios, carboidratos, cinzas e fibras dos farelos obtidos da casca e do caroço, seguindo procedimentos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2005). Para determinação do teor de fenólicos totais dos farelos, foram obtidos extratos hidroalcoólicos, conforme descrito por Bloor (2001). A uma porção do farelo (0,5 grama) foram acrescentados 20 mililitros de uma mistura de metanol: água (60: 40 v/v), a qual foi submetida à agitação a 180 rpm, em temperatura ambiente (20 °C), por 30 minutos. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 1.000 g por 10 minutos. O volume do sobrenadante foi completado para 25,0 mililitros, e uma alíquota do extrato foi utilizada para determinação de fenólicos totais.

O teor de fenólicos totais nos extratos foi estimado utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia descrita por Singleton et al. (1999). A absorvância em 765 nm foi lida em espectrofotômetro Shimadzu UV-VIS

(Kyoto, Japan). Uma curva-padrão de ácido gálico ($R= 0,99985$) foi usada para expressar os resultados em miligramas de Equivalentes de Ácido Gálico (GAE) por 100 gramas de farelo.

2.5 Identificação e quantificação dos glicosídeos de flavonóis e de xantonas na casca e na semente da manga Ubá

2.5.1 Preparo de amostras

A extração e purificação dos glicosídeos de flavonol e de xantona foram feitas como descrito previamente por Schieber et al. (2003). As amostras da casca e do caroço foram trituradas em moinho YellowLine A10 (Ika-Werke, Staufen, Germany) provido de sistema de resfriamento e estocadas em um dessecador até as análises. Alíquotas de 2,5 gramas da casca triturada e seca e 2,5 gramas da semente liofilizada foram pesadas em frasco âmbar. Após a adição de 0,5 grama de ácido ascórbico, o frasco foi pulverizado com nitrogênio e a mistura extraída com 50 mililitros de acetona aquosa (80%, v/v) por três horas, sob agitação. O extrato foi centrifugado a 3.480 g por 10 minutos, e o resíduo extraído com 50 mililitros de acetona aquosa por 10 minutos. Os sobrenadantes foram reunidos e o solvente orgânico foi removido por evaporação em vácuo a 30 °C. A solução aquosa foi transferida para um balão volumétrico e o volume completado para 50,0 mililitros com água deionizada. Após filtração, alíquotas de 20 mililitros foram utilizadas para purificação posterior. Polyamide CC6 (2 g, 0,05-0,16 mm) (Macherey-Nagel, Dueren, Germany) foi utilizada para preparar uma coluna Econo-Pac column (BioRad, Munich, Germany), a qual foi sucessivamente condicionada com 25 mililitros de metanol e 50 mililitros de água deionizada antes da aplicação do extrato. Após a coluna ter sido lavada com água (50 mililitros), a fração de polifenólicos foi recuperada por eluição com metanol (100 mililitros). O eluato foi evaporado e o resíduo dissolvido em 0,5 mililitro de metanol. A solução foi filtrada em membrana (0,45 μm , Whatman Inc., Cliton, United States) e utilizada para análise por CLAE.

2.5.2 Análise por CLAE e CL-EM

A separação dos compostos fenólicos foi feita utilizando-se um sistema Agilent HPLC series 1100 (Agilent, Waldbronn, Germany), equipado com *software*

ChemStation, um degaseificador modelo G1322A, uma bomba de gradiente binário modelo G1312A, um injetor automático modelo G1329/1330A, um forno de coluna modelo G1316A e um detector de arranjos diodo modelo G1315B. A coluna utilizada foi uma C18 Hydroi-Synergy 150 x 3,0-mm i.d., 4- μ m (Phenomenex, Torrance, CA), com diâmetro interno de 4,0 x 2,0-mm e um guarda-coluna C18 ODS, operada em 25 °C. A fase móvel consistiu de ácido acético em água a 2% (v/v) (eluente A) e ácido acético em água a 0,5% e acetonitrila (50: 50, v/v) (eluente B). A programação do gradiente foi a seguinte: 0-25% B (15 min), 25-30% B (35 min), 30-80% B (10 min), 80-100% B (5 min) e 100-0% B (0,5 min). Foi feito monitoramento simultâneo em 320 nm (xantonas) e 370 nm (flavonóis), a uma taxa de fluxo de 0,6 mililitro por minuto. Os espectros foram registrados de 200 a 600 nm (0,2 min de amplitude do pico).

2.5.3 Análises por CL- EM

As análises CL-EM foram feitas com o mesmo sistema descrito anteriormente, conectado a um espectrômetro de massa Bruker (Bremen, Germany) modelo Esquire 3000+ ion trap, adaptado com uma fonte ESI (*eletrospray*). Os espectros dos íons negativos do eluato da coluna foram registrados na faixa de m/z 50- 2000. O nitrogênio foi usado como gás de arraste, a uma taxa de fluxo de 10,0 L/min e a uma pressão de 60,0 *psi*. A temperatura do nebulizador foi de 365 °C. O espectro de dissociação induzido por colisão foi obtido com uma amplitude de fragmentação de 1,2 V (MS/MS) e 1,5 V (MS>2) para flavonóides, 1,2 V (MS/MS) e 1,7 V (MS>2) para xantonas, 1,2 V (MS/MS e MS³) e 1,7 (MS⁴) para xantonas galatos e 1,5 V (MS/MS) para flavonóides agliconas. O hélio foi usado como gás de colisão (1,2 x 10⁻⁵ mbar).

2.6 Atividade antioxidante

2.6.1 Eliminação do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH[•])

A capacidade dos extratos para eliminar os radicais livres DPPH[•] foi avaliada pelo método descrito por Blois (1958). Uma alíquota (100 microlitros) da amostra-teste em cinco concentrações (1.000 ~ 5.000 ppm, grama de farelo/mistura de solvente), foi misturada com solução metanólica de DPPH[•] 0,1 mmol L⁻¹ (5,0 mililitros). Os controles continham todos os reagentes, exceto a amostra. A mistura foi agitada por um minuto e,

após 30 min de incubação em temperatura ambiente (25 °C), a absorvância foi registrada em 517 nm. A porcentagem de inibição foi calculada utilizando-se a equação descrita a seguir. Ácido gálico e BHA foram utilizados para comparação.

$$\textit{Atividade de retirada de radical (\%)} = \{(Abs_{controle} - Abs_{amostra}) / Abs_{controle}\} \times 100$$

2.6.2 Teste do poder redutor (PR)

O poder redutor dos extratos foi avaliado pela redução do ferricianeto a ferrocianeto por compostos doadores de elétrons contidos na amostra, como descrito por Oyaizu (1986). Nesse teste o produto da redução é visualizado através da formação do complexo $(Fe^{3+})_4 [Fe^{2+}(CN^-)_6]_3$ após a adição de íons Fe^{3+} e mensurado por medida de absorvância em λ_{700nm} . A mistura de reação continha 1,0 mililitro do extrato em cinco concentrações (1.000, 2.000, 3.000, 4.000 e 5.000 ppm), 1,0 mililitro de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,6, e 1,5 mL de ferricianeto de potássio (1% m/v em água). A mistura foi incubada a 50 °C por 30 min e a reação foi terminada pela adição de 1,5 mililitros de ácido tricloroacético (10% m/v em água), seguido por centrifugação a 1.000 g por 10 minutos. Dois mililitros da camada superior do sobrenadante foram misturados com 2,0 mililitros de água destilada e 0,5 mililitro de cloreto férrico (0,1% m/v em água), e a absorvância foi lida contra branco, que continha todos os reagentes, exceto a amostra. Valores de absorvância mais elevados indicam maior poder redutor. O ácido gálico e BHA a 100 ppm foram utilizados para comparação.

2.7 Análise estatística

Os testes foram feitos em triplicata. Para a análise estatística foi utilizado o *software* ESTATISTICA, versão 6.0, sendo realizada análise de variância; quando esta foi significativa, os dados qualitativos foram avaliados por teste de média e os dados quantitativos, por regressão. Valores de $p < 0,05\%$ foram considerados significantes e comparáveis quando $p > 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimento do resíduo

O rendimento percentual do resíduo do processamento da manga Ubá foi de 56,62; 23,16; 14,77 e 5,45% para a polpa, casca, caroço e semente, respectivamente

(Tabela 1). O resíduo constituído de caroços e cascas perfaz um total de aproximadamente 43,38%, quando a separação é feita manualmente. Entretanto, no processo de despulpamento feito na agroindústria o volume de resíduo assumido é de aproximadamente 40%. A característica da variedade Ubá é de frutos pequenos, estando a média obtida na amostra selecionada para caracterização dentro da faixa de valores descritos na literatura para a referida variedade, que é de 100 a 150 gramas (RAMOS et al., 2005).

Tabela 1 – Massa dos frutos e rendimento dos resíduos do processamento da manga Ubá

Fruto inteiro (g)			Partes (%)			
Média ± DP	Mediana	Massa (mín.-máx.)	Polpa	Casca	Epicarpo	Semente
119,23 ± 11,44	118,20	95,00 - 137,65	56,62	23,16	14,77	5,45

Os valores são resultados de determinações feitas em 20 unidades de mangas.

3.2 Composição química centesimal dos farelos do resíduo

O principal componente dos farelos é constituído de fibras (Tabela 2), o que era esperado, pois cascas e envoltórios de semente (epicarpo) são tecidos de revestimento, os quais contêm elevado teor de celulose, hemicelulose e lignina; o farelo do caroço apresentou maior teor de fibras. Ambos os farelos contêm baixos teores de lipídios, proteínas, cinzas e minerais. A quantidade de fenóis de aproximadamente 5% no material seco é relevante, considerando que o farelo analisado continha ainda teores de umidade variando de 14,5 % (casca) a 17,0% (caroço) (Tabela 2). A quantidade de fenóis totais estimada na casca (48,95 g kg⁻¹) e no caroço (68,45 g kg⁻¹) é superior à descrita para a casca de maçãs (33,00 g kg⁻¹ de peso seco) (WOLF; LIU, 2003). No entanto, tais comparações devem ser feitas apenas para materiais com mesmo teor de umidade.

Tabela 2 – Composição química dos farelos da casca e do caroço da manga Ubá

	PB ^a	Lipídio	Carboidrato	Umidade	Cinzas	Fibras	Cálcio	Fósforo	FT ^b
	(g 100 g ⁻¹)								
Casca	6,32	3,55	17,70	14,57	2,36	22,54	0,60	0,11	4,89
Caroço	3,87	4,56	24,73	17,13	1,32	47,46	0,30	0,12	6,84

^a Proteína Bruta; e ^b Fenólicos totais expressos como Equivalentes de Ácido Gálico (EAG).

3.3 Identificação e quantificação dos glicosídeos de flavonóis e de xantonas

A separação dos polifenóis extraídos da casca está apresentada na Figura 1. Os dados espectrométricos de massa e UV/vis são mostrados na Tabela 3. Foram inequivocamente identificados: mangiferina, isomangiferina, quercetina 3-*O*-galactosídeo, quercetina 3-*O*-glicosídeo, quercetina 3-*O*-xilósídeo, quercetina 3-*O*-arabinopiranosídeo, quercetina 3-*O*-arabinofuranosídeo, quercetina 3-*O*-ramnosídeo, kaempferol 3-*O*-glicosídeo e quercetina. Os compostos **3** e **4** foram identificados por tentativa como mangiferina galato e isomangiferina galato. Os teores de glicosídeos de flavonol e de xantona nos extratos da casca e da semente estão apresentados na Tabela 4. Verificou-se um perfil característico de monoglicosídeos de quercetina observados em estudos anteriores com mangas (SCHIEBER et al., 2003; BERARDINI et al., 2004), com exceção de que a quercetina 3-*O*-glicosídeo foi o componente predominante, em vez da quercetina 3-*O*-galactosídeo. A casca mostrou um perfil completo de glicosídeos de xantona e de flavonol.

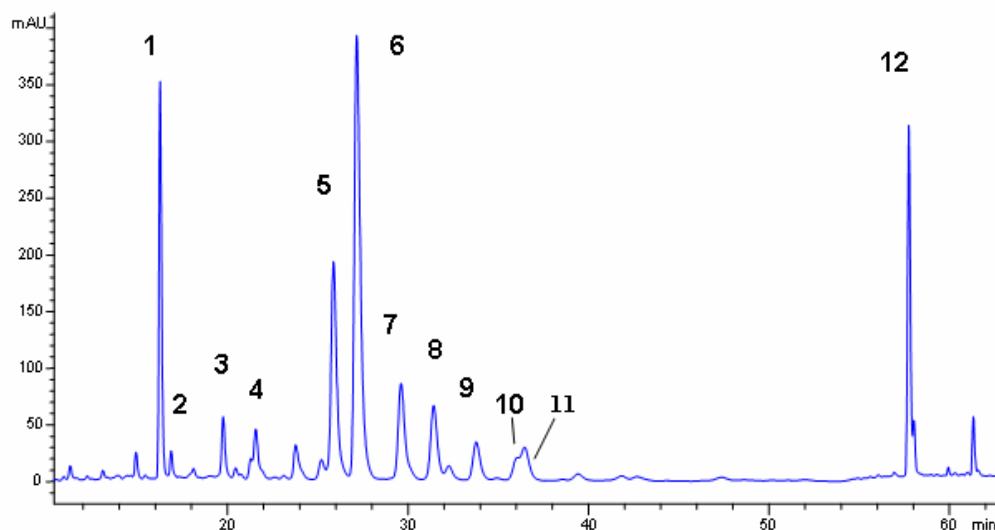


Figura 1 – Separação dos glicosídeos de xantona e de flavonol extraídos da casca de manga (cv. Ubá) por CLAE (370 nm).

A Tabela 3 mostra a caracterização dos picos de separação dos polifenóis extraídos da casca.

Tabela 3 – Espectro UV e íons característicos dos glicosídios de xantona e de flavonol extraídos da casca

Pico	Identidade	HPLC-DAD λ_{\max} [nm]	[M-H] ⁻ m/z	Experimento HPLC-ESI (-)-MS ⁿ m/z (% base peak)
1	Mangiferina	241, 258, 275sh, 318, 366	421	- MS ² [421]: 403 (38), 331 (100), 301 (77)
2	isomangiferina	241sh, 256, 275sh, 317, 365	421	- MS ² [421]: 403 (12), 331 (76), 302 (10), 301 (100)
3	mangiferina galato ^a	241, 258, 275sh, 318, 366	573	- MS ² [573]: 421 (100), 403 (10), 331 (7), 301 (9), - MS ³ [573 → 421]: 403 (25), 331 (83), 301 (100), - MS ⁴ [573 → 421 → 301]: 273 (100)
4	isomangiferina galato ^a	241sh, 256, 275sh, 317, 366	573	ND ^b
5	quercetina 3- <i>O</i> -galactosídeo	232, 256, 266sh, 296sh, 353	463	- MS ² [463]: 301 (100) - MS ³ [463 → 301]: 179 (89), 151 (100)
6	quercetina 3- <i>O</i> -glucosídeo	232, 256, 266sh, 296sh, 353	463	- MS ² [463]: 301 (100) - MS ³ [463 → 301]: 179 (100), 151 (95)
7	quercetina 3- <i>O</i> -xilósídeo	232, 256, 266sh, 296sh, 354	433	- MS ² [433]: 301 (100) - MS ³ [433 → 301]: 179 (100), 151 (81)
8	quercetina 3- <i>O</i> -arabinopiranosídeo	231, 256, 266sh, 296sh, 354	433	- MS ² [433]: 301 (100) - MS ³ [433 → 301]: 179 (100), 151 (62)
9	quercetina 3- <i>O</i> -arabinofuranosídeo	230, 256, 266sh, 296sh, 354	433	- MS ² [433]: 301 (100) - MS ³ [433 → 301]: 179 (100), 151 (81)
10	quercetina 3- <i>O</i> -ramnosídeo	231, 256, 350	447	- MS ² [447]: 301 (100) - MS ³ [447 → 301]: 179 (100),
11	kaempferol 3- <i>O</i> -ramnosídeo	232, 265, 347	447	- MS ² [447]: 447 (26), 285 (60), 284 (46), 255 (8) - MS ³ [447 → 285]: 257 (22), 256 (100), 241 (16) - MS ³ [447 → 284]: 255 (100)
12	Quercetina	230, 255, 266sh, 371	301	- MS ² [301]: 179 (100), 151 (73)

^a Identificados por tentativa. ^b ND, não detectado.

Tabela 4 – Teores (mg por kg de material seco) de glicosídios de flavonol e de xantonas na casca e semente da manga Ubá

Variedade	Casca	Semente
Mangiferina	199,2 ± 5,3	46,5 ± 4,7
Isomangiferina ^a	16,4 ± 2,9	ND
Mangiferina-galato ^b	28,0 ± 1,0	ND
Isomangiferina –galato ^b	26,9 ± 0,7	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -gal	151,4 ± 12,3	ND
qQuercetina 3- <i>O</i> -glc	369,8 ± 25,6	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -xyl ^c	84,4 ± 6,2	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -arap ^c	64,8 ± 5,3	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -araf ^c	35,0 ± 2,5	ND
Quercetina 3- <i>O</i> -rha ^c	15,8 ± 1,2	ND
Kaempferol 3- <i>O</i> -glc ^c	35,3 ± 2,7	ND
Quercetina	64,1 ± 1,6	ND
Total	1091,1 ± 67,3	46,5 ± 4,7

^a Quantificado como mangiferina. ^b Quantificado como mangiferina (incluindo o fator de correção da massa molecular. ^c Quantificado como quercetina 3-*O*-galactosídeo (incluindo o fator de correção da massa molecular. ^d ND, não detectado.

3.4 Atividade antioxidante

3.4.1 Teste do DPPH

Verificou-se que a capacidade de eliminação do radical DPPH dos extratos da casca e do caroço foi dose-dependente na faixa de concentração utilizada no estudo (1.000 a 5.000 ppm) (Figura 2). O extrato da casca, em concentrações ≥ 2.000 ppm, apresentou *scores* estatisticamente mais elevados do que o extrato do caroço (Tabela 5). A atividade de retirada de radical dos extratos foi superior ao BHA (em todas as concentrações testadas). Nas concentrações de 1.000 ppm, ambos os extratos apresentaram atividade ARR comparável à do ácido gálico a 100 ppm ($p > 0,05$).

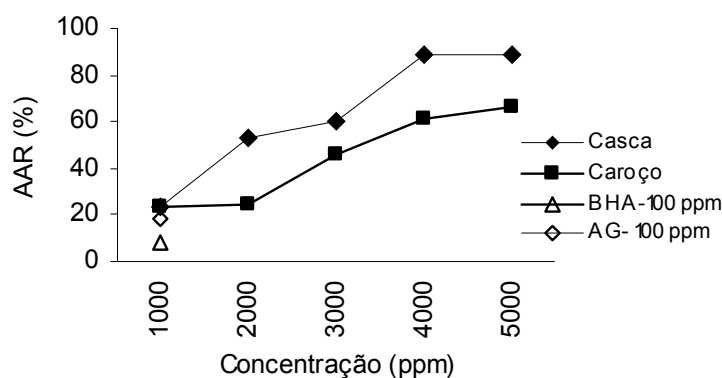


Figura 2 – Atividade de retirada (ARR) de radical dos extratos da casca e do caroço da manga Ubá em cinco concentrações e comparação com os padrões de antioxidantes.

3.4.2 Teste do Poder Redutor (PR)

Os extratos dos farelos da casca e do caroço apresentaram poder redutor crescente até a concentração de 4.000 ppm (Figura 3). Com exceção da concentração de 2.000 ppm, na qual ambos os extratos mostraram *scores* comparáveis de PR, nas demais concentrações o extrato do caroço apresentou maior PR que o da casca (Tabela 5). Em todas as concentrações testadas, ambos os extratos apresentaram PR estatisticamente mais elevado do que o BHA a 100 ppm. Em comparação com o ácido gálico, o extrato do caroço também mostrou valores superiores nas cinco concentrações avaliadas. O extrato da casca exibiu PR estatisticamente mais elevado que o referido

padrão em concentrações ≥ 2.000 ppm; na concentração de 1.000 ppm o extrato apresentou PR comparável ao do ácido gálico.

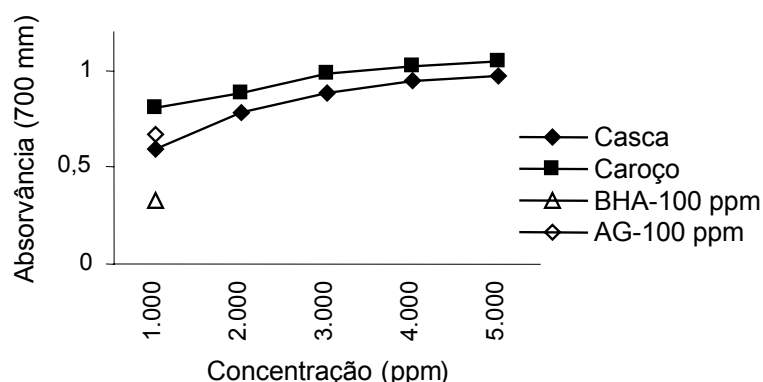


Figura 3 – Atividade de retirada de radical dos extratos da casca e do caroço da manga Ubá em cinco concentrações e comparação com os padrões de antioxidantes.

Tabela 5 – Atividade de retirada de radical (ARR) e poder redutor (PR) dos extratos da casca e do caroço em cinco concentrações

Concentração (ppm)	Amostra	ARR (%)	PR
1.000	Casca	22,98 ^{n.s}	0,60*
	Caroço	23,96 ^{n.s}	0,81*
2.000	Casca	53,31*	0,79 ^{n.s}
	Caroço	24,19*	0,88 ^{n.s}
3.000	Casca	60,29*	0,88*
	Caroço	45,74*	0,99*
4.000	Casca	88,95*	0,95*
	Caroço	60,72*	1,02*
5.000	Casca	89,09*	0,97*
	Caroço	67,65*	1,05*
100	Ácido gálico	18,78	0,63
100	BHA	7,70	0,33

Em cada concentração, * equivale a diferenças estatisticamente significantes pelo teste F ($p < 0,05$).

4 DISCUSSÃO

Para identificação e quantificação dos flavonóis e das xantonas foram utilizadas a casca e a semente, desprezando-se o envoltório da semente, uma vez que, pela sua característica fibrosa, o material é constituído predominantemente por polímeros de celulose e lignina. A casca da variedade Ubá mostrou ser uma fonte de

mangiferina e de quercetina, na forma de aglicona e de glicosídeos. O farelo da casca com umidade de 14,57% contém 270 e 785 miligramas por quilo de farelo de mangiferina e de quercetina, respectivamente. Apresenta ainda kaempferol, em menor concentração (35,3 mg kg⁻¹), o que pode potencializar a propriedade antioxidante do extrato por mecanismos sinérgicos. Os teores de mangiferina e de quercetina do farelo da casca da manga Ubá estão na faixa descrita para a casca liofilizada de outras 14 variedades de mangas provenientes de várias regiões do mundo, variando de 18 a 1.428 e de 180 a 2.748 miligramas por quilo, respectivamente (BERARDINI et al., 2005). Contudo, a variedade Ubá apresentou maior teor de quercetina na forma de aglicona. A semente liofilizada contém mangiferina na quantidade de 46,5 miligramas por quilo, não sendo detectada a presença de flavonóis. A presença de mangiferina e de flavonóis no material analisado justifica pesquisas futuras para se avaliar a viabilidade econômica do uso de extratos obtidos dos resíduos ou da obtenção de bioativos isolados para usos diversos. Ainda que os subprodutos de algumas cultivares de mangas não apresentem os mais elevados teores de compostos bioativos, o fato de elas serem utilizadas na agroindústria é o que justifica a exploração do seu potencial de uso, em razão do volume de resíduo produzido. Já no tocante às variedades utilizadas para consumo *in natura*, mesmo que sejam mais ricas em tais compostos, seria mais difícil viabilizar o aproveitamento de subprodutos, uma vez que a geração de resíduos ocorre em nível doméstico.

Os extratos dos farelos apresentaram atividade antioxidante em ambos os testes. Em algumas concentrações, os resultados dos testes foram superiores aos do BHA e do ácido gálico a 100 ppm, que é a concentração usada para adição de BHA e BHT pela indústria para preservação de alimentos (ARAÚJO, 2001). A presença de flavonóis e de xantonas no material analisado contribui parcialmente para os resultados nos testes antioxidantes. Outros compostos não identificados estão presentes nos extratos e influenciam positivamente o resultado em ambos os testes. Apesar de os extratos terem se apresentado como potentes antioxidantes nos testes *in vitro*, são necessários estudos para avaliar a sua eficácia no meio biológico e na preservação de alimentos, cosméticos e outros materiais. Sabe-se que os sistemas onde eles agem influenciam o seu potencial antioxidante (MOURE et al., 2001).

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi demonstrado que o resíduo da agroindústria da manga (variedade Ubá), constituído de casca e caroço, é fonte de antioxidantes. Os subprodutos contêm compostos fenólicos, sendo identificados e quantificados flavonóis e xantonas na forma de glicosídeos e agliconas, os quais são comprovadamente compostos bioativos. Esses resultados justificam estudos futuros relacionados à extração, à viabilidade econômica e ao potencial de toxicidade para se prosseguirem pesquisas sobre a aplicação prática de compostos funcionais.

6 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos**; teoria e prática. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203, 2005.

BERARDINI N.; KNÖDLER, M.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, p. 443-453, 2005.

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 in Mass Spectrometry**, v. 18, 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. **Z. Naturforsch.**, v. 60b, p. 801-804, 2005.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BLOOR, S. Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. **Methods Enzymology**, v. 335, p. 3-14, 2001.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolic antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 505-512, 2006.

DUTHIE, G. G.; DUTHIE, S. J.; KYLE, J. A. M. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. **Nutrition Research Reviews**, v. 13, p. 79-106, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4.ed. Brasília: MS, 2005.

GUHA, S.; GHOISAL, S.; CHATTOPADHYAY, U. Antitumor, immunomodulatory and anti-HIV effect of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone. **Chemotherapy**, v. 42, p. 443-451, 1996.

KIM, J. D.; LIU, L.; GUO, W.; MEYDANI, M. Chemical structure of flavonols in relation to modulation of angiogenesis and immune-endothelial cell adhesion. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, p. 165-176, 2006.

MANACH, C.; WILLIAMSON, G.; MORAND, C.; SCALBERT, A.; RÉMÉSY, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans I. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 230S-242S, 2005. (Suppl.)

MIURA, T.; ICHIKI, H.; HASHIMOTO, I.; IWAMOTO, N.; KATO, M.; KUBO, M.; ISHIHARA, E.; KOMATSU, Y.; OKADA, M.; ISHIDA, T.; TANIGAWA, K. Antidiabetic activity of a xanthone compound, mangiferin. **Phytomedicine**, v. 8, p. 85-87, 2001.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, S.; DOMINGUEZ, M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.

OYAIZU, M. Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine. **Eiyogaku Zasshi**, v. 44, p. 307-315, 1986.

PANNALA, A. S.; CHAN, T. S.; O'BRIEN, P. J.; RICE-EVANS, C. A. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 282, p. 1161-1168, 2001.

PENG, G.; DIXON, D. A.; MUGA, S. J.; SMITH, T. J.; WARGOVICH, M. J. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits cyclooxygenase-2-expression in colon carcinogenesis. **Molecular Carcinogenesis**, v. 45, p. 309-319, 2006.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESHER, A.; GARTZIA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetables and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, p. 137-150, 2006.

RAMOS, A. M.; D'ARAÚJO COUTO, F. A.; REZENDE, P. M.; LELIS, F. M. V.; BENEVIDES, S. D.; PEREZ, R. **Manga Ubá**. Boas práticas agrícolas para produção destinada à agroindústria. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 9-10.

SÁNCHEZ, G. M.; RE, L.; GIULIANI, A.; NÚÑEZ-SELLES, A. J.; DAVISON, G. P. LEÓN-FERNANDES, O. S. Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA-induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice. **Pharmacology Research**, v. 42, p. 565-573, 2000.

SCALTRITI, M.; BELONI, L.; CAPORALI, A.; DAVALLI, P.; REMONDINI, D.; RIZZI, F.; ASTANCOLLE, S.; CORTI, A.; BETTUZZI, S. Molecular classification of green tea catechin-sensitive and green tea catechin-resistant prostate cancer in the TRAMP mice model by quantitative real-time PCR gene profiling. **Carcinogenesis**, v. 27, p. 1047-1053, 2006.

SCHIEBER, A.; BERARDINI, N.; CARLE, R. Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. cv. "Tommy Atkins") peels by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5006-5011, 2003.

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

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMAUOLA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

WOLF, K. L.; LIU, R. H. Apple peels as a value-added food ingredient. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1676-1683, 2003.

YANG, B.; KOTANI, A.; ARAI, K.; KUSU, F. Estimation of the antioxidant activities of flavonoids from their oxidation potentials. **Analytical Sciences**, v. 17, p. 599-604, 2001.

APÊNDICE

Tabela 1A - Consumo médio mínimo⁽¹⁾ de antioxidantes (por quilo de peso do animal por dia) durante 25 dias

	Vitamina E (mg)	Fenólicos totais (mg)	Vitamina C (mg)	β-caroteno (μg)	Mangiferina (μg)	Quercetina (μg)	Kaempferol (μg)
Controle (DCFC-)	0,65	9,84	-	-	-	-	-
Controle (DCFC+)	0,67	10,47	-	-	-	-	-
Manga 25 d (DCFC-) ⁽²⁾	0,63	18,45	9,59	1,07	0,006	0,2973	0,0126
Manga 25 d (DCFC+) ⁽²⁾	0,65	18,84	9,83	1,13	0,4191	0,3039	0,0129

⁽¹⁾ Cálculo feito com dados de peso final dos animais e baseado no consumo.

⁽²⁾ Cálculo feito com a média de consumo durante 25 dias.

Tabela 2A - Consumo médio mínimo⁽¹⁾ de antioxidantes (mg kg⁻¹ de peso por dia) dos grupos de animais por 24 horas

	Vitamina E (mg)	Fenólicos totais (mg)	Vitamina C (mg)	β-caroteno (μg)	Mangiferina (μg)	Quercetina (μg)	Kaempferol (μg)
Controle (DCFC-)	0,68	10,28	-	-	-	-	-
Controle (DCFC+)	0,42	6,37	-	-	-	-	-
Manga 25 d (DCFC-) ⁽²⁾	0,66	19,39	10,12	0,30	0,4312	0,3127	0,0132
Manga 25 d (DCFC+) ⁽²⁾	0,37	10,68	5,58	0,17	0,2372	0,1718	0,0732
Manga 24 h (DCFC-) ⁽²⁾	1,00	29,03	15,15	0,43	0,6458	0,4682	0,0197
Manga 24 h (DCFC+) ⁽²⁾	0,36	10,27	5,37	0,14	0,2284	0,1655	0,0069
Vitamina E (DCFC-)	13,09	14,21	-	-	-	-	-
Vitamina E (DCFC+)	8,64	9,38	-	-	-	-	-

⁽¹⁾ Cálculo feito com base no peso final dos animais.

⁽²⁾ Cálculo feito com a média de consumo durante as 24 horas subseqüentes à administração do diclofenaco.

Tabela 3A - Equivalência do consumo dos animais experimentais (DCFC-, suplementados) para o consumo humano

Suplemento	Consumo Total	Diário*
	Em 25 dias	Em 24 horas
Vitamina C (mg)	671	1.060
vitamina E (mg)	44	70
β -caroteno (μ g)	75.000	30.000
Fenóis totais (mg)	1.291	2.032
Mangiferina (mg)	29	45
Quercetina (mg)	21	33
Kaempferol (mg)	0,9	1,4

* Considerando um homem adulto-referência de 70 kg.

Tabela 4A - Equivalência do consumo dos animais experimentais (DCFC+, suplementados) para o consumo humano

Suplemento	Consumo Total	Diário*
	Em 25 dias	Em 24 horas**
Vitamina C (mg)	688	376
vitamina E (mg)	45	25
β -caroteno (μ g)	79.000	10.000
Fenóis totais (mg)	1319	719
Mangiferina (mg)	29	16
Quercetina (mg)	21	12
Kaempferol (mg)	0,9	0,5

* Considerando um homem adulto-referência de 70 kg.

** Base para cálculo: consumo médio do grupo manga 24 h.