## UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS

# ESTUDO DAS ENZIMAS OXIDATIVAS E PRESENÇA DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM MANGAS (*Mangifera indica* L.) PRODUZIDAS NO BRASIL

Andréia Cristiane Souza Azevedo Mestre em Genética e Melhoramento

Profa. Dra. Gláucia Maria Pastore
Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos para a obtenção do Título de Doutor em Ciência de Alimentos

Campinas – SP 2006

### FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

Azevedo, Andréia Cristiane Souza

Az25e Estudo das enzimas oxidativas e presença de compostos bioativos em mangas (*Mangifera indica* L.) produzidas no Brasil / Andréia Cristiane Souza Azevedo. – Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientador: Gláucia Maria Pastore Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

Polifenol oxidase.
 Peroxidase.
 Maturação.
 Mangiferina.
 Compostos fenólicos.
 Pastore,
 Gláucia Maria.
 Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Engenharia de Alimentos.
 Título.

(ckn/fea)

Título em inglês: Study of oxidative enzymes and bioactive compounds in mango (Mangifera indica L.) produced in Brazil

Palavras-chave em inglês (Keywords): Polyphenol oxidase, Peroxidase, Maturation, Mangiferin, Phenolic compounds

Titulação: Doutor em Ciência de Alimentos Banca examinadora: Gláucia Maria Pastore

Marcelo Alexandre Prado Gabriela Alves Macedo Regina Prado Zanes Furlani Alessandra Santos Lopes

Yong Kun Park

Data de defesa: 23/02/2006

### **BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Gláucia Maria Pastore (orientadora) FEA – UNICAMP Presidente

> Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado FEA – UNICAMP Membro

> Profa. Dra. Gabriela Alves Macedo FEA – UNICAMP Membro

Dra. Regina Prado Zanes Furlani ITAL Membro

Dra. Alessandra Santos Lopes ITAL Membro

Prof. Dr. Yong Kun Park FEA – UNICAMP Membro

### Dedico

A meus pais Cinésio e Zenaide, pelo estímulo ao longo da minha vida A meus irmãos Soraia e Junior, pelo incentivo e carinho A meu sobrinho e afilhado Leonardo, pela alegria

> Ao Claudineis, pelo companheirismo e paciência Aos pequenos, Letícia e Bruno pelo carinho

"Todos os dias Deus nos dá um momento em que é possível mudar tudo que nos deixa infelizes. O instante mágico é o momento em que um 'sim' ou um 'não' pode mudar toda a nossa existência." Paulo Coelho

### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar aos meus pais, Cinésio e Zenaide, que sempre me apoiaram e acreditaram na minha capacidade... Meu eterno muito obrigada, por tudo que vocês são e pelo que eu sou.

À Profa. Dra. Gláucia Maria Pastore, pela orientação.

Ao Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado, pela ajuda e muitas sugestões valiosas, paciência, colaboração e amizade.

À Profa. Dra. Helena Texeira Godoy por ter disponibilizado o laboratório de análise de alimentos.

Ao Prof. Dr. Yong Kun Park por ter autorizado o uso do cromatógrafo.

Ao meu querido Claudineis Valvassori, pelo companheirismo, paciência e incentivo.

Aos muitos amigos que conquistei nesses anos, Cedenir, Janaína, Mário Maróstica, Fabio, Rosângela, Lívia, Mariana Uenojo, Juliano, Ana Paula Dionísio, Angélica, Armando, Giulliana, Mário Mano, Mariana Paes e muitos outros, pela amizade, carinho e alegria.

Aos meus amigos de curso, Carlos Eduardo Garcia e Luiz Wanderlei B. Pace, pelo incentivo e amizade.

Aos funcionários e amigos dos laboratórios de bioaromas, bioquímica e análise de alimentos, pela disposição em colaborar.

Aos amigos Andreas Daugsch, Roger Wagner, Ana Paula Simiquelli, Soraia Zoia, Julio Paredes e Eliane Pereira pela valiosa colaboração.

Ao CNPq e RECOPE/FINEP pela concessão da bolsa e suporte financeiro.

Enfim, a todas as pessoas não mencionadas, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Muito Obrigada!

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL	XV
SUMMARY	xvii
INTRODUÇÃO GERAL	01
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	02
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	05
1 – Manga	05
1.1 – Origem da fruta	05
1.2 – Características da fruta	06
1.3 – Produção e comércio	08
1.4 – Propriedades químicas e físicas da manga	10
1.5 – Transformação da manga durante a maturação	14
2 – Enzimas Polifenol oxidase e Peroxidase	23
2.1 – Polifenol oxidase	23
2.1.1. – Polifenol oxidase em manga	27
2.2 - Peroxidase	30
2.2.1 – Peroxidase em manga	33
3 – Compostos fenólicos	36
3.1 – Compostos fenólicos em manga	39
3.2 - Mangiferina	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
CAPÍTULO 2 – Composição química da polpa de manga ( <i>Mangifera indica</i> L. cv. Tommy Atkins) em três estádios de maturação	67
RESUMO	67
SUMMARY	68
1 – INTRODUÇÃO	68
2 – MATERIAL E MÉTODOS	70
2.1 – Amostras	70
2.1.1 – Preparo das amostras	70
2.2 – Caracterização química da fruta	70

2	2.2.1 – Sólidos solúveis totais (SST)	7
2	2.2.2 – Determinação de pH	7
2	2.2.3 – Acidez total titulável (ATT)	7
2	2.2.4 - Umidade	7
2	2.2.5 – Cinzas	7
2	2.2.6 – Açúcares redutores e totais	7
2	2.2.7 – Proteínas	7
2	2.2.8 – Gorduras	7
2	2.2.9 – Fibras	7
2	2.2.10 – Vitamina C	7
2.3 - 1	Análise estatística	7
3 – RESU	LTADOS E DISCUSSÃO	7
4 – CONC	LUSÕES	8
e DEEE	RÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
O - KEFEI		
6 – AGRAI <b>CAPÍTUL</b> O	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no	
6 – AGRAI <b>CAPÍTUL</b> <b>maduras,</b> <b>Brasil</b>	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no	S
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no	g
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO SUMMAR	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no	9
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO SUMMAR 1 – INTRO	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no	9
6 - AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO: SUMMAR 1 - INTRO 2 - MATE	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no  Y	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO: SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – A	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no  Y	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO. SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – A	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no  Y  DDUÇÃO  RIAL E MÉTODOS  Amostras  2.1.1 – Preparo das amostras	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO. SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – A	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no  Y	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO. SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – A	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no  Y.  DDUÇÃO  RIAL E MÉTODOS  Amostras  2.1.1 – Preparo das amostras  Métodos  Métodos  2.2.1 – Obtenção do extrato bruto das enzimas	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO. SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – A 2.2 – A	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no  Y	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO. SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – A 2.2	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no  Y	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO. SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – 7 2.2 – 1	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO. SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – A 2.2 – I 2.3 – A 3 – RESU	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no Y	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO. SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – A 2 2.2 – I 3 – RESU 4 – CONC	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no  Y	
6 – AGRAI CAPÍTULO maduras, Brasil RESUMO. SUMMAR 1 – INTRO 2 – MATE 2.1 – A 2 2.2 – I 3 – RESU 4 – CONC 5 – REFEI	O 3 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no Y	

CAPÍTULO 4 – Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas ( <i>Mangifera indica</i> L. cv. Tommy Atkins) em três estádios de maturação	10
RESUMO	10
SUMMARY	10
1 – INTRODUÇÃO	10
2 – MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1 – Amostras	10
2.1.1 – Preparo das amostras	11
2.2 – Métodos	11
2.2.1 – Obtenção do extrato bruto das enzimas	11
2.2.2 – Determinação da atividade da polifenol oxidase	1
2.2.3 – Determinação da atividade da peroxidase	1
2.3 – Análise estatística	1
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	1
4 – CONCLUSÕES	1
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	1
6 – AGRADECIMENTOS	12
CAPÍTULO 5 – Determinação de compostos fenólicos em manga (Mangifera indica L. cv. Tommy Atkins) por cromatografia líquida de alta eficiência	12
RESUMO	12
SUMMARY	12
1 – INTRODUÇÃO	12
2 – MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 – Amostras	12
2.2 – Obtenção dos extratos fenólicos para determinação dos fenóis totais	12
2.3 – Determinação do teor de fenóis totais	12
2.4 – Obtenção dos extratos fenólicos para identificação dos fenóis através de cromatografia líquida de alta eficiência	12
2.5 - Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	12
2.6 – Avaliação de atividade antioxidante usando o método DPPH	12
2.7 – Análise estatística	12

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	
3.1 – Análise de fenóis totais	
3.2 – Análise de compostos fenólicos por CLAE	
3.3 – Análise de atividade antioxidante por DPPH	
4 – CONCLUSÕES	
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
6-AGRADECIMENTOS	
CAPÍTULO 6 – Quantificação da mangiferina em manga ( <i>Mangifera indica</i> L. cv. Tommy Atkins) por cromatografia líquida de alta eficiência	
RESUMO	
SUMMARY	
1 – INTRODUÇÃO	
2 – MATERIAL E MÉTODOS	
2.1 – Amostras      2.2 – Obtenção dos extratos para determinação da mangiferina através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	
2.3 – Cromatografia líquida de alta eficiência	
2.4 – Avaliação de atividade antioxidante usando o método DPPH	
2.5 – Análise estatística	
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	
3.1 – Análise de mangiferina por CLAE	
3.2 – Análise de atividade antioxidante por DPPH	
4 – CONCLUSÕES	
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
6 - AGRADECIMENTOS	
CONCLUSÕES GEBAIS	

### **RESUMO GERAL**

Diversos estudos epidemiológicos têm mostrado que o consumo regular de frutas e vegetais reduz a incidência de doenças crônico-degenerativas. A manga (Mangifera indica L.) é amplamente encontrada em regiões tropicais e subtropicais, é uma fruta popularmente conhecida no mundo, além de ter grande aceitação no Brasil e em outros países onde é produzida, seu consumo também tem se expandido para novos mercados, como na Europa. A manga, além de ser saborosa e aromática, possui ainda elevado valor nutritivo quando comparada com outras frutas e também alto valor comercial em muitas regiões do mundo, em especial nas regiões tropicais. Neste trabalho foram analisadas mangas produzidas no Brasil com os objetivos de estudar as enzimas oxidativas em diferentes cultivares da fruta, bem como em diferentes estádios de maturação e avaliar a presença de moléculas bioativas em mangas da cultivar Tommy Atkins. Para determinação da maturação da fruta, foram avaliados os seguintes parâmetros: coloração da casca, consistência da polpa, pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais. Os resultados da análise de composição centesimal e vitamina C mostraram a influência da maturação na composição química da fruta, causando a redução dos teores de água, cinzas, gorduras, fibras e vitamina C e aumento do teor de açúcares totais. No caso do estudo das enzimas oxidativas em relação às diferentes cultivares, a "Tommy Atkins" apresenta maior atividade das enzimas polifenol oxidase e peroxidase do que as cultivares Haden e Palmer, esta última apresentou as menores atividades para ambas enzimas. Considerando as atividades dessas enzimas em manga "Tommy Atkins" relacionadas ao estádio de maturação, as frutas verdes apresentaram maior atividade da polifenol oxidase com diminuição gradativa até o estádio maduro, enquanto que a peroxidase apresentou-se mais ativa em frutas maduras do que em verdes, com um aumento gradual de frutos verdes para frutos maduros. Dos treze padrões de polifenóis avaliados por CLAE, sete foram encontrados nas amostras de polpa de manga analisadas, sendo eles, ácido gálico, metil galato, categuina, epicateguina, ácido ferúlico, ácido isoferúlico e propil galato. Estes compostos responderam de maneira diferente à influência da maturação. A

concentração de epicatequina apresentou aumento inicial seguido de redução significativa em seu teor até o final do período de avaliação. O propil galato, metil galato e ácido gálico apresentaram aumento gradual durante todo o período de avaliação. As concentrações de catequina e ácido ferúlico aumentaram do estádio verde para "de vez", mantendo estáveis até o estádio maduro. O teor de ácido isoferúlico aumentou durante a maturação. No estudo de determinação da mangiferina, detectou-se sua presença apenas na casca da manga e observou-se que este composto apresentou maior teor na casca de manga verde e gradativa redução até atingir o estádio maduro.

### SUMMARY

In several studies epidemiological it has been shown that the regular consumption of fruit and vegetables reduces the incidence of chronic-degenerative diseases. The mango (Mangifera indica L.) is abundantly found in tropical and subtropical areas and is one of the most popular fruits in the world, besides having great acceptance in Brazil and in other mango producing countries, its consumption also if has expanded for new markets, as in the Europe. The mango fruit is tasty and aromatic and possesses high nutritional value when compared to other fruits and also reaches a high commercial value in many countries worldwide but especially in the tropical ones. Mangos produced in Brazil were analyzed in order to study oxidative enzymes in different kinds of Mangos as well as in different maturation stadiums as well as the presence of bioactive molecules like mangiferin in Tommy Atkins mangos. To determine the state of maturation of the fruit different parameters were evaluated like coloration of the peel, consistence of the pulp, pH, total titratable acid and total soluble solids. The results of the composition analysis and the vitamin C content demonstrated the influence of the maturation on the chemical composition of the fruit, causing a reduction of content of water, ashes, fats, fibers and vitamin C and an increase in the total sugar content. Regarding the study of oxidative enzymes of different cultivations, the Tommy Atkins mango had shown a higher activity of the enzymes polyphenol oxidase and peroxidase in comparison to Haden and Palmer mango. The last one showed the smallest activity of both enzymes. Considering the relationship of the activities of those enzymes in Tommy Atkins mango to the state of maturation, the green fruits showed a higher activity of polyphenol oxidase with a gradual decrease of activity during the ripening, while the peroxidase activity was higher in ripe fruits than in green ones with a gradual increased during the maturation process. Seven out of thirteen polyphenolic substances analysed by HPLC were found in the samples of mango pulp: gallic acid, methyl gallate, catechin, epicatechin, ferulic acid, isoferulic acid and propyl gallate. The found substances have shown different reactions to the influence of the maturation. The concentration of

epicatechin was first increased and decreased significantly in the end of the analysis. The concentration of propyl gallate, methyl gallate and gallic acid was gradually increase during the whole evaluation period. The concentrations of catechin and ferulic acid increased from the green to half-green stadiums, and kept constant values until the ripe stadium. The concentration of isoferulic acid increased during the maturation. In the study of determination of the mangiferin content revealed that its occurrence is limited to the peel of the mango and the highest concentration was found in the peel of green mango with a gradual decrease to the ripe stadium.

### **INTRODUÇÃO**

Considerável aumento no grau de conscientização da população quanto à saúde e qualidade de vida tem sido observado nos últimos anos, fato este que tem direcionado à procura por alimentação saudável, levando a hábitos alimentares mais equilibrados. Visando essa melhora na qualidade de vida, estudos têm sido desenvolvidos com enfoque em alimentos naturais, os quais têm se destacado pelo aspecto funcional, por mostrarem capazes de promover benefícios à saúde no que diz respeito à prevenção de doenças. Dentre os alimentos, frutas e verduras têm atraído o interesse de consumidores devido aos constituintes com função antioxidante, agindo de maneira a neutralizarem radicais livres, os quais são responsáveis por inúmeras doenças além de promoverem o envelhecimento celular.

Pesquisas têm mostrado que o consumo regular de alimentos naturais reduz a incidência de doenças [2, 3, 12] estabelecendo associações positivas entre o consumo de frutas e verduras e o retardo do envelhecimento, e também a redução na taxa de mortalidade devido a doenças degenerativas, incluindo câncer, doenças cardíacas, inflamações, artrites, declínio do sistema imune, disfunção cerebral e cataratas [5, 8, 9], essas ações podem estar associadas à proteção contra danos causados por reações envolvendo oxigênio e nitrogênio [11].

Dentre os alimentos naturais, as frutas têm ocupado local de destaque devido ao seu fácil consumo, benefícios comprovados e interesse comercial. A manga é uma fruta de alto valor comercial em muitas regiões do mundo, em especial nas tropicais [1, 4, 6]. Considerando a popularidade da manga no mundo [7] e sua importância no mercado [10], aliada ao interesse da população no consumo de alimentos naturais, esta fruta foi alvo de estudos neste trabalho.

### 2. Referências Bibliográficas

- [1] AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira, p. 381-406, 2001.
- [2] BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SUBAR, A. Fruit, vegetables and cancer prevention. A review of the epidemiological evidence. **Nutrition and Cancer**, v. 18, n. 1, p. 1-19, 1992.
- [3] BRADFIELD, C. A.; CHANG, Y.; BJELDANES, L. F. Effects of commonly consumed vegetables on hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in the mouse. **Food Chemical Toxicology**, v. 23, p. 899-904, 1985.
- [4] CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carries on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and is functional characterization. **Food Science and Emerging Technologies**, in press, 2005.
- [5] FESKANICH, D.; ZIEGLER, R. G.; MICHAUD, D. S.; GIOVANUCCI, E. L.; SPEIZER, F. E.; WILLETT, W. C.; COLDITZ, G. A. Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, p. 1812-1823, 2000.

- [6] FRUPEX Manga para exportação: Aspectos técnicos da produção. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária e Secretaria de Desenvolvimento Rural SDR, Banco do Brasil. EMBRAPA, 1994.
- [7] KABUKI, T.; NAKAJIMA, H.; ARAI, M.; UEDA, S.; KUWABARA, Y.; DOSAKO, S. Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. **Food Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 61-66, 2000.
- [8] LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, v. 76, n. 1, p. 69-75, 2002.
- [9] MICHELS, K. B.; GIOVANNUCCI, E.; JOSHIPURA, K. J.; ROSNER, B. A.; STAMPFER, M. J.; FUCHS, C. S.; COLDITZ, G. A.; SPEIZER, F. E.; WILLETT, W. C. Prospective study of fruit and vegetables consumption and incidence of colon and rectal cancers. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, p. 1740-1752, 2000.
- [10] SCHIEBER, A.; ULLRICH, W.; CARLE, R. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 1, p. 161-166, 2000.
- [11] SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v. 88, p. 411-417, 2004.
- [12] WILLIAMSON, G.; DUPONT, M. S.; WANIGATUNGA, S.; HEANEY, R. K.; MUSK, S. R. R.; FENWICK, G. R.; RHODES, M. J. C. Induction of glucatione S-transferase activity in hepG2 cells by extracts from fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 157-160, 1997.

### **CAPÍTULO 1**

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### Andréia C. S. AZEVEDO; Gláucia M. PASTORE

### 1 - Manga

### 1.1 - Origem da fruta

A fruta tem origem Asiática (Índia), onde a mangueira é conhecida desde o ano 2000 a.C., tendo de lá se difundido para a China e Indochina. Muito mais tarde, ela foi introduzida nas Filipinas por navegadores espanhóis e no Sul da África pelos portugueses. No início do século XVI, foi trazida ao Brasil pelos colonizadores portugueses enquanto os espanhóis introduziram a cultura no México (MARANCA, 1978). O Brasil foi o primeiro país americano a introduzir o cultivo da mangueira (MEDINA *et al.*, 1981), o qual ocorreu na região do Nordeste Brasileiro de onde se difundiu por quase todo o território, excluindo as regiões mais frias do extremo Sul ou de altitudes elevadas (PINTO, 1996), sendo a maior parte da produção concentrada nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil, as quais responderam juntas por uma média de 92% da produção nacional no período entre 1990 e 2001 (BNDES, 2003b).

### 1.2 - Características da fruta

A manga é uma fruta dicotiledônea, pertencente à ordem Rutales, à família Anacardiaceae, ao gênero *Mangifera* e à espécie *Mangifera indica* L. (Figura 1). Considerada uma das mais importantes frutas tropicais comercializadas no mundo (SCHIEBER, ULLRICH & CARLE, 2000; PELEGRINE, SILVA & GASPARETTO, 2002; BERARDINI *et al.*, 2005; JHA, KINGSLY & CHOPRA, 2006), a manga é muito apreciada pelo seu sabor, aroma, coloração (CARDELLO & CARDELLO, 1998; DAK, VERMA & SHARMA, 2005) e, também pelo seu valor nutritivo (TOREZAN, 2000).

Descrita como um fruto de drupa carnosa, achatado lateralmente, com variações conforme a variedade a qual influencia no tamanho, forma, coloração, presença de fibras, aroma e sabor (SILVA, 1996), a manga é constituída por casca (exocarpo), polpa comestível (mesocarpo) e caroço (endocarpo), com fibras mais ou menos abundantes que se adentram no mesmo caroço e na polpa. A casca é lisa, pode ser de cor variável de verde ao amarelo, ao alaranjado e ao vermelho em algumas variedades, sendo mais marcada a alteração para vermelho no lado exposto ao sol (MARANCA, 1978).

São muitas as variedades de mangas já produzidas no Brasil, as quais recebem nomes diversificados, sendo ainda possível que a mesma cultivar apresente diferentes nomes em diferentes regiões. Embora esse grande número de cultivares, apenas algumas apresentam características que as tornam apropriadas para o comércio. Dentre elas, a "Tommy Atkins" é uma das principais em importância comercial apresentando-se como a mais cultivada e exportada pelo país por apresentar maior

produtividade, ser mais tolerante a certas doenças e ainda, apresentar bons atributos de qualidade (BRASIL, 1999). Atualmente a "Tommy Atkins" responde por aproximadamente 80% da produção nacional de manga e 50% das exportações mexicanas (SOUZA *et al.*, 2002). Em seguida, também consideradas de importância comercial estão as cultivares Haden, Keitt e Palmer (BRASIL, 1999; KAVATI & PIZA JR., 2000).

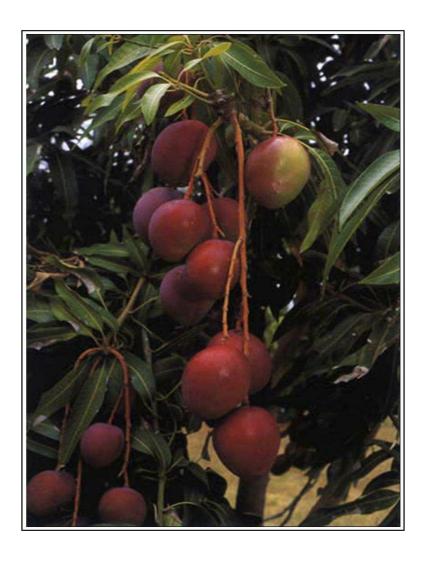


Figura 1 - Manga (Mangifera indica L.) cv. Tommy Atkins.

A manga tem grande aceitação no Brasil como em todos os países onde ela é produzida, mas também tem alcançado novos mercados nas regiões de clima temperado, como na Europa, pois além de ser uma fruta saborosa, atrativa e aromática, possui ainda elevado valor nutritivo, se comparado com outras frutas (MARANCA, 1978) e também alto valor comercial em muitas regiões do mundo, em especial nas regiões tropicais (FRUPEX, 1994; CANO-CHAUCA *et al.*, 2005).

### 1.3 - Produção e comércio

A manga é a segunda fruta tropical mais consumida no mundo perdendo apenas para a banana (MERCADANTE, RODRÍGUEZ-AMAYA & BRITTON, 1997), e tem apresentado um significativo aumento em seu consumo em países mais desenvolvidos nas últimas décadas (BENDER & BRECHT, 2000). Em termos de produção, a manga ocupa a quinta posição mundial entre as maiores culturas (IAGLER, REICHER & GANTER, 2002; HYMAVATHI & KRADER, 2005).

Segundo dados da "FAO Statistical Databases" (FAOSTAT, 2001), a demanda de manga no mundo tem expandido mais que qualquer outra fruta, com 54% de aumento durante os anos de 1996-2000, onde nas últimas décadas, a produção mundial de manga apresentou grande expansão, observando-se aumento significativo na Ásia, América do Norte, América Central, América do Sul e África. A produção global excedeu os 26 milhões de toneladas em 2004 (FAOSTAT, 2005). O comércio exterior igualmente apresentou tendência de elevado crescimento, destacando-se países como

México, Filipinas, Holanda, Brasil e Peru (BNDES, 2003a). De acordo com dados da Embrapa, com relação à exportação de manga, o Brasil ocupa o segundo lugar, perdendo apenas para o México que é o líder nas exportações da fruta.

No Brasil a maior parte da produção da manga está concentrada nas regiões Nordeste e Sudeste, as quais responderam juntas por uma média de 92% da produção nacional no período entre 1990 e 2001, correspondendo a um montante médio de 505 mil toneladas (BNDES, 2003b). De acordo com dados do IBGE (2004), os estados da Bahia e Pernambuco têm se destacado como os maiores produtores nacionais de manga, sendo a região do Vale do São Francisco a responsável por mais de 90% da exportação da manga nacional.

Com uma produção de 845.000 toneladas de manga em 2004 o Brasil ocupou o oitavo lugar no *ranking* dos maiores produtores mundiais da fruta (FAOSTAT, 2005), posicionando-se de forma competitiva no mercado, redirecionando a sua capacidade de produção para cultivares de boa aceitação externamente, como a "Tommy Atkins" e a "Haden" (BNDES, 2003a). A produção de manga no Brasil apresenta um grande potencial de crescimento de suas exportações pelo fato de ser um produto competitivo no mercado internacional, tanto em termos de preços/custos de produção como em termos de qualidade (LUCAFÓ & BOTEON, 2001). A exportação apresentou um significativo crescimento passando de 625 toneladas em 1981 a 94.291 toneladas em 2001, sendo a América do Norte e a Comunidade Européia os principais importadores (SOUZA *et al.*, 2002). De acordo com Carvalho *et al.* (2004), esse acréscimo da exportação foi consequência da introdução de novas cultivares vindas da Flórida, nos

Estados de São Paulo e de Minas Gerais, em meados da década de 70, as quais ganharam notória importância social e econômica e, consequentemente boa aceitação dos fruticultores.

A manga atinge o mercado tanto na forma verde quanto madura, podendo ser consumida *in natura* ou processada (LIZADA, 1993; POTT *et al.*, 2005; JHA, KINGSLY & CHOPRA, 2006) apresentando uma grande variedade de produtos dentre os quais pode-se citar os produtos derivados de mangas verdes como picles, "chutney", concentrado, flocos de cereal, barra da fruta, manga em pó, geléia e manga em fatias desidratada e uma gama de produtos derivados da fruta madura, tais como, purê, concentrado, suco, néctar, cremes, alimentos infantis, extrusados, compota, sorvete, geléia, manga em fatias congelada ou desidratada, xarope, entre outros (GEIDA, 1917; AROGBA, 1997; SCHIEBER, ULLRICH & CARLE, 2000).

### 1.4 - Propriedades químicas e físicas da manga

Embora a composição da fruta varia com a cultivar, condições climáticas, maturação na colheita, estocagem pós-colheita, tratamento da fruta e método de processamento (CARDELLO & CARDELLO, 1998; BRANCO, 2001), os principais constituintes que fazem parte da composição química da manga são água, carboidratos, ácidos orgânicos, sais minerais, proteínas, vitaminas e pigmentos (MEDINA *et al.*, 1981; ITAL, 1981; CARDELLO & CARDELLO, 1998).

Siqueira *et al.* (1988) desenvolveram um estudo de características físicas e químicas de frutos de 20 cultivares de mangueira produzidas em Minas Gerais, dentre as quais destacaram Tommy Atkins, Keitt e VanDyke, por apresentarem excelente aceitação no mercado consumidor.

Baseado em literatura o teor de umidade na polpa da manga, é cerca de 80%, variando entre 67 a 86%; o teor de sólidos solúveis normalmente é 15,0 a 20,0°Brix, havendo relatos de valores entre 4,0 e 27,0°Brix; o conteúdo de açúcares totais pode ser tão baixo como 4,0% e tão elevado como 26,0% e, a razão açúcar/ácido pode ter valores entre 20,0 e 116,0 (BRANCO, 2001). Lima (1997) relatou que a porcentagem de sólidos solúveis em manga varia de 6,6 a 21,9%, dependendo da cultivar e do estádio de maturação do fruto, ressaltando ainda que em manga Tommy Atkins o valor atinge 13,0% enquanto as cultivares Dashehari, Fazli, Langra e Chaunsa apresentam teor de até 20,0%, destacando-se a cultivar Mallika com até 24,0%.

Considerando os ácidos orgânicos, os ácidos cítrico e málico são os encontrados em maior quantidade, sendo que a acidez total da fruta, normalmente é expressa em ácido cítrico, variando com o grau de maturação (MEDINA *et al.*, 1981).

Dentre os constituintes da manga encontram-se também as vitaminas B1, B2 e B5 e outros compostos como fósforo, cálcio, ferro, proteínas, gorduras e carboidratos (USP, 1999).

Medina *et al.* (1981) declararam em seu trabalho que dependendo da cultivar de manga, ocorre variação da porcentagem de açúcares totais num intervalo de 10 a 24%,

mas que o teor de sacarose mantém-se maior, seguido por frutose e glicose. De acordo com os autores, a acidez total da fruta na forma de ácido cítrico ou málico varia em frutas verdes de 0,67 até 3,66% e nas frutas maduras, varia de 0,17 a 0,56%.

Maranca (1978) comparou o valor nutritivo da manga com outras frutas como laranja e maçã e declarou que a polpa da manga possui valor energético superior ao das frutas comparadas, onde 100 g de manga apresentaram 71 calorias contra 57 calorias da maçã e 36 da laranja, na mesma quantidade de material analisado. A manga foi superior também no conteúdo de carboidratos, de ferro e de vitaminas, em geral. O autor descreveu o teor de açúcares oscilando de 6 a 20%, com média de 10 a 12% e os ácidos (expressos em ácido cítrico) entre 0,3 e 2,5% em média.

Vazquez-Salinas & Laksminorayana (1985) investigaram a composição química de polpa de manga cv. Keitt e constataram que as principais vitaminas presentes foram vitamina C, pró-vitamina A (β-caroteno) e pequenas quantidades de vitamina B, conforme descrito na Tabela 1.

Estudos de algumas características químicas da manga "Tommy Atkins" minimamente processada foram realizados por Vilas-Boas *et al.* (2004), os quais determinaram pH 4,5, sólidos solúveis totais 11,7°Brix, açúcares solúveis totais 7,6% e vitamina C 23,58 mg/100 g. Siqueira *et al.*, 1988, estudaram a "Tommy Atkins" e obtiveram valores de 4,24 e 0,21% para pH e acidez titulável, respectivamente e 13,9°Brix para sólidos solúveis totais.

**Tabela 1.** Composição química de polpa de manga madura cultivares Haden, Keitt, Irwin e Kent.

Constituinte	Valor			
	Haden	Keitt	Irwin	Kent
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	15,6	19,9	18,3	21,7
Acidez titulável (% de ác. cítrico)	0,04	0,04	0,05	0,12
рН	5,2	6,2	5,2	5,2
Vitamina C (mg/100g)	69,0	76,5	75,0	100,0
Açúcares totais (%)	12,6	17,7	15,2	15,4
Carotenóides totais (µg/100g)	6.819	5.187	3.231	5.457
$\beta$ -caroteno ( $\mu$ g/100g)	3.850	2.758	1.250	3.090

Fonte: VAZQUEZ-SALINAS e LAKSMINROYANA (1985).

A manga destaca-se como uma fruta que contém alto teor vitamínico, principalmente de A e C (STAFFORD, 1983) e, devido a esse teor de vitamina A ela é considerada excelente antioxidante (USP, 1999). De acordo com Hymavathi & Khader (2005), o conteúdo de β-caroteno em manga alcança de 800 μg/100 g de fruta (cv. Mulgoa) para 13000 μg/100 g de fruta (cv. Alphonso). Além de apresentar-se como uma rica fonte de carotenóides totais (SCHIEBER, BERARDINI & CARLE, 2003; POTT *et al.*, 2002; HYMAVATHI & KHADER, 2005) a manga é também rica em polifenóis, o que a caracteriza como uma fonte potencial de antioxidante tendo sido atribuído a ela uma importância nutricional com relação à prevenção de doenças (SCHIEBER, BERARDINI & CARLE, 2003; HYMAVATHI & KHADER, 2005). O teor de carotenóides presente na manga aumenta de acordo com a maturação, conferindo a cor amarela do fruto maduro. Dentre os carotenóides, destaca-se o β-caroteno (precursor da vitamina A) por

estar em maior quantidade. De maneira inversa, o ácido ascórbico tem sua concentração diminuída consideravelmente com o amadurecimento da fruta, onde estudos apresentaram um decréscimo de 70-130 mg/100 g em polpa de frutos verdes para 15-50 mg/100 g em frutos maduros, em variedades comerciais da Índia (MEDINA *et al.*, 1981). A manga madura possui quantidade apreciável de vitamina C, atingindo 110 mg/100 g de amostra dependendo da cultivar (CARDELLO & CARDELLO, 1998).

Larrauri *et al.* (1996) prepararam fibras a partir de casca de manga das quais os açúcares foram removidos, e analisaram os conteúdos de polifenóis totais e fibra alimentar. Constataram que as fibras alimentares a partir de casca de manga possuem um alto teor de polifenóis totais (70 g/Kg) e de fibras solúveis 281 g/Kg, mostrando que o produto é uma boa fonte de fibras de fruta tropical e de polifenóis.

### 1.5 - Transformação da manga durante a maturação

Durante o desenvolvimento, os frutos passam por diferentes estádios fisiológicos. No início ocorrem sucessivas divisões celulares e alargamentos celulares, seguidos da pré-maturação, maturação e senescência (EVANGELISTA, 1999).

Em decorrência do processo de maturação, os frutos de modo geral, sofrem grandes modificações físicas e químicas que representam um extenso espectro de processos degradativos simultâneos e sequenciais, aprimorando assim os atributos de qualidade, em especial, pigmentação, textura, aroma e sabor (BIALE, 1975; WILLS *et* 

al., 1981; TUCKER, 1993; EVANGELISTA, 1999; VENDRAMINI & TRUGO, 2000). Essas alterações físico-químicas que as mangas sofrem durante o amadurecimento devem ser observadas, uma vez que podem ser úteis na definição das condições de armazenamento e processamento das frutas (SUGAI, 2002).

Jagtiani, Chan Jr. & Sakai (1988) estudaram o processo de maturação da manga e listaram algumas modificações, como: a) o aumento do teor de sólidos solúveis, pH, açúcares totais, sacarose, carotenos e intensidade de sabor e a diminuição dos sólidos insolúveis, acidez e teor de amido; b) aumento da respiração e transpiração até atingirem um pico, quando então, diminuem; c) alteração da coloração da polpa, de amarelo claro para amarelo escuro ou laranja. Outro ponto importante a se observar durante a maturação da manga é o amolecimento da polpa, o qual é indicador do estádio de maturação (HAHN, 2004). Jha, Kingsly & Chopra (2006) também correlacionaram a firmeza da polpa de manga com o estádio de maturação, juntamente com outras características indicadoras do processo, como tamanho, esfericidade e cor do fruto.

Um parâmetro importante no processo de maturação é a textura, esta pode ser avaliada tanto por métodos subjetivos, através da compressão do fruto com o polegar ou do painel de análise sensorial, como por métodos objetivos que correspondam à expressão numérica das características de firmeza com o auxílio de instrumentos como pressurômetros, penetrômetros e testadores da compressão, como cisalhamento e tensão (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

De acordo com Evangelista (1999), os grupos carboxílicos quando ligados ao cálcio, formam o pectato de cálcio que é mais insolúvel e também designado como protopectina. Durante o amadurecimento ocorre a liberação do cálcio, solubilização da protopectina das paredes celulares ocorrendo assim a modificação da textura com conseqüente amaciamento do fruto.

Seymour *et al.* (1990) estudaram mangas cv. Kent colhidas em três estádios de maturação e afirmaram que a maturação da fruta exerce influência na perda da firmeza da polpa. Marin & Cano (1992) notaram a diminuição da firmeza na polpa de mangas das cultivares Lippens e Smith colhidas no estádio pré-climatério e armazenadas por 19 dias.

A função das enzimas pectinesterase e poligalacturonase durante o amadurecimento da manga cv. Haden foi estudada por Faria *et al.* (1994) que concluíram que a poligalacturonase praticamente não apresenta atividade durante o início do processo de maturação, aumentando sua atividade conforme o avanço do amadurecimento, enquanto a pectinesterase apresentou elevada atividade no início do amadurecimento, tendendo a atividade quase zero após dez dias. Os autores ressaltaram que essas enzimas estão relacionadas com a solubilidade da pectina e, consequente amolecimento da polpa. Yashoda *et al.* (2005) acompanharam o amadurecimento de manga com enfoque na caracterização química e estrutural de pectina e hemicelulose, e observaram evidências de modificações na estrutura e composição de ambas durante a maturação da manga. De acordo com Medina *et al.* (1981), a pectina se encontra na parede celular da fruta, sendo que durante a

maturação ocorre sua degradação, com redução do tamanho molecular e esterificação, representando a principal transformação química sofrida pela manga durante esse período. Com a maturação do fruto ocorre um aumento no teor de pectinas solúveis, o que causa o amolecimento do fruto (ROE & BRUEMMER, 1981).

Quanto à sua composição centesimal, o teor de carotenóides presentes na manga aumenta de acordo com a maturação conferindo a cor amarela do fruto maduro e, consequentemente aumentando o teor de vitamina A. Ocorre um decréscimo do teor de carotenóides com o amadurecimento podendo chegar até 50% de perdas do teor do fruto verde para um fruto maduro (MEDINA *et al.* 1981).

Malevski *et al.* (1977) estudaram a relação de coloração da casca da manga "Haden" com o teor de sólidos solúveis, durante o amadurecimento e concluíram que a cor da casca é um bom indicador do estádio de maturação de mangas. Kolekar *et al.* (1992) desenvolveram um trabalho subjetivo que relaciona a mudança da coloração da casca e da polpa de manga "Alphonso", onde definiram como resultado sete diferentes estádios de maturação de mangas (Tabela 2).

Morga *et al.* (1979) estudaram alterações físico-químicas em mangas das Filipinas cv. Carabao durante o amadurecimento, analisaram as frutas no estádio verde e maduro e observaram que com a maturação ocorreu alteração da cor da casca de verde para amarelo escuro, redução dos teores de amido e ácido ascórbico, diminuição da acidez titulável e do pH, e aumento de sólidos solúveis totais, carotenóides totais e pectina.

**Tabela 2.** Estádios de maturação definidos de acordo com características da casca e polpa das mangas "Alphonso".

Estádio de	Característica da casca e da polpa da manga
maturação	
1	Casca verde; polpa de cor amarela pálida; sabor azedo.
2	Casca de cor amarela esverdeada; polpa de cor amarela pálida; sabor
	entre azedo e doce.
3	Casca amarela; polpa amarela; sabor doce (boa qualidade).
4	Casca amarela pouco enrugada; polpa de cor amarela escura;
	Sabor doce (boa qualidade).
5	Casca de cor amarela escura, enrugada e com pontos escuros; polpa
	mole; fruto muito maduro com sabor doce (qualidade satisfatória).
6	Casca de cor amarela escura, completamente enrugada e com pontos
	escuros; polpa mole; sabor desagradável (baixa qualidade).
7	Casca de cor amarela escura, completamente enrugada e com
	manchas pretas; polpa mole e podre (baixa qualidade).

Fonte: KOLEKAR et al., 1992.

Segundo Wills *et al.* (1981), a maturação causa aumento da matéria seca, dos teores de açúcares totais e redutores, diminuição da firmeza e da acidez total titulável, e desenvolvimento da cor e do aroma. Lima (1997) considera que a mudança mais importante durante a maturação de muitos frutos é a hidrólise de polímeros de amido e carboidratos, e sua conversão em açúcares solúveis, contribuindo para o sabor agradável do fruto, a hidrólise de pectinas, das hemiceluloses, da celulose da lamela média e da parede celular, provocando o amaciamento da maioria dos frutos.

Evangelista (1999) relatou modificações físico-químicas na manga "Tommy Atkins" durante o período de armazenamento onde ocorreu aumento da perda de massa, de pH, dos sólidos solúveis totais, de açúcares redutores, não redutores e totais.

Em mangas, o período do crescimento é caracterizado pelo aumento do teor de sólidos insolúveis em álcool, principalmente o amido (TANDON & KALRA, 1983). Esse amido acumulado no fruto durante o crescimento é rapidamente degradado durante o processo de amadurecimento, praticamente desaparecendo em frutos maduros (FUCHS, PESIS & ZAUBERMAN, 1980; LIZADA, 1993), ao tempo que ocorre o aumento na atividade das amilases, com um acúmulo de sólidos solúveis totais (FUCHS, PESIS & ZAUBERMAN, 1980; TANDON & KALRA, 1983). A hidrólise do amido, durante o amadurecimento da manga, tem sido associada com a atividade da  $\alpha$  e  $\beta$ -amilase, ocorrendo, portanto, como consequência, um aumento dos açúcares totais durante o amadurecimento (FUCHS, PESIS & ZAUBERMAN, 1980; LIZADA, 1993).

Os sólidos solúveis totais (SST) aumentam nos frutos conforme a maturação. A determinação do teor de SST normalmente tem como propósito estimar o teor de açúcares presentes na fruta. A porcentagem na manga varia de 6,65 a 21,9%, dependendo da cultivar e da maturação do fruto (FERRER, 1987), no caso da cultivar Tommy Atkins, Medlicott, Reynolds & Thompson (1986) determinaram teor médio de 13,0% de SST. Bleinroth *et al.* (1985) mostraram a variação do teor de SST em mangas ao estudarem 20 cultivares da fruta, obtendo uma gama de valores num intervalo de 12,0% a 19,0%.

Os teores de açúcares em mangas variam em função de cultivares, condições nutricionais do solo, condições climáticas, estádio de maturação e temperatura de armazenamento. Os principais açúcares presentes são a glicose, frutose e sacarose. Durante o amadurecimento, os teores de glicose e frutose variam, enquanto que, o da sacarose aumenta de 3 a 4 vezes, sendo, portanto o principal açúcar contribuinte para a doçura da manga (LAKSHMINARAYANA, 1980). Medlicott & Thompson (1985) também relataram que no amadurecimento de mangas "Keitt", a sacarose é o açúcar predominante. Vazquez-Salinas & Lakshminarayana (1985) observaram uma redução gradual nos teores de glicose e frutose e aumento contínuo no teor de sacarose em mangas cultivadas na Flórida.

Castrillo, Kruger & Whatley (1992) estudaram o conteúdo de amido e açúcares durante o amadurecimento de manga "Haden" produzida na Venezuela e constataram que o açúcar predominante durante o amadurecimento é a sacarose. Notaram um aumento de sacarose nos primeiros dias de maturação, permanecendo alto em frutas maduras. A frutose, hexose dominante, dobrou sua concentração durante os primeiros dias de amadurecimento enquanto que a glicose diminuiu nesse período.

Em mangas "Tommy Atkins", Miller *et al.* (1983) observaram aumento nos teores de frutose, sacarose e açúcares totais e, desaparecimento da glicose, após os frutos ficarem armazenados por 14 dias a 12°C, seguido de armazenamento a 21°C até o amadurecimento.

Kramer (1973) mencionou que os métodos mais comumente usados para medir acidez da fruta são a acidez total titulável (ATT) e o potencial hidrogeniônico (pH), onde

o primeiro representa todos os grupamentos ácidos encontrados (ácidos orgânicos livres e na forma de sais e compostos fenólicos) e o segundo determina a concentração hidrogeniônica da solução.

Hulme (1974) afirmou que para a maioria dos frutos tropicais o teor de ácidos orgânicos diminui com o amadurecimento, pois esses ácidos são utilizados no ciclo de Krebs durante o processo respiratório.

Embora a acidez diminui durante o processo de amadurecimento de mangas, algumas cultivares mantêm elevado teor de acidez na fruta quando maduras, como é o caso da "Alphonso" que apresenta 3% de acidez titulável, já a "Tommy Atkins" apresenta baixa acidez (0,5 a 1,0%) onde o ácido orgânico predominante é o ácido cítrico seguido pelos ácidos málico e oxálico (LAKSHMINARAYANA, 1980).

O pH varia de cultivar para cultivar e é bastante influenciado pela temperatura, mas tende a aumentar com a maturação dos frutos. Medlicott & Thompson (1985) verificaram aumento de 3,1 para 4,3 para manga "Keitt" após 9 dias de armazenamento a 22°C.

Tida como uma fruta rica em vitamina C, a manga apresenta valores que variam de 66,5 mg/100 g na fruta verde a 43,0 mg/100 g na fruta madura (FRANCO, 1997), mas pode chegar a 110 mg/100 g, dependendo da variedade (BLEINROTH, 1976).

Vários estudos foram desenvolvidos visando acompanhar a atividade de enzimas durante o processo de maturação de algumas cultivares de mangas onde

diferentes comportamentos foram encontrados para diferentes enzimas ou até mesmo para uma mesma enzima. O aumento da atividade durante o processo de maturação foi observado para as enzimas poligalacturonase (YANRU *et al.*, 1995), pectinesterase (AINA & OLADUNJOYE, 1990), β-galactosidase (ALI, ARMUGAN & LAZAN, 1995), celulase (EI-ZOGHBI, 1994), ascorbato oxidase (CARDELLO & CARDELLO, 1998) e peroxidase (PRABHA & PATWARDHAN, 1986). Comportamentos contraditórios foram observados para a enzima polifenol oxidase, onde a atividade aumentou conforme avanço da maturação (PRABHA & PATWARDHAN, 1986) e num outro estudo, ocorreu diminuição da atividade (EVANGELISTA, 1999). Um comportamento adverso foi observado para enzimas pectinesterase e celulase que tiveram aumento de atividades até um período do amadurecimento, seguida de um declínio das atividades dessas enzimas (SELVARAJ & KUMAR, 1989).

Cardello & Cardello (1998) analisaram a atividade da enzima ascorbato oxidase sobre o nível de ácido ascórbico durante o processo de amadurecimento da manga "Haden", onde observaram um aumento da atividade da enzima durante o processo de amadurecimento da fruta e uma correlação linear negativa com o teor de ácido ascórbico. Os autores relataram ainda a ocorrência de aumento significante dos atributos sensoriais da fruta (sabor, aroma, coloração amarela da polpa, doçura e suculência), com exceção da acidez e adstringência.

#### 2 - Enzimas Polifenol oxidase e Peroxidase

Dentre as diversas enzimas oxidativas que promovem alteração nos alimentos estão a polifenol oxidase e a peroxidase. Nos vegetais, essas enzimas podem causar reações químicas indesejáveis. Em frutos, o escurecimento dos tecidos ocorre principalmente pela reação de oxidação enzimática dos compostos fenólicos a qual é catalisada pela atividade de duas enzimas: a polifenol oxidase e a peroxidase (BRAVERMAN, 1967; FATIBELLO-FILHO & VIEIRA, 2002). As polifenol oxidases são proteínas contendo cobre e são diferentes das peroxidases que são hemi-proteínas. Sabe-se que as polifenol oxidases são responsáveis principalmente pelo escurecimento ocorrido nas verduras e frutas devido a injúrias ou durante o processamento dos mesmos (PRABHA & PATWARDHAN, 1986) e que as peroxidases contribuem com alterações deteriorativas no aroma, sabor, textura, cor e valor nutricional de frutas e verduras (PHABHA & PATWARDHAN, 1986; KHAN & ROBINSON, 1993a).

#### 2.1 - Polifenol oxidase

As polifenol oxidases são enzimas encontradas na maioria das plantas superiores e sua denominação "polifenol oxidase" se refere a muitas enzimas cuja principal característica é a capacidade de utilizar oxigênio molecular durante a oxidação de compostos fenólicos. Dependendo do extrato de atuação dessa enzima, ela recebe diferentes denominações tais como, catecol oxidase, catecolase, difenol oxidase, odifenolase, fenolase e tirosinase. A polifenol oxidase catalisa dois tipos de reações,

ambas usando oxigênio molecular: a) hidroxilação de monofenóis para *o*-difenóis frequentemente referida como atividade de cresolase (EC 1.14.18.1); b) oxidação de *o*-difenóis quando se refere à atividade de catecolase (EC 1.10.3.2), também referida como fenolase ou polifenol oxidase (ESKIN, 1990; MARTINEZ & WHITAKER, 1995).

Basicamente a reação cresolase (Figura 2A) catalisa a oxidação de fenol mono-hídrico, tal como a tirosina e *o*-cresol para formar o grupo hidroxila na posição orto e a reação catecolase (Figura 2B) envolve a remoção de dois átomos de hidrogênio de *o*-difenol, tais como catecol, ácido clorogênico ou 3-4 dihidroxi-fenilalanina, para formar a correspondente *o*-diquinona (CANO *et al.*, 1996). As quinonas formadas são substâncias altamente reativas e, podem reagir com outras quinonas, aminoácidos ou proteínas, formando compostos coloridos, os quais são responsáveis pela perda de coloração de muitas frutas devido à degradação de antocianinas (WESCHE-EBELING & MONTGOMERY, 1990ab; SIDIQQ *et al.*, 1994).

A atividade catecolase envolve a oxidação de dois *o*-difenóis a duas *o*-quinonas com a redução de quatro elétrons de O<sub>2</sub>, o que forma duas moléculas de água (SANTOS, 2002).

A polifenol oxidase é encontrada em algumas bactérias e fungos, em alguns artrópodes, na maioria das plantas e em todos os mamíferos. Sua localização na célula vegetal depende da espécie, idade, e no caso de frutas, depende ainda do grau de maturação (VÁMOS-VIGYÁZÓ, 1981).

PFO<sub>1</sub> → monofenol monoxigenase, tirosinase ou cresolase PFO<sub>2</sub> → difenoloxigenase, catecol oxidase ou catecolase

**Figura 2.** Esquema ilustrativo da ação da polifenol oxidase catalisando as reações cresolase (2A) e catecolase (2B) (SANTOS, 2002).

Em plantas, a polifenol oxidase pode estar solúvel ou ionicamente ligada à membrana. Estudos histoquímicos revelaram que essa enzima está localizada predominantemente em membranas tilacóides de cloroplastos (MARTINEZ & WHITAKER, 1995). A distribuição da polifenol oxidase nas diferentes partes das frutas e verduras pode ser consideravelmente diferente e a taxa de enzimas ligadas a partículas e solúveis varia com a maturação (VÁMOS-VIGYÁZÓ, 1981). A distribuição da

atividade da polifenol oxidase em diferentes partes das frutas ocorre de forma heterogênea, conforme verificada por Vamos-Vigiázó & Nádudvari-Márkus (1982) ao estudarem diferentes cultivares de frutas, atribuindo essa heterogeneidade à estrutura fibrosa do mesocarpo.

Em tecidos vivos, a enzima polifenol oxidase e o substrato fenólico estão separados dentro das células. No momento da extração ou de algum outro processo que danifique a célula, a enzima e o substrato entram em contato, ocorrendo então a reação. Ocorre a formação de *o*-quinonas durante a oxidação e essas *o*-quinonas são altamente reativas podendo reagir com outras *o*-quinonas, aminoácidos, peptídeos e proteínas causando alterações estruturais e funcionais, acarretando a diminuição do valor nutritivo do produto (ESCRIBANO *et al.*, 1997).

Polifenol oxidase tem recebido contínua atenção de químicos e processadores de alimentos desde sua descoberta há 90 anos atrás, devido ao seu envolvimento no escurecimento enzimático de muitos produtos vegetais, especialmente, frutas e verduras, cogumelos (ESKIN, 1990), bem como crustáceos (ZAWISTWSKI, BILIADERIS & ESKIN, 1991). O referido escurecimento é causado pela ação da polifenol oxidase nos compostos fenólicos naturais e no oxigênio atmosférico que são oxidados a *o*-quinona, que em seguida pode polimerizar formando a melanina que é um pigmento marrom (BENJAMIN & MONTGOMERY, 1973; AROGBA *et al.*, 1998), o que acarreta uma depreciação do valor comercial de frutas e verduras frescas (CHAZARRA *et al.*, 1996).

Em todos os trabalhos aqui mencionados, a ação dessas enzimas está primariamente relacionada com a reação enzimática causando o escurecimento da fruta fresca e gerando aroma e aparência desagradáveis em produtos congelados ou enlatados. Fenômenos estes de grande importância no setor da indústria e comercializações desses produtos, devido às alterações nos caracteres sensoriais e também à perda do valor nutricional (VÁMOS-VIGYÁZÓ, 1981).

Vámos-Vigyázó (1981) ressaltaram que o nível de polifenol oxidase em plantas depende da espécie, da cultivar, da maturação e idade. A atividade polifenol oxidase é muito baixa em plantas jovens, muitas vezes, essa atividade não é detectável. Isto é porque a polifenol oxidase existe como uma enzima rigorosamente ligada à membrana. Em folhas verdes de beterrabas, esta enzima está presente no cloroplasto e ligada a vários pontos da estrutura da membrana através de peptídeos ligados a aminoácidos não aromáticos e, para que ocorra a liberação da enzima, há a necessidade de quebra da estrutura.

#### 2.1.1 - Polifenol oxidase em manga

Park *et al.* (1980) estudaram a atividade da polifenol oxidase em manga "Haden", onde investigaram a caracterização da enzima visando sua inativação. Buscaram a especificidade da enzima a substratos, efeito de pH, temperatura e inibidores e observaram que a enzima era ativa em compostos-difenólicos, mas não em monofenóis e que em pH 5,6-6,0 a enzima apresentou atividade máxima, seguida de

uma rápida redução dessa atividade em valores de pH alcalinos ou muito ácidos. A inativação termal da enzima em manga ocorreu em temperaturas de 75, 80 e 85°C. Os inibidores testados, usando catecol como substrato foram o ácido ascórbico, L-cisteína, dietilditiocarbamato, 2-mercaptoetanol e metabissulfito de sódio, os quais em concentrações de 0,05 mM causaram inibição de 100% da atividade da enzima, diferindo no potencial inibitório quando utilizados em concentração de 0,01 mM.

Guerrero-Beltrán, Swanson & Barbosa-Cánovas (2005) investigaram mecanismos para inativação de polifenol oxidase em purê de manga. Os autores estudaram efeito de combinações de diferentes valores de pH e de diferentes concentrações de 4-hexilresorcinol (4-HR), cisteína (Cys) ou ácido ascórbico (AA). Analisaram a atividade enzimática a 30°C e observaram que ocorreu redução da atividade da enzima em pH 3,5, contudo a redução da atividade foi mais acentuada em altas concentrações da Cys ou do AA, a combinação de Cys e AA, adicionada ao 4-HR também causou redução da atividade da enzima. Concluíram que o efeito sinergístico das altas concentrações de Cys ou de AA com 4-HR tem maior potencial para redução da atividade da polifenol oxidase.

Katwa, Ramakrishna & Raghavendra Rao (1982) realizaram estudos com objetivo de caracterizar a polifenol oxidase em casca de manga madura "Raspuri" purificando a enzima com sulfato de amônio. Constataram que dentre os substratos testados a enzima apresentou maior especificidade para o catecol. Os autores caracterizaram a enzima isolada, determinando o ponto isoelétrico (pl) de 4,1 +/- 0,2,

com peso molecular de 137.000 daltons, temperatura e pH ótimos de 46°C e 5,5, respectivamente.

Prabha & Patwardhan (1986) estudaram a atividade da polifenol oxidase em casca e polpa de manga "Badami" através de análises em espectrofotômetro a 420 nm. Observaram aumento da atividade enzimática na casca durante o amadurecimento da fruta, já na polpa os autores não detectaram atividade da enzima estudada em nenhum estádio de maturação.

Arogba *et al.* (1998) visando conhecer algumas propriedades da enzima polifenol oxidase, estudaram a atividade dessa enzima em miolo de caroço de mangas maduras. Para as análises utilizaram método colorimétrico, com absorbância de 420 nm e catecol como substrato. Analisaram o efeito do pH e temperatura na atividade da enzima e concluíram que a polifenol oxidase no material estudado apresentou melhor atividade em pH 6,0, na temperatura de 25°C e que a 14 ou 30°C a atividade da enzima era de 50%, assim como em pH 5,0 e 7,1. Um outro estudo da polifenol oxidase em mangas de origem Nigeriana foi desenvolvido por Arogba (2000), que analisou a atividade da enzima no substrato submetido ao processo de branqueamento a 90°C, onde as atividades foram aferidas no tempo zero até 20 minutos a partir do início do processo. Considerando 100% a atividade da enzima no tempo zero de branqueamento, os resultados mostraram uma redução de 50% de atividade após 3 minutos de tratamento, reduzindo a 90% após 5 minutos. O autor não observou maiores reduções na atividade da enzima após 5 minutos e atribuiu tal fato à presença de outros

constituintes do extrato da amostra, mostrando a influência do grau de pureza da amostra na atividade da enzima polifenol oxidase.

Sharma *et al.* (2001) estudaram atividade da polifenol oxidase (catecolase e cresolase) no início da floração da mangueira, usando o 4-metil catecol (4MC) como substrato para catecolase e o 4-metil fenol (p-cresol) para a cresolase. Observaram que a atividade enzimática variou nas oito cultivares estudadas onde a cultivar Bhadauran apresentou maior atividade enzimática tanto para catecolase como cresolase enquanto as menores atividades foram medidas nas cultivares Tommy Atkins e Chaunsa.

#### 2.2 - Peroxidase

Peroxidase (POD, E. C. 1.11.1.7, doador H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> óxido-redutase) é um membro de um importante grupo de enzimas chamadas de óxido-redutases, que está envolvida em reações deteriorativas de frutas e verduras (HAMMER, 1993). Esta enzima é muito difundida nos reinos animal e vegetal e é encontrada também em fungos (DUNDFORD, 1991). O estudo da peroxidase é de grande importância, pois ela pode interferir na qualidade dos produtos tanto para os industrializados como para os de consumo *in natura*, podendo até mesmo influenciar na deterioração de alimentos quando armazenados, desenvolvendo sabores e odores indesejáveis nos produtos (HAARD, 1977; LEE & HAMMES, 1979).

Devido a sua resistência à inativação térmica, a peroxidase é largamente utilizada como índice de branqueamento em tratamentos térmicos (KHAN & ROBINSON, 1993a).

Conforme citado por Brito (2001), em 1855 Schoenbein observou que extratos de alguns cogumelos e tecidos animais produziam cor azul, em soluções de guaiacol, na presença de ar ou de soluções diluídas de peróxido de hidrogênio, e atribuiu essa reação à atividade da peroxidase.

O mecanismo de ação da enzima pode ser descrito da seguinte maneira:

Peroxidase +  $H_2O_2 \rightarrow Complexo I$ 

Complexo I + AH<sub>2</sub>  $\rightarrow$  Complexo II + AH

Complexo II + AH  $\rightarrow$  Peroxidase + A

A Figura 3 ilustra a reação de determinação da atividade de peroxidase usando o guaiacol como doador de hidrogênio e o peróxido de hidrogênio como aceptor de hidrogênio.

As peroxidases são classificadas em peroxidases contendo ferro (ferriprotoporfirina peroxidase e verdoperoxidase) e flavoproteína peroxidase. As ferriprotoporfirinas possuem a ferroprotoporfirina III como grupo prostético (peroxidases de plantas superiores, animais e microrganismos); as verdoperoxidases têm um núcleo ferroporfirina, mas não é o ferriprotoporfirina III (mieloperoxidases, encontradas nos mielócitos e lactoperoxidases, encontradas no leite); e as flavoproteínas peroxidases

que tem o FAD como grupo prostético (purificadas de estreptococos) (WHITAKER, 1994).

## Reação Geral:

#### Reação do Guaiacol:

$$\begin{array}{c} & & & & & & & & \\ & & & & & & \\ & & & & & \\ & & & & & \\ & & & & & \\ & & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & \\ & & & \\ & \\ & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & &$$

**Figura 3.** Esquema ilustrativo da ação da peroxidase utilizando o guaiacol como receptor de hidrogênio e o peróxido de hidrogênio como aceptor (SANTOS, 2002).

Segundo Burnette (1977) a peroxidase não é específica podendo catalisar a oxidação de um grande número de fenóis e compostos com anéis aromáticos que ocorrem naturalmente em tecidos de plantas. Normalmente, essas enzimas estão relacionadas a reações de oxidação que resultam na formação de compostos coloridos, mas também podem promover várias reações de biodegradação.

A determinação da atividade de peroxidase pode ser feita por espectrofotometria, usando o guaiacol e o peróxido de hidrogênio como substrato, onde o aumento da absorbância a 470 nm é medido em função do tempo (WHITAKER, 1994). A oxidação de aminas aromáticas como diaminobenzodina e *o*-dianisidina tem sido usada na determinação quantitativa de peroxidase (RICHARDSON & HYSLOP, 1985).

As peroxidases de diferentes fontes contêm um grupo prostético heme (Fe<sup>3+</sup> protoporfirínico) e possuem uma variedade de funções biossintéticas degradativas, usando o peróxido de hidrogênio como aceptor de elétrons (DAWSON, 1988).

## 2.2.1 - Peroxidase em manga

Prabha & Patwardhan (1986) utilizaram espectrofotometria em  $\lambda$  a 485nm para análise de atividade de peroxidase em pele e polpa de manga cv. Badami e observaram um mesmo perfil de atividade da enzima nos diferentes materiais estudados, onde ocorreu um aumento da atividade enzimática até a fruta atingir o climatério, diminuindo logo em seguida, o que ocasionou a formação de um pico de atividade durante o processo de maturação da manga.

Khan & Robinson (1993a) purificaram isoperoxidase aniônica (A1) em polpa de manga "Chaunsa" utilizando para o processo de purificação, coluna de Sephadex G-100, seguida de cromatografia de troca iônica em coluna de Q-Sepharose. O peso

molecular da isoperoxidase foi determinado através de filtração em gel de Sephadex G-100 e os padrões usados foram albumina bovina, ovoalbumina, crimotripsinogeno A e ribonuclease A. A determinação da atividade da enzima foi feita a 460 nm e 25°C, utilizando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e *o*-diannisidina como substrato. Os autores determinaram que a atividade de peroxidase no extrato bruto de polpa de manga foi de 3.500 U/ml/min. Após a purificação apenas a isoperoxidase aniônica foi obtida (A1), tendo peso molecular de 40 kDa.

Khan & Robinson (1993b) purificaram uma pequena quantidade de isoperoxidases catiônicas e aniônicas de manga "Chaunsa" e verificaram a estabilidade térmica das mesmas. A purificação foi feita submetendo o extrato bruto a fracionamento com sulfato de amônio, filtração em Sephadex G-100 e em seguida, cromatografia de troca iônica. Foram purificadas três isoperoxidases catiônicas, além das aniônicas. A peroxidase do extrato bruto tem menor estabilidade térmica do que as isoperoxidases purificadas, que apresentaram alta atividade enzimática. Observaram também que peroxidase ionicamente ligada tem mais resistência ao calor que a peroxidase solúvel. Ressaltaram os autores que a inativação térmica seguiu um padrão não linear tanto nas isoperoxidases purificadas quanto no extrato bruto e que não houve regeneração de atividade após o tratamento térmico em ambos os casos.

Khan & Robinson (1994) purificaram isoperoxidases de polpa de manga "Chaunsa", com o objetivo de verificar a especificidade de doadores H<sup>+</sup> desta enzima na manga. Isoperoxidases aniônicas e catiônicas catalisaram a oxidação de guaiacol, *o*-dianisidina e 2,2-azino-bis-3-etil-benzotiazolina sulfonato (ABTS). Para a isoperoxidase

A1, o substrato *o*-dianisidina foi o melhor, enquanto que para a catiônica C1, o substrato mais eficiente onde a oxidação foi mais rápida foi o ABST. Foram purificadas 4 isoperoxidases (A1, A2, C1 e C2), das quais as aniônicas apresentaram maiores pesos moleculares (40 e 44 kDa para A1 e A2, respectivamente) que as catiônicas (22 e 27 kDa para C1 e C2, respectivamente).

Frylinck, Dubery & Schabort (1987) estudaram atividade de peroxidase em mangas irradiadas. A extração da enzima foi feita por precipitação com acetona e redissolução em tampão fosfato, seguida de centrifugação. A atividade da enzima foi medida no sobrenadante a 420 nm após 2 minutos a 30°C. Observaram que a irradiação de manga com raios γ resultou em ativação da atividade da peroxidase, a qual aumentou continuamente durante o amadurecimento até o máximo do climatério quando então a atividade tendeu ao declínio. Os autores atribuíram o aumento da atividade da peroxidase devido à produção de peróxidos causada pela irradiação.

Marin & Cano (1992) estudaram a atividade de peroxidase em polpa de manga cultivares Lippens e Smith e relataram aumento da atividade até o climatério da fruta. Fizeram eletroforese das amostras em gel de poliacrilamida e encontraram diferentes perfis para as cultivares estudadas, detectando três isoperoxidases em polpa de manga "Smith" enquanto que na "Lippens" foram observadas quatro bandas adicionais àquelas já citadas.

### 3 - Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos são bastante diversificados e distribuídos em plantas superiores, sendo encontrados em frutas e verduras onde constituem um dos principais grupos de metabólitos secundários com uma gama de diferentes estruturas e funções, mas geralmente possuem um anel aromático ligado a uma ou mais hidroxilas. Sua distribuição ocorre em todas as partes da planta, porém de forma quantitativa desigual, variando nos diferentes órgãos da mesma planta e ainda dentro de diferentes populações de uma mesma espécie (ROBARDS *et al.*, 1999).

Dietas fibrosas e ricas em polifenóis de verduras e frutas têm mostrado melhorar o metabolismo de lipídios e prevenir a oxidação de lipoproteína de colesterol de baixa densidade, a qual retarda o desenvolvimento de aterosclerose. Antioxidantes nutricionais de modo geral, especialmente as substâncias fenólicas podem prevenir a peroxidação lipídica. Pesquisas têm revelado que o baixo nível de antioxidantes no plasma acarreta alta mortalidade por aterosclerose coronária (GORISTEIN *et al.*, 1999).

Estudos epidemiológicos mostraram que muitos fito-nutrientes de frutas e verduras podem ser benéficos para o corpo humano, protegendo-o de doenças causadas por oxigênio e nitrogênio reativos (HALLIWELL, 1997), sendo assim, considerado importante o aumento do consumo de compostos antioxidantes durante a alimentação humana (SOONG & BARLOW, 2004; CIESLIK, GREDA & ADAMUS, 2006). Muitos compostos fenólicos são tidos como bons antioxidantes (ROBARDS *et al.*, 1999).

Uma vez tendo aflorado o interesse no aumento do consumo de moléculas antioxidantes na dieta humana, a indústria abriu caminho em busca de alimentos enriquecidos com antioxidantes. Antioxidantes sintéticos têm desvantagens com relação a antioxidantes naturais, uma vez que os sintéticos podem apresentar toxicidade ao organismo, requerem altos custos na produção e ainda têm menos eficiência que os naturais. Antioxidantes naturais podem ser encontrados amplamente distribuídos em diferentes espécies de plantas, como verduras, frutas e cereais e ainda em diferentes materiais vegetais tais como, óleos de semente, culturas cereais, culturas vegetais, verduras, frutas, folhas, raízes, especiarias e ervas, de onde já têm sido isolados (RAMARATHNAM *et al.*, 1995). Dentre várias culturas já estudadas apresentando moléculas antioxidantes já identificadas, está a manga (PURAVANKARA, BOGHRA & SHARMA, 2000; ANILA & VIJAYALAKSHMI, 2003; SOONG & BARLOW, 2004).

Uma substância antioxidante pode ser definida como composto ou substância química que inibe a oxidação ou, ainda como qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada a do substrato oxidável diminui ou inibe significativamente a oxidação do mesmo (GÓMEZ, 2003). Abdalla (1993) considera que do ponto de vista biológico, antioxidantes podem ser definidos como compostos que protegem sistemas biológicos contra os efeitos potencialmente danosos de processos ou reações que promovem a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares.

Devido à presença de estruturas de anéis conjugados e grupos hidroxila, muitos compostos fenólicos têm potencial função como antioxidantes sequestrando ânion

superóxido (ROBAK & DRYGLEWSKI, 1988), oxigênio singlete (HUNSAIN, CILLARD & CILLARD, 1987) e estabilizando radicais livres envolvidos em processos oxidativos. Anila & Vijayalakshmi (2003) ressaltaram que esses constituintes de verduras e frutas são importantes por estarem relacionados com a manutenção da saúde e proteção do corpo de doenças como o câncer, doenças cardiovasculares, entre outras.

Os compostos antioxidantes naturais têm sido isolados de diferentes partes de plantas tais como sementes, frutas, folhas e raízes. Esses antioxidantes podem funcionar como agentes redutores, como inibidores de radicais livres, como quelantes ou sequestrantes do oxigênio singlete e como desativadores de metais pró-oxidantes (KÄHKÖNEN *et al.*, 1999; RICE-EVANS *et al.*, 1995; PRATT, 1992).

As plantas têm excelentes propriedades antioxidantes e seus efeitos estão principalmente atribuídos aos constituintes fenólicos. De acordo com Ramanathan & Das (1993), compostos fenólicos, incluindo flavonóides, ácido tânico e ácido elágico são encontrados em plantas e apresentam elevada atividade antioxidante em diversos sistemas biológicos. Além disso, os compostos fenólicos de plantas podem reter ou retardar o início da oxidação lipídica, influindo tanto na decomposição de hidroperóxidos nos alimentos, como também, em tecidos animais (WETTASINGHE & SHAHIDI, 1999).

Frutas e verduras são uma das principais fontes de antioxidantes na dieta humana (SHUI & LEONG, 2004). Muitas pesquisas clínicas suportam o relato que o alto consumo de frutas e verduras é benéfico para controle de doenças, contribuindo positivamente para o retardo do envelhecimento celular e redução da taxa de mortalidade devido a doenças degenerativas, como câncer, doenças cardíacas,

inflamações, artrites, declínio do sistema imune, disfunção cerebral e cataratas (HALLIWELL, 1997; FESKANICH *et al.*, 2000; MICHELS *et al.*, 2000; LEONG & SHUI, 2002; SHUI & LEONG, 2004; MISHRA *et al.*, 2005). Tal fato pode ser atribuído principalmente aos antioxidantes contidos neles (SHUI & LEONG, 2004).

Um ponto interessante da atividade farmacológica dos polifenóis naturais é sua eficiência contra estresse oxidativo. Os polifenóis reduzem o estresse oxidativo, pois neutralizam radicais livres reativos gerando moléculas de baixa reação (MISHRA *et al.*, 2005).

### 3.1 - Compostos fenólicos em manga

Compostos fenólicos em manga vêm despertando interesse de pesquisadores há décadas, tendo sido alvo de estudos de vários grupos de pesquisadores. El Sissi & Saleh (1965) reportaram a presença de polifenóis em folhas de mangueira. Os autores estudaram a fração etérea do hidrolisado obtido a partir de extrato das folhas e detectaram quercetina e Kaempferol. A ocorrência dos ácidos gálico, *m*-digálico e *m*-tigálico, galotanino, quercetina, isoquercetina, ácido elágico e mangiferina foi observada em estudos feitos com a manga (EL ANSARI *et al.*, 1971).

Saeed, Karamalla & Khattab (1976) investigaram a presença de polifenóis em polpa de manga cultivares Alphonso, Kitchener e Abu Samaka, fizeram as extrações em duas etapas, usando mistura etanol-acetona numa primeira extração e em seguida

acetato de etila e as análises feitas em cromatografia de papel. Através da técnica utilizada foram observados vários pontos correspondentes aos compostos fenólicos e o mesmo padrão cromatográfico nas três variedades estudadas. Somente ácido gálico e galotanino foram comprovadamente identificados.

Larrauri *et al.* (1996) constataram que cascas de mangas apresentavam alto teor de polifenóis totais ao estudarem fibras dietéticas produzidas a partir das cascas da fruta. Larrauri, Rupérez & Saura-Calixto (1997) analisaram a atividade antioxidante dessas fibras comparando com a atividade de um antioxidante comercial (BHT) e de amostras de fibras comerciais, onde constataram que as fibras dietéticas das cascas de manga foram mais efetivas apresentando maior atividade antioxidante que o BHT e também que as fibras comerciais, as quais não exibiram nenhuma atividade antioxidante.

Goristein et al. (1999) mediram o conteúdo de fenóis totais e fibras contidas em manga madura "Keaw" e outras frutas tropicais. A manga, juntamente com goiaba e lichia se destacaram por apresentarem quantidade de polifenóis significantemente maior que as demais frutas testadas, bem como maior conteúdo fibroso e de ácido gálico. De acordo com os autores, os resultados mostraram que dentre as frutas estudadas, a manga destacou por apresentar alto potencial para ser utilizada em prevenção de aterosclerose.

Puravankara, Boghra & Sharma (2000) desenvolveram um método para extrair e isolar compostos antioxidantes de caroço da manga, principalmente compostos das classes fenólicas e fosfolipídicas. Através desse método isolaram seis compostos

fenólicos e oito fosfolipídicos, confirmados por cromatografia. Reportaram que os principais compostos fenólicos encontrados no caroço da fruta foram os ácidos gálico e elágico.

Arogba (2000) estudou a composição de polifenóis e suas propriedades associadas à enzima polifenol oxidase, em caroço de manga de origem nigeriana e relatou que antes do processo de hidrólise ácida, o ácido tânico e ácido gálico foram os polifenóis detectados em maior quantidade e numa concentração bem menor foi detectada a epicatequina. Após a hidrólise ácida foram detectados o ácido elágico, galocatequina, *n*-butil-cianidina e outros compostos não identificados.

Schieber, Ullrich & Carle (2000) caracterizaram polifenóis de purê de manga através da CLAE, com detector de arranjo diodo e espectrofotometria de massa. Fizeram primeiramente uma extração com acetona, seguida de fracionamento com acetato de etila. Identificaram cinco glicosídeos de quercetina e um glicosídeo de kaempferol, sendo o 3-galactodídeo, o flavonol mais predominante (22,1 mg/Kg de material). Entre os ácidos fenólicos, o gálico foi predominante (6,9 mg/Kg). Através do método utilizado a mangiferina foi detectada (4,4 mg/Kg). Os autores concluíram que a presença expressiva de carotenóides e polifenóis destacam a manga como rica fonte de antioxidantes.

O conteúdo fenólico foi também estudado por Sharma *et al.* (2001) no início da floração de diferentes cultivares de manga, Eldon, Sensation, Tommy Atkins, Langra, Dashehari, Amrapali, Mallika e Bhadauran. A análise foi feita pelo método reagente de Folin-Ciocalteau e foram detectadas grandes diferenças no teor de fenólicos totais entre

as variedades estudadas, atribuindo-se tal fato a diferenças genéticas existentes entre elas.

Núñez-Sellés *et al.* (2002) estudaram extratos de casca de manga cozidos a vapor de onde isolaram alguns compostos fenólicos, como ácido gálico, mangiferina, (+)-categuina (-)-epicateguina, ácido benzóico e propil éster de ácido benzóico.

Anila & Vijayalakshmi (2003) investigaram a ação antioxidante de compostos fenólicos de manga: a) em ratos hipercolesterolêmicos através da ingestão oral diária de uma dose de flavonóides; b) nas atividades das enzimas sequestrantes de radicais livres (catalase, glucatione peroxidase, superóxido desmutase e glucatione redutase) e; c) dos conteúdos de peróxido lipídico e glucatione reduzido. Os resultados mostraram aumento das atividades das enzimas sequestrantes de radicais livres e significante diminuição no conteúdo de peróxido lipídico nos animais tratados quando comparados com animais controle alimentados com a dieta normal.

Soong & Barlow (2004) estudaram o conteúdo fenólico em manga fazendo uma correlação entre atividade antioxidante, conteúdo fenólico de polpa e caroço de manga. A determinação do conteúdo fenólico foi através do reagente de Folin-Ciocauteu, com absorbância em 765 nm e o padrão fenólico usado para a curva de calibração foi o ácido gálico. Os resultados mostraram que a atividade antioxidante está diretamente relacionada ao conteúdo de compostos fenólicos, mostrando alta capacidade antioxidante no caroço, onde o teor de compostos fenólicos foi elevado e menor atividade antioxidante na polpa acompanhando a baixa concentração do conteúdo fenólico. De acordo com análises comparativas do teor de fenólicos totais e

consequentemente da capacidade antioxidante entre manga e outras frutas (jaca, abacate e tamarindo) estudadas pelo autor, a manga destacou-se como a de maior atividade antioxidante quando o caroço foi estudado e a segunda melhor, considerando a parte comestível.

Soong & Barlow (2005) usaram a técnica de CLAE com detector de arranjo de iodo para estudar alguns polifenóis em caroço de manga e identificaram ácido gálico e ácido elágico em grande quantidade. Os extratos etanólicos de caroço de manga foram submetidos à hidrólise térmica e ácida e ambos tratamentos mostraram eficientes para produzir ácido gálico e ácido elágico livres. Testes mostraram que os ácidos na forma livre têm uma atividade antioxidante maior do que na forma conjugada e, em adição, os autores sugerem a possibilidade do material em estudo ser fonte de ácidos elágico e gálico que podem ser usados como aditivos de alimentos ou como alimentos funcionais.

Berardini *et al.* (2005) verificaram a presença de polifenóis em casca de manga através de dois processos de liofilização do material. No primeiro processo a casca liofilizada foi diluída com ácido sulfúrico e os polifenóis foram adsorvidos com uma resina co-polimerisada de estireno-divinilbenzeno de onde os polifenóis foram recuperados com metanol e o eluente foi liofilizado. No segundo processo foi feita inicialmente uma extração de pectina usando o extrato bruto acrescido de etanol, onde a fase etanólica foi removida e os polifenóis ficaram na fase aquosa, sendo então adsorvidos pela resina, conforme descrito no primeiro processo. Os resultados mostraram o mesmo perfil dos polifenóis nos dois processos, mas maior eficiência quantitativa da extração de polifenóis pelo primeiro processo. A capacidade

antioxidante dos extratos foi testada e apresentou uma relação positiva com a quantidade de polifenóis, mostrando que casca de manga é uma interessante fonte de compostos benéficos à saúde.

Kondo, Kittikorn & Kanlayanarat (2005) analisaram a atividade antioxidante e moléculas antioxidantes em frutas tropicais, estudando compostos fenólicos e ácido ascórbico como antioxidantes. Os autores compararam a atividade antioxidante da polpa e casca da manga durante 20 dias de estocagem e observaram maior atividade na polpa do que na casca da manga e que essa atividade na polpa diminuiu conforme ocorreu o desenvolvimento da fruta.

## 3.2 - Mangiferina

O composto flavonóide mangiferina 1,3,6,7-tetrahidroxixantona-C<sub>2</sub>-β-D-glicosídeo (C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>11</sub>), é uma xantona derivada da *C*-glicosilxantona (ARITOMI & KAWASAKI, 1969; NONG *et al.*, 2005) que apresenta-se distribuída em plantas superiores, tais como as famílias Anacardiaceae e Gentianaceae, especialmente nas folhas e na casca (YOSHIMI *et al.*, 2001), sendo também encontrada em algumas samambaias (BENETT & LEE, 1989). Pode ser encontrada em diferentes partes da planta como raiz (DAI *et al.*, 2004), folha (EL SISSI *et al.*, 1965; YOSHIMI *et al.*, 2001) e fruta (SCHIEBER, ULLRICH & CARLE, 2000). El Sissi *et al.* (1965) fizeram estudo comparativo do teor de mangiferina em casca de manga e em folhas secas da mangueira e observaram que o conteúdo de mangiferina foi maior na casca.

Nott & Roberts (1967) elucidaram a estrutura molecular da *C*-glicosídeo mangiferina (Figura 4) isolada de manga.

**Figura 4.** Estrutura da mangiferina (1,3,6,7-tetrahidroxixantona-C2-β-D-glicosídeo) (NOTT & ROBERTS, 1967).

Estudos das propriedades farmacológicas de mangiferina revelaram que este flavonóide possui atividade antitumoral (YOSHIMI *et al.*, 2001), antiviral (GUHA, GLOSAL & CHATTOPADHYAY, 1996; LEIRO *et al.*, 2003); antioxidante (GARRIDO *et al.*, 2004; MISHRA *et al.*, 2005), antidiabética (GARCIA *et al.*, 2004), imunoprotetora (LEIRO *et al.*, 2004; MURUGANANDAN, LAL & GUPTA, 2005; MURUGANANDAN, SRINIVASAN & GUPTA, 2005) e atividade vascular modulatória (BELTRÁN *et al.*, 2004).

Relato tem mostrado que a mangiferina de diferentes fontes apresenta efeitos protetores, atuando sobre oxigênio reativo, em ambas condições, *in vitro* e *in vivo* (NÚÑEZ-SELLÉS *et al.*, 2002). Estudos clínicos objetivando analisar o potencial antioxidante da mangiferina têm sido apresentados (GARCIA *et al.*, 2002; LEIRO *et al.*,

2003; BELTRÁN *et al.*, 2004; LEIRO *et al.*, 2004; GARRIDO *et al.*, 2005; MISHRA *et al.*, 2005; ANDREU *et al.*, 2005ab).

Mishra *et al.* (2005) ao realizarem estudos *in vivo* da atividade da mangiferina extraída da manga observaram que o composto exibiu promissora atividade biológica, incluindo antioxidante, quimo-preventiva, imuno-moduladora, entre outras. A comparação da ação da mangiferina com radicais hidroxi e peroxi com a ação de outros antioxidantes melhor conhecidos mostrou que como um outro polifenol antioxidante, a mangiferina é um eficiente quelante de radical livre. Os autores concluíram que a eficácia da ação da mangiferina se dá por ela reagir oxidando radicais livres e convertendo-os em outros produtos menos reativos.

Murunganandan *et al.* (2005a) investigaram o efeito da mangiferina e sua ação no sistema imune mostrando que ela exibe um papel imunoprotetor. Outro estudo desenvolvido por Murunganandan *et al.* (2005b) foi da capacidade da mangiferina como potencial controlador de diabetes onde concluíram que o composto possui propriedades antidiabéticas, antihiperlipidêmica e antiaterogência, sugerindo o efeito benéfico do mesmo em tratamentos de *diabetes mellitus* associada com hiperlipidemia e complicações cardiovasculares relacionadas.

Já existem produtos contendo mangiferina em sua formulação utilizados em tratamentos fitoterápicos, cosméticos ou suplemento alimentar. Na China, a medicina tradicional chinesa tem como princípio o uso de preparados vegetais formulados para tratamentos, objetivando o aumento da ação terapêutica (DAI *et al.*, 2004). Um dos produtos utilizados é o *Zi-shen-pill* que é um preparado cuja formulação tem como

componente principal a mangiferina e este é utilizado em tratamentos de doenças da próstata e infecções do sistema urinário, onde se tem obtido resultado satisfatório após um período de tratamento (DAI et al., 2004), outros preparados usados na medicina chinesa contendo a mangiferina em sua composição são Sann-joong-kuey-jian-tang (LIN et al., 1996), Shiau-feng-saan (JONG et al., 2005) e Dang-guei-nian-tong-tang (JONG et al., 2005).

Em Cuba um produto a base de mangiferina, produzido em escala industrial tem sido estudado, o *Vimang*®. Este é um extrato aquoso obtido a partir de cocção de casca de manga (BELTRÁN *et al.*, 2004; GARRIDO *et al.* 2005), usado para melhorar a qualidade de vida de pacientes que sofrem de estresse (GUEVARA *et al.*, 1998). O *Vimang*® é uma mistura de componentes, como polifenóis, terpenóides, esteróides e micro-elementos (NÚÑEZ-SELLÉS *et al.*, 2002), porém a mangiferina é o principal polifenol presente (BELTRÁN *et al.*, 2004). Conforme Garrido *et al.* (2004), recentemente foi reportado o primeiro efeito analgésico e antiinflamatório do *Vimang*® em trabalhos realizados com ratos de laboratório em Cuba visando elucidar a ação desse produto.

Através desses estudos, fica apresentada a ação benéfica da mangiferina. Consequentemente o consumo da manga, seja como fruta *in natura* ou seus derivados, deve ser estimulado visando uma melhoria na qualidade de vida, considerando ser esta uma fruta de baixo custo e alta disponibilidade no mercado, o que a torna acessível à população independente da classe social.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, D. S. P. Antioxidantes: conceitos básicos e perspectivas terapêuticas. **ARS Curandi**, p. 141-164, 1993.

AINA, J. O.; OLADUNJOYE, O. O. Respiration, pectolytic activity and textural changes in ripening African mango (Irvingia gabonensis) fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 63, n. 4, p. 451-454, 1990.

ALI, Z. M.; ARMUGAN, S.; LAZAN, H. β-galactosidase and its significance in ripening mango fruit. **Phytochemistry**, v. 38, n. 5, p. 1109-1114, 1995.

ANDREU, G. L. P.; DELGADO, R.; VELHO, J. A.; CURTI, C.; VERCESI, A. E. Mangiferin, a natural occurring glucosyl xanthone, increases susceptibility of rat liver mitochondria to calcium-induced permeability transition. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 439, p.184-193, 2005a.

ANDREU, G. L. P.; DELGADO, R.; VELHO, J. A.; INADA, N. M.; CURTI, C.; VERCESI, A. E. *Mangifera indica* L. extract (Vimang) inhibits Fe<sup>2+</sup>-citrate-induced lipoperoxidation in isolated rat liver mitochondria. **Pharmacological Research**, v. 51, p. 427-435, 2005.

ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Antioxidant action of flavonoids from *Mangifera indica* and *Emblica officinalis* in hypercholesterolemic rats. **Food Chemistry**, v. 83, p. 569-574, 2003.

ARITOMI, M.; KAWASAKI, T. A new xanthone C-glusodise, position isomer of mangiferin, from anemarrhena asphodeloides bunge. **Tetrahedron Letters**, v. 12, p. 941-944, 1969.

AROGBA, S. S. Physical, chemical and functional properties of Nigerian mango (*Mangifera indica*) kernel and its processed flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 73, n. 3, p. 321-328, 1997.

AROGBA, S. S. Mango (*Mangifera indica*) kernel: chromatographic analysis of the tannin, and stability study of the associated polyphenol oxidase activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, n. 2, p. 149-156, 2000.

AROGBA, S. S.; AJIBOYE, O. L.; UGBOKO, L. A.; ESSIENETTE, S. Y.; AFOLABI, P. O. Properties of polyphenol oxidase in mango (*Mangifera indica*) kernel. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, p. 459-462, 1998.

BELTRÁN, A. E.; ALVAREZ, Y.; XAVIER, F. E.; HERMANZ, R.; RODRIGUEZ, J.; NÚÑEZ, A. J.; ALONSO, M. J.; SALAICES, M. Vascular effects of the *Mangifera indica* L. extract (Vimang). **European Journal of Pharmacology**, v. 499, p. 297-305, 2004.

BENDER, R. J.; BRECHT, J. Respiração e produção de etanol e de etileno em mangas armazenadas sob diferentes concentrações de dióxido de carbono e oxigênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 865-871, 2000.

BENETT, G. J.; LEE, H. H. Xanthones from Guttiferae. **Phytochemistry**, v. 28, p. 967-969, 1989.

BENJAMIN, N. O.; MONTGOMERY, M. W. Polyphenol oxidase of Royal an cherries: purification and characterization. **Journal of Food Science**, v. 38, p. 799-806, 1973.

BERARDINI, N.; KNÖDLER, M.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, *in press*, 2005.

BIALE, J. B. Synthetic and degradative process in fruti ripening. In: HAARD, N. F.; SALUNKHE, D. K. **Postharvest Biology and Handling of Fruits and Vegetables**, p. 8-18, 1975.

BLEINROTH, E. W. Caracterização de variedades de manga para industrialização. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 78p. 1976.

BLEINROTH, E. W., FIGUEIREDO, I. B.; VEIGA, A. A.; SOARES, N. B.; MEDINA, J. C.; SABINO, J. C. Avaliação de novas cultivares de manga para industrialização. I. Análise

das características físico-geométricas e químicas da matéria-prima. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 207-216, 1985.

BNDES. A cultura da manga: Desempenho no período 1961/2001. Rio de Janeiro, v. 17, n. 3, p. 3-68, 2003a.

BNDES. **A cultura da manga no Brasil**: Desempenho entre 1990 e 2001. Rio de Janeiro, v. 17, n. 3, p. 3-68, 2003b.

BRANCO, I. G. Estudo do comportamento reológico de misturas ternárias com sucos de manga, laranja e cenoura. Campinas, 2001, 163p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Padrões de identidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da União**. Brasília, 1999.

BRAVERMAN, J. B. S. Vitaminas. In: BRAVERMAN, J. B. S. Introduction a la Bioquimica de los Alimentos. Barcelona: Omega, cap. 14, p. 206-239, 1967.

BRITO, C. A. K. Estudo bioquímico das peroxidases brutas de abacaxi *Ananas comosus* (L.) *Merrill*: cultivar IAC Gomo-de-mel e clone IAC-1. Campinas, 2001, 81p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

BURNETTE, F. Peroxidase and its relation to flavor and quality: A review. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 1, p. 1-6, 1977.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carries on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and is functional characterization. **Food Science and Emerging Technologies**, *in press*, 2005.

CANO, M. P.; LOBO, M. G.; de ANCOS, B.; GALEAZZI, M. A. M. Polyphenol oxidase from spanish hermaphrodite and female papaya fruits (*Carica papaya* cv. Sunrise, solo group). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 3075-3079, 1996.

CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina C, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangifera indica* L.) var. Haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 211-217, 1998.

CARVALHO, C. R. L.; ROSSETO, C. J.; MANTOVANI, D. M. B.; MORGANO, M. A.; CASTRO, J. V.; BORTOLETTO, N. Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo Instituto Agronômico de Campinas comparadas a outras de importância comercial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 264-271, 2004.

CASTRILLO, M.; KRUGER, N. J.; WHATLEY, F. R. Sucrose metabolism in mango fruit during ripening. **Plant Science**, v. 84, n. 1, p. 45-51, 1992.

CHAZARRA, S.; CABANES, J.; ESCRIBANO, J.; GARCIA-CARMONA, F. Partial purification and characterization of latent polyphenol oxidase in iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 984-988, 1996.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA A. B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. FAEPE/ESAL, 543p., 1990.

CIESLIK, E.; GREDA, A.; ADAMUS, W. Contents of polyphenols in fruit and vegetables. **Food Chemistry**, v. 94, p.135-142, 2006.

DAI, R.; LI, K.; LI, Q.; BI, K. Determination of mangiferin, jateorrhizine, palmatine, berberine, cinnamic acid, and cinnamaldehyde in the Tradicional Chinese Medicinal preparation Zi-Shen Pill by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatographic Science**, v. 42, p. 207-210, 2004.

DAK, M.; VERMA, R. C.; SHARMA, G. P. Flow characteristics of juice of "Totapuri" mangoes. **Journal of Food Engineering**, *in press*, 2005.

DAWSON, J. H. Probing structure – function relations in heme – containing oxygenases and peroxidases. **Science**, v. 240, p. 433-439, 1988.

DUNDFORD, H. B. Horseradish peroxidase: structure and kinetic properties. In: EVERSE, E. K & GRISHAM, M. B. (Ed.) **Peroxidases in Chemistry and Biology**. Boston, CRC-PRESS, v. 2, cap.1, p. 1-24, 1991.

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

EL SISSI, H. I.; SALEH, N. A. M. Phenolic components of *Mangifera indica* (Part II). **Planta Medica**, v. 13, p. 346-352, 1965.

EL SISSI, H. I.; SALEH, N. A. M.; EL SHERBEINY, A. E. A.; EL ANSARI, M. A. I. Local plants as potential sources of taninos and the isolation of their free and combined sugars. **Qualitas plantarum et materiae vegetabiles**, v. 12, p. 262-268, 1965.

EL-ZOGHBI, M. Biochemical changes in some tropical fruits during ripening. **Food Chemistry**, v. 49, n.1, p. 33-37, 1994.

ESCRIBANO, J.; CABANES, J.; CHAZARRA, S.; GARCIA-CARMONA, F. Characterization of monophenolase activity of table beet polyphenol oxidase. Determination of cinetic parameters on the tyramine/dopamine pair. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 4209-4214, 1997.

ESKIN, M. N. A. Biochemistry of food spoilage: Enzymatic browning. In: ESKIN, M. N. A. **Biochemistry of Foods**. 2.ed. San Diego: Academic Press, Inc., p. 401-432, 1990.

EVANGELISTA, R. M. Qualidade de manga "Tommy Atkins" armazenadas sob refrigeração e tratadas com cloreto de cálcio pré-colheita. Lavras, 1999, 129p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Lavras (UFLA).

FAOSTAT. **FAO Statistical Databases**. Food and Agriculture Organization, Rome, 2001.

FAOSTAT. **FAO Statistical Databases**. Agriculture. <a href="http://apps.fao.org">http://apps.fao.org</a>, 2002. Acessado em janeiro, 2005.

FAOSTAT. **FAO Statistical Databases**. Agriculture. <a href="http://apps.fao.org">http://apps.fao.org</a>, 2005. Acessado em janeiro, 2006.

FARIA, A. J. B.; CAVALCA, M. M.; FERREIRA, R. C.; JANZANTI, N. S. Transformações enzímicas das substancias pécticas da manga (*Mangifera indica* L.) cv. Haden no escurecimento. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.14, n. 2, p. 189-201, 1994.

FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. Uso analítico de tecidos e extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 455-464, 2002.

FERRER, R. E. N. Avaliação das características da polpa da manga (*Mangifera indica* L.) para elaboração e armazenamento de néctar. Viçosa, 1987, 60p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa (UFV).

FESKANICH, D.; ZIEGLER, R. G.; MICHAUD, D. S.; GIOVANUCCI, E. L.; SPEIZER, F. E.; WILLETT, W. C.; COLDITZ, G. A. Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, p. 1812-1823, 2000.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 1997. 307p.

FRUPEX – **Manga para exportação: Aspectos técnicos da produção**. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária e Secretaria de Desenvolvimento Rural – SDR, Banco do Brasil. EMBRAPA, 1994.

FUCHS, Y.; PESIS, E.; ZAUBERMAN, G. Changes in amylase activity, starch and sugars contents in mango fruit pulp. **Scientia Horticulturae**, v. 13, n. 2, p. 155-160, 1980.

FRYLINCK, L.; DUBERY, I., A.; SCHABORT, J. C. Biochemical changes involved in stress response and ripening behavior of  $\gamma$ -irradiated mango fruit. **Phytochemistry**, v. 26, n. 3, p. 681-686, 1987.

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.

GARCIA, M. G.; LAIME, S. G.; LEÓN, A. A.; MONTALVO, A. R.; GARRIDO, G. G.; NUÑES-SELLÉS, A. J. Uso etnomédico de la corteza de *Mangifera indica* L. en Cuba. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 9, n. 1, p. 1-5, 2004.

GARRIDO, G.; GONZÁLEZ, D.; LEMUS, Y.; GARCÍA, D.; LODEIRO, L.; QUINTERO, G.; DELPORTE, C.; NÚÑEZ-SELLÉS; DELGADO, R. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG®). **Pharmacological Research**, v. 50, p. 143-149, 2004.

GARRIDO, G.; GONZÁLEZ, D.; LEMUS, Y.; DELPORTE, C.; DELGADO, R. Protective effects of a standard extract of *Mangifera indica* L. (VIMANG) against mouse ear edemas and its inhibition of eicosanoid production in J774 murine macrophages. **Phytomedicine**, in press, 2005.

GEIDA – Contribuição ao desenvolvimento da Agroindústria. **Manga**. vol. II, Ministério do Interior, 100p., 1917.

GÓMEZ, M. E. D. B. Modulação da composição de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa. São Paulo, 2003, 142p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade de São Paulo (USP).

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

GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; SWANSON, B. G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Inhibition of polylhenoloxidase in mango puree with 4-hexylresorcinol, cysteine and ascorbic acid. **Lebensmittel-Wissenschaft U.-Technologie**, v. 38, p. 625-630, 2005.

GUEVARA, G. M.; TAMAYO, B. D.; GONZÁLEZ, S. L.; PAEZ, B. E.; OCEGUERA, J. NÚÑEZ'SELLÉS, A. J. Ethnopharmacologic study of *Mangifera indica* L. extract (QF-808). **Abstract of 1st International Congress Pharmacology**, La Habana, p. 45, 1998.

GUHA, S.; GLOSAL, S.; CHATTOPADHYAY, U. Antitumor, immunomodulatory and anti HIV effect of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone. **Chemoterapy**, v. 42, p. 443-451, 1996.

HAARD, N. F. Physiology cal roles of peroxidase in postharvest fruits and vegetables. In: ORY, R. L.; S.t ANGELO, A. T. (eds.) **Enzymes in Food an Beverages Process**, A. C. S. Symposium series, cap. 9, p. 143-171, 1977.

HAHN, F. Mango firmness sorter. **Biosystems Engineering**, v. 89, n. 3, p. 309-319, 2004.

HALLIWELL, B. Antioxidants and human disease: A general introduction. **Nutrition Reviews**, v. 55, p. 44-52, 1997.

HAMMER, F. E. Oxiredutases. In: NAGODAWITHANA T.; REED, G. (ed.) **Enzymes in food processing**, academic press, p. 333-343, 1993.

HULME, A. C. The mango. **The biochemistry of fruits and their products**. 2. ed. London: Academic Press, v. 2, p. 233-234, 1974.

HUNSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonóides. **Phytochemistry**, v. 26, p. 2489-2491, 1987.

HYMAVATHI, T. V.; KHADER, V. Carotene, ascorbic acid and sugar content of vacuum dehydrated ripe mango powders stored in flexible packaging material. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 181-192, 2005.

IAGLER, F.; REICHER, F.; GANTER, J. L. M. S. Structural and rheological properties of polysaccharides from mango (*Mangifera indica* L.) pulp. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, n. 1, p. 9-17, 2002.

IBGE – Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Banco de dados agregados. http://sidra.ibge.gov.br/bda, 2004. Acessado em dezembro, 2004.

ITAL, Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Manga: da cultura ao processamento e comercialização**, Campinas, 399p. 1981. (Revista de Frutas Tropicais, n. 8).

JAGTIANI, J.; CHAN JR, H. T.; SAKAI, W. S. **Tropical Fruit Processing**. San Diego, 184., 1988. (Food Science and Technology).

JHA, S. N.; KINGSLY, A. R. P.; CHOPRA, S. Physical and mechanical properties of mango during growth and storage for determination of maturity. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 1, p. 73-76, 2006.

JONG, T. T.; LEE, M. R.; CHIANG, Y. C.; CHIANG, S. T. Using LC/MS/MS to determine matrine, oxymatrine, ferulic acid, mangiferina, and glycyrrhizin in the Chinese medicinal preparations Shiau-feng-saan and Dang-guei-nian-tong-tang. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, in press, 2005.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 3954-3962, 1999.

KATWA, L. C.; RAMAKRISHNA, M.; RAGHAVENDRA RAO, M. R. Purification and properties of polyphenol oxidase from mango peel (*Mangifera indica* var. Raspuri). **Journal of Food Biochemistry**, v. 6, p. 217-228, 1982.

KAVATI, R., PIZA JR., C. T. **Manual das Culturas CATI – Manga (***Mangifera indica* **L.)**. http://www.cati.sp.gov.br, 2000. Acessado em agosto, 2000.

KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. The thermostability of purified mango isoperoxidases. **Food Chemistry**, v. 47, n. 1, p. 53-59, 1993a.

KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. Purification of an anionic peroxidase isoenzyme from mango (*Mangifera indica* L. var. Chaunsa). **Food Chemistry**, v. 46, n. 1, p. 61-64, 1993b.

KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases. **Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 407-410, 1994.

KOLEKAR, T. G. Shelf-life extension of Alphonso mangoes by surface coating of sucrose ester. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 35, n. 1, p. 44-47, 1992.

KONDO, S.; KITTIKORN, M.; KANLAYANARAT, S. Preharvest antioxidant activities of tropical fruit and the effect of low temperature storage on antioxidants and jasmonates. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, p. 309-318, 2005.

KRAMER, A. Fruits and vegetables In: TWIGG, B. A. Quality Control for Food Industry. Connecticut: AVI Publishing Company, v. 2, p. 157-227, 1973.

LAKSHIMINARAYANA, S. Mango. In: NAGY, S.; SWAW, P.E. **Tropical and Subtropical Fruits**. Westport: AVI Publishing, INC. p. 157-184, 1980.

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

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO F. Mango peels fibers with antioxidant activity. **Zeitschrift für Lebensmittel - Untersuchung und-Forschung A,** v. 205, n.1, p. 39-42, 1997.

LEE, Y. C.; HAMMES, J. K. Heat inativation of Peroxidase in corn on the cob. **Journal** of Food Science, v. 44, n. 3, p. 785-787, 1979.

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

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

LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, v. 76, n. 1, p. 69-75, 2002.

LIMA, L. C. O. Bioquímica das transformações de manga "Tommy Atkins" na ocorrência de colapso interno tipo "spongy tissue". Lavras, 1997, 147p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Lavras (UFLA).

LIN, S. J.; TSENG, H. H.; WEN, K. C. SUEN, T. T. Determination of gentiopicroside, mangiferin, palmatine, berberine, baicalin, wogonin and glycyrrhizin in the traditional Chinese medicinal preparation Sann-Joong-Kuey-Jian-Tang by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 730, p. 17-23, 1996.

LIZADA, C. Mango. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (ed.) **Biochemistry of fruit ripening,** London: Chapman & Hall, cap. 8, p. 255-266, 1993.

LUCAFÓ, B. H. S.; BOTEON, M. Potencial da manga brasileira no mercado internacional. In: **III Congresso Internacional de Economia e Gestão de Negócios** (Networks) Agroalimentares, Ribeirão Preto, 2001. CD-ROM.

MALEVSKI, Y.; GÓMEZ BRITO, L.; PELEG, M.; SILBERG, M. External color as maturity index of mango. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 5, p. 1316-1318, 1977.

MARANCA, G. Manga. In: MARANCA, G. Fruticultura Comercial: Manga e Abacate (3ed.). Editora Livraria Nobel, p. 13-61, 1978.

MARIN, M. A.; CANO, M. P. Patterns of peroxidase in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruits. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 3, p. 690-692, 1992.

MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, p. 195-200, 1995.

MEDINA, J. C.; BLEINROTH, E. W.; de MARTIN, Z. J.; QUAST, D. G.; HASHIZUME, T.; FIGUEIREDO, N. M. S.; CANTO, W. L.; BICUDO NETO, L. C. **Manga – da cultura ao processamento e comercialização.** Instituto de Tecnologia de Alimento, Campinas (Série Frutas Tropicais, n. 8), 1981.

MEDLICOTT, A. P.; REYNOLDS, S. B.; THOMPSON A. K. Effects of temperature on the ripening of mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 37, n. 5, p. 469-474, 1986.

MEDLICOTT, A. P.; THOMPSON A. K. Analysis of sugars and organic acid in ripening mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Keitt) by high performance liquid chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 36, p. 561-566, 1985.

MERCADANTE, A. Z.; RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B.; BRITTON, G. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 120-123, 1997.

MICHELS, K. B.; GIOVANNUCCI, E.; JOSHIPURA, K. J.; ROSNER, B. A.; STAMPFER, M. J.; FUCHS, C. S.; COLDITZ, G. A.; SPEIZER, F. E.; WILLETT, W. C. Prospective study of fruit and vegetables consumption and incidence of colon and rectal cancers. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, p. 1740-1752, 2000.

MILLER, W. R., HALE, P. W.; SPALDING, D. H.; DAVIS, P. Quality and decay of mango fruit wrapped in heat-skrinkable film. **HortScience**, v. 18, n. 6, p. 957-958, 1983.

MISHRA, B.; INDIRA-PRIYADARSINI, K.; SUDHEERKUMAR, M.; UNNIKRISHHNAN, M. K.; MOHAN, H. Pulse radiolysis studies of mangiferin: A *C-glycosyl* xanthone isolated from *Mangifera indica*. **Radiation Physics and Chemistry**, in press, 2005.

MORGA, N. S.; TUNAC, M. M.; BALAGOT, A. H.; SORIANO, M. R. Physico-chemical changes in Philippine Carabao mangoes during ripening. **Food Chemistry**, v. 4, n. 3, p. 225-234, 1979.

MURUGANANDAN, S.; LAL, J.; GUPTA, P. K. Immunotherapeutic effects of mangiferin mediated by the inhibition of oxidative stress to actived lymphocytes, neutrophils and macrophages. **Toxicology**, v. 215, p. 57-68, 2005.

MURUGANANDAN, S.; SRINIVASAN, K.; GUPTA, P. K. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 497-501, 2005.

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

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

NÚÑEZ-SELLÉS A. J.; VELEZ-CASTRO, H. T.; AGUERO-AGÜERO, J. GONZALEZ-GONZALEZ, J.; NADDEO, F.; DE SIMONE, F.; RASTELLI, L. Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars, and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as nutritional supplement. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 762-766, 2002.

PARK, Y. K.; SATO, H. H.; ALMEIDA, T. D.; MORETTI, R. H. Polyphenol oxidase of mango (*Mangifera indica* var. Haden). **Journal of the Food Science**, v. 45, p. 1619-1621, 1980.

PELEGRINE. D. H.; SILVA, F. C.; GASPARETTO, C. A. Rheological behaviour of pineapple and mango pulps. **Lebensmittel-Wissenschaft U-Technologie**, v. 35, p. 645-648, 2002.

PINTO, A. C. Q. Genética e melhoramento de mangueira – sinopse. In.: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; MARTINS FILHO, J. *et al.* **Manga: tecnologia da produção e mercado**. Vitória da Conquista –Ba: DZF/UESB, p. 7-15, 1996.

POTT, I.; NEIDHART, S.; MÜHLBAUER, W.; CARLE, R. Preservation of essential micronutrients in mango (*Mangifera indica* L.) and lychee fruits (*Litchi chinensis* Sonn.)

by drying. International Symposium Sustaining Food Security and Managing Natural Resources in Southeast Asia - Challenges for 21<sup>st</sup> Century, 2002.

POTT, I.; NEIDHART, S.; MÜHLBAUER, W.; CARLE, R. Quality improvement of non-sulphited mango slices by drying at high temperatures. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, in press, 2005.

PRABHA, T. N.; PATWARDHAN, M. V. Polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzyme activities and their isoenzyme patterns in ripening fruits. **Acta Alimentaria**, v. 15, n. 3, p. 199-207, 1986.

PRATT, D. E. Natural antioxidants from plant material. In: HUANG, M. T.; HO, C. T.; LEE, C. Y. **Phenolic compounds in food and their effects on health**. Washington: American Chemical Society, p. 54-71, 1992.

PURAVANKARA, D.; BOGHRA, V.; SHARMA, R. S. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica* L) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butter-fat). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 522-526, 2000.

RAMANATHAN, L.; DAS, N. P. Natural products inhibit oxidative rancidity in salted cooked ground fish. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 2, p. 318-320, 1993.

RAMARATHNAM, N.; OSAWA, T.; OCHI, H.; KAWAKISHI, S. The contribution of plant food antioxidants to human health. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, p. 75-82, 1995.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; BOLWELL, P. G. BRAMLEY, P. M., PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoides. **Free Radical Research**, v. 22, n. 4, p. 375-383, 1995.

RICHARDSON, T.; HYSLOP, D. B. Enzymes. In: O. R. Fennema (Ed.) **Food Chemistry**, 2ed., p. 371-476, 1985.

ROBAK, J.; DRYGLEWSKI, R. J. Flavonoids are scavengers of superoxide anion. **Biochemical Pharmacology**, v. 37, p. 83-88, 1988.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruit. **Food Chemistry**, v. 66, n. 4, p. 401-436, 1999.

ROE, B.; BRUEMMER, J. H. Changes in pectic substances and enzymes during ripening and storage of "Keitt" mangos. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 1, p. 186-189, 1981.

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

SANTOS, E. R. Caracterização bioquímica de peroxidase e da polifenoloxidase de açaí (*Euterpe oleracea*). Campinas, 2002, 104p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

SCHIEBER, A.; ULLRICH, W.; CARLE, R. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detenction. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 1, p. 161-166, 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 liquid chromatography-eletrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5006-5011, 2003.

SELVARAJ, Y.; KUMAR, R. Studies on fruit softening enzymesand polyphenol oxidase activity in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. **Journal of Food Science and Technology**, v. 26, n. 4, p. 218-222, 1989.

SEYMOUR, G. B.; N'DIANE, M.; WAINWRIGHT, H.; TUCKER, G. A. Effects of cultivar and harvest maturity on ripening of mangoes during storage. **Journal of Horticultural Science**, v. 65, n. 4, p. 479-483, 1990.

SHARMA, R. R.; GOSWAMI, A. M.; SINGH, C. N.; CHHONKAR, O. P.; SINGH, G. Cathecolase and cresolase activities and phenolic content in mango (*Mangifera indica* L.) at panicle initiation. **Scientia Horticulturae**, v. 87, p. 147-151, 2001.

SHUI, G; LEONG, L. P. Analysis of polyphenolic antioxidants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1022, p. 67-75, 2004.

SIDDIQ, M.; ARNOLD, J. F.; SINHA, N. K.; CASH, J. N. Effect of polyphenol oxidase and its inhibitors on anthocyanin changes in plum juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 18, p. 75-84, 1994.

SILVA, A. C. Botânica da mangueira. In.: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; MARTINS FILHO, J. *et al.* **Manga: tecnologia da produção e mercado**. Vitória da Conquista – Ba: DZF/UESB, p. 7-15, 1996.

SIQUEIRA, D. L.; BOTREL, N., CARVALHO, V. D.; RAMOS, V. H. V.; COUTO, F. A. D. Características físicas e químicas de frutos de vinte cultivares de mangueira (*Mangifera indica*) em Uberaba – MG. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 10, n. 2, p. 49-54, 1998.

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

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lourr.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. **Food Chemistry**, in press, 2005.

SOUZA, J. S.; ALMEIDA, C. O.; ARAÚJO, J. L. P.; CARDOSO, C. E. L. Aspectos socioeconômicos. In: GENÚ, P. J. C.; PINTO, A. C. Q. (Ed.) **A cultura da mangueira**. Brasília: Embrapa, p. 20-29, 2002.

STAFFORD, A. E. Mango In: CHAN, H. T. J. (ed.) **Handbook of Tropical Foods**. New York: Marcel Dekker, p. 399-431, 1983.

SUGAI, A. Y. Processamento descontínuo de purê de manga (*Mangifera indica* Linn.), variedade Haden: estudo da viabilidade do produto para pronto consumo. São Paulo, 2002, 82p. Dissertação (Mestrado em Engenharia), Escola Politécnica - Universidade de São Paulo (USP).

TANDON, D. K.; KALRA, S. K. Changes in sugars, starch and amylase activity during development of mango fruit cv. Dashehari. **Journal of Horticultural Science**, v. 58, n. 3, p. 449-453, 1983.

TOREZAN, G. A. P. Tratamento enzimático em suco de manga (*Mangifera indica* L. cv. Keitt) para redução dos teores de sacarose e glicose e obtenção de geléia através de processo contínuo. Campinas, 2000, 158p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

TUCKER, G. A. Introduction. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (ed.) **Biochemistry of fruit ripening,** London: Chapman & Hall, cap. 1, p. 255-266, 1993.

USP — Universidade de São Paulo. Frutas: Proteção Confiável. Disponível em <a href="http://educar.sc.usp.br/licenciatura/1999/manga.html">http://educar.sc.usp.br/licenciatura/1999/manga.html</a>, 1999. Acessado em março 2003.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **CRC** – **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 15, p. 49-127, 1981.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L.; NÁDUDVARI-MÁRKUS, V. Enzymatic browning, polyphenol content, polyphenoloxidase and peroxidase activities in pear cultivars. **Acta Alimentaria**, v. 11, p. 157-160, 1982.

VAZQUEZ-SALINAS, C. LAKSMINARAYANA, S. Composition changes in mango fruits during ripening at different storage temperatures. **Journal of Food Science**, v. 50, n. 6, p. 1646-1648, 1985.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195-198, 2000.

VILAS-BOAS, B. M.; NUNES, E. E.; FIORINI, F. V. A.; LIMA, L. C. O. VILAS-BOAS, E. V. B.; COELHO, A. H. R. Avaliação de qualidade de mangas "Tommy Atkins" minimamente processadas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 540-543, 2004.

WESCHE-EBELING, P.; MONTGOMERY, M. W. Strawberry polyphenoloxidase: extraction and partial characterization. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 5, p. 1320-1351, 1990a.

WESCHE-EBELING, P.; MONTGOMERY, M. W. Strawberry polyphenoloxidase: purification and characterization. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 5, p. 1320-1351, 1990b.

WETTASINGHE M.; SHAHIDI F. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 67, p. 399-414, 1999.

WHITAKER, J. R. Catalase and Peroxidase. In: WHITAKER, J. R. Principles of Enzymology for The Food Sciences (2ed.), v. 26, p. 565-577, 1994.

WILLS, R. B.; LEE, T. H.; GRAHAM, D.; McGLASSON, W. B.; HALL, E. G. Temperature. In: **Postharvest physiology, handling of fruits and vegetables**, p. 39-51, 1981.

YANRU, Z.; PANDEY, M.; PRASAD, N. K.; SRIVASTAVA, G. C. Ripening associated changes in enzymes and respirative activities in three varieties of mango (*Mangifera indica* L.). **Indian Journal Plant Physiology**, v. 38, n. 1, p. 73-6, 1995.

YASHODA, M. H.; PRABHA, T. N.; THARANATHAN, N. Mango ripening – chemical and structural characterization of pectina and hemicellulosic polysaccarides. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 1335-1342, 2005.

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

ZAWISTWSKI, J.; BILIADERIS, C. G.; ESKIN, N. A. M. **Oxidative Enzymes in Foods**. London e New York: Elsevier Applied Science, cap. 6, p. 217-273, 1991.

CAPÍTULO 2

Composição química da polpa de manga (*Mangifera indica* L. cv. Tommy

Atkins) em três estádios de maturação

Andréia C. S. AZEVEDO; Gláucia M. PASTORE

**RESUMO** 

O objetivo desse trabalho foi avaliar a composição centesimal e teor de vitamina C em

polpas de manga (Mangifera indica cv. Tommy Atkins) em três diferentes estádios de

maturação. Quatro diferentes lotes de manga foram analisados nos estádios de

maturação verde, "de vez" e maduro. A coloração da casca, consistência da polpa, pH,

acidez titulável total e sólidos solúveis totais foram parâmetros usados como indicadores

do estádio de maturação. Os resultados mostraram que a maturação contribuiu para o

aumento do teor de açúcares totais de 6,30% em frutos verdes para 12,91% em

maduros. O teor de umidade reduziu de 87,47% em frutos verdes para 82,71% em

maduros, assim como o teor de fibras que reduziu atingindo 0,67% nos frutos maduros.

Os resultados comprovaram que durante a maturação ocorreram modificações na

composição centesimal da manga e que compostos responderam de forma diferente ao

processo de amadurecimento da fruta.

Palavras-chave: maturação, manga, composição química, vitamina C

**SUMMARY** 

67

The objective of this study was to evaluate the centesimal composition and the vitamin C

content in mango pulps (Mangifera indica cv. Tommy Atkins) in three different

maturation stadiums. Four different mango lots were analyzed in the stadiums of green,

half-green and ripe. The coloration of the peel, pulp consistence, pH, total titratable acid

and soluble solids were the parameters used to classify the fruits according maturation

stadium. The results showed that the maturation contributed to the increase of the total

sugar content from 6.30% in green fruits to 12.91% in ripe ones. The water content was

reduced from 87.47% in green fruits to 82.71% in ripe ones, and the fiber content was

reduced reaching 0.67% in the ripe fruits. The results proved that during the maturation

process the centesimal composition of the mango was altered and that the components

were differently effected by the ripening process of the fruit.

**Keywords:** maturation, mango, chemical composition, vitamin C

1 - INTRODUÇÃO

Nos últimos anos os mercados nacional e internacional mostraram um

interesse em alimentos com propriedades nutricionais, o que acarretou uma demanda

cada vez maior para o consumo de frutas e verduras.

Embora a composição da fruta apresente variação dependendo da cultivar,

condições climáticas, maturação, estocagem, entre outros fatores, os principais

constituintes que fazem parte da composição química da manga são água,

carboidratos, ácidos orgânicos, sais minerais, proteínas, vitaminas e pigmentos [9, 12,

19, 30].

68

Durante o desenvolvimento as frutas sofrem sucessivas divisões celulares e alargamento celular, seguindo da pré-maturação, maturação, amadurecimento e finalmente, senescência [13]. No processo de maturação estão envolvidas várias reações biológicas que são importantes para as características finais da fruta madura e para o seu aroma peculiar [38]. De um modo geral, ocorre durante o amadurecimento da fruta um aprimoramento dos atributos de qualidade, em especial, pigmentação, textura, aroma e sabor [5, 43, 13, 45, 47], proporcionando ao fruto características organolépticas desejáveis para o consumo [27, 37]. Essas alterações físico-químicas sofridas pela manga durante o amadurecimento devem ser observadas uma vez que podem ser úteis na definição das condições de armazenamento e processamento das frutas [40].

Com a maturação da manga ocorre o amolecimento da polpa [15, 21, 48], diminuição da acidez da manga [24], aumento do teor de sólidos solúveis [20] e do pH [11, 20, 32], alteração da coloração da polpa de amarelo claro para amarelo escuro ou laranja [20-22] e redução no teor de vitamina C [9, 16].

Este trabalho foi realizado com o objetivo de acompanhar as modificações ocorridas na composição centesimal da polpa de manga "Tommy Atkins" em função do processo de amadurecimento da fruta, analisando frutos verdes, "de vez" e maduros.

# 2 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 - Amostras

Foram analisados 4 lotes de manga (*Mangifera indica* cv. Tommy Atkins) adquiridos no CEASA de Campinas/ São Paulo. As frutas foram adquiridas no estádio verde de maturação, onde cada lote foi dividido em três partes, uma parte foi submetida às análises nos frutos ainda verdes, as outras duas partes foram armazenadas em temperatura ambiente até que as frutas atingissem a maturação "de vez" e totalmente madura, para então serem analisadas.

## 2.1.1- Preparo das amostras

As frutas foram higienizadas com sabão neutro e água potável, secas e descascadas para a separação da polpa.

Foram preparadas três amostras para cada estádio de maturação. Cada amostra fora obtida a partir da polpa homogeneizada de três frutas.

## 2.2 - Caracterização química da fruta

Todas as análises de caracterização química da manga foram realizadas em triplicata e os resultados foram determinados pela média dos quatro lotes de frutas analisados.

## 2.2.1 - Sólidos solúveis totais (SST)

A determinação do teor de sólidos solúveis totais foi realizada utilizando-se refratômetro, de acordo com método do Instituto Adolpho Lutz [18], sendo as leituras posteriormente corrigidas utilizando-se a tabela de correção à temperatura de 20°C. Os resultados foram expressos em ºBrix.

# 2.2.2 - Determinação do pH

A leitura do pH foi realizada em peagâmetro segundo o método da AOAC [1].

## 2.2.3 - Acidez total titulável (ATT)

A acidez total titulável foi determinada através da metodologia estabelecida pela AOAC [3], fazendo a titulação do filtrado com NaOH a 0,1 N. Os resultados foram expressos em % de ácido cítrico.

## 2.2.4 - Umidade

O teor de umidade foi determinado por gravimetria, utilizando estufa a vácuo a 70°C até peso constante da amostra [3].

### 2.2.5 - Cinzas

O teor de cinzas foi analisado de acordo com o método da AOAC [3], usando mufla a 550°C.

# 2.2.6 - Açúcares redutores e totais

O método utilizado para extração dos açúcares foi o Lane Enyon, citado pela AOAC [2], e para a determinação foi utilizado o método de Somogyi adaptado por NELSON [34].

### 2.2.7 - Proteínas

A determinação de proteínas foi realizada através do método Kjeldahl, segundo AOAC [3], usando o fator geral de conversão para proteína de 6,25.

### 2.2.8 – Gorduras

A determinação do teor de gorduras foi feita de acordo com o método descrito por BLIGH & DYER [8].

#### 2.2.9 - Fibras

O teor de fibras foi calculado pela diferença, considerando os dados obtidos para os atributos de composição centesimal obtidos pelas metodologias citadas anteriormente.

#### 2.2.10 - Vitamina C

O teor de vitamina C foi determinado através do método que se baseia na redução do 2,6-diclorofeno indofenol-sódico pelo ácido ascórbico, AOAC [1], modificado por BENASSI [4], que substitui o solvente extrator ácido metafosfórico por ácido oxálico. As polpas das frutas foram homogeneizadas em ácido oxálico, em seguida foram submetidas à agitação sob refrigeração (7-8°C/15 minutos) sob proteção de luz.

### 2.3 - Análise estatística

Foi realizada análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey utilizando-se o programa STATISTICA, STATSOFT [39]. Foram avaliadas as diferenças significativas (p<0,05) para os teores de cada composto analisado para os diferentes estádios de maturação.

## 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foi feita uma avaliação visual das frutas para determinar o estádio de maturação verde, "de vez" e maduro, adotando critérios relacionados à casca e polpa das mangas, conforme descrito na Tabela 1.

Os tempos médios que as mangas levaram para atingir os diferentes estádios de maturação foram de aproximadamente seis a oito dias.

**Tabela 1.** Estádios de maturação definidos em função das características da casca e polpa da manga "Tommy Atkins".

Maturação	Característica da casca e da polpa da manga					
Verde	Casca verde; polpa de cor amarela pálida e consistência firme.					
"De vez"	Casca amarela; polpa de cor amarela e consistência levemente macia.					
Madura	Casca de cor amarela escura, com pontos escuros, podendo apresentar sinais de enrugamento; polpa mole.					

Para confirmar o estádio de maturação da manga, valores de pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais foram utilizados (Tabela 2). Observa-se que a avaliação subjetiva da casca e polpa foi uma boa indicação para os estádios de maturação da manga, apresentando coerência com os dados apresentados na Tabela 2. MALEVSKI *et al.* [26] em estudos de coloração da casca de manga "Haden" com relação à maturação, concluíram que a cor da casca é um bom indicador do estádio de maturação de mangas.

Os resultados dos valores médios dos quatro lotes mostraram diferença estatística significativa (p<0,05) entre os estádios de maturação, considerando-se os parâmetros pH, acidez total titulável (ATT) e sólidos solúveis totais (STT) usados para determinação das fases de amadurecimento da manga. Conforme citado por KRAMER [23] a alteração da cor das frutas não é somente sinal da transformação de pigmentos na superfície, também está relacionada ao complexo de mudanças bioquímicas durante a maturação.

**Tabela 2.** Valores médios de pH, acidez total titulável (% de ácido cítrico/100 g) e sólidos solúveis totais (°Brix) da polpa de manga "Tommy Atkins".

	pH maturação das frutas			ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL maturação das frutas				SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS maturação das frutas		
Lotes	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura	
<b>1</b> <sup>a</sup>	3,01 a	4,12 a	5,44 a	2,05 a	1,27 a	0,32 a	8,40 b	12,73 a	18,33 a	
2 <sup>a</sup>	3,03 a	4,16 a	5,42 a	2,28 a	1,30 a	0,34 a	9,56 a	12,57 a	17,80 a	
3 <sup>a</sup>	3,07 a	4,19 a	5,36 a	2,40 a	1,17 a	0,33 a	9,56 a	12,73 a	16,63 b	
<b>4</b> <sup>a</sup>	3,06 a	4,21 a	5,46 a	2,21 a	1,33 a	0,37 a	9,73 a	12,00 a	15,60 с	
Média <sup>b</sup>	3,04 c	4,17 b	5,42 a	2,24 a	1,27 b	0,34 c	9,31 c	12,51 b	17,09 a	
DP °	0,03	0,04	0,04	0,15	0,07	0,02	0,61	0,35	1,22	

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>c</sup> Estimativa do desvio padrão.

O pH apresentou elevação durante todo o período de análise. Em mangas verdes o pH médio foi de 3,10, aumentando gradativamente para um valor médio de 4,17 em mangas "de vez" e alcançando 5,42 em mangas maduras. EVANGELISTA [12] encontrou pH 3,64 em "Tommy Atkins" após 35 dias de armazenamento à baixa temperatura (10°C). MEDLICOTT *et al.* [31] obtiveram semelhante valor de pH para a

mesma cultivar armazenada a 12, 17 e 22°C, quando o processo de armazenagem foi realizado em temperaturas mais elevadas (27, 32 e 37°C), os valores de pH foram 4,9; 4,8 e 4,6, respectivamente. Valor inferior de pH em manga "Tommy Atkins" madura (4,29) foi mencionado por BLEINROTH *et al.* [7]. Alguns estudos em manga madura "Keitt" apresentaram pH 4,24 [7], 3,69 [36], 6,2 [44] e variação de pH de 3,10 para 4,30 durante nove dias de armazenamento [32]. Valores inferiores aos encontrados neste trabalho foram descritos também em manga "Keitt", variando o pH de 3,33 a 3,69 em frutas verdes e maduras, respectivamente [16].

Aumento durante a maturação foi observado também no teor de SST que inicialmente foi de 9,52°Brix, alcançando nas frutas "de vez" e madura valores de 12,51 e 17,10°Brix, respectivamente. EVANGELISTA [12] também verificou aumento de SST durante o amadurecimento em mangas da mesma cultivar, apresentando valores de 6,85 para 13,37°Brix e HERNÁNDEZ, LOBO & GONZÁLEZ [16] acompanharam aumento no SST durante o amadurecimento de mangas "Keitt" determinando valores de 3,73 para 12,2°Brix. BLEINROTH *et al.* [7] e SIQUEIRA *et al.* [36] determinaram em mangas "Tommy Atkins" maduras valores de 15,60 e 13,9°Brix, respectivamente. Dados inferiores foram obtidos para outras cultivares de manga tais como "Lippens" e "Smith" [29] e "Dashehari" [21] e valores superiores foram determinados em mangas "Keitt" por BLEINROTH *et al.* [7] e VAZQUEZ-SALINAS & LAKSMINROYANA [44] apresentando valores de 17,80 e 19,9°Brix, respectivamente.

Os SST são usados como indicadores de maturidade e também determinam a qualidade da fruta, exercendo importante papel no sabor [46]. O aumento dos SST

pode estar relacionado à perda de água durante o amadurecimento da manga. Em frutas, existe uma relação entre o aumento do valor de pH e o início do decréscimo da ATT, e pode considerar esse momento como início da fase de amadurecimento da fruta [25].

Diferente do pH e SST, a ATT apresentou um decréscimo contínuo com valor médio de 2,24% em frutas verdes, caindo para 1,22% em frutas "de vez", até atingir 0,33% em frutas maduras. Valores próximos, em mangas da mesma cultivar, foram encontrados por BLEINROTH *et al.* [7] e SIQUEIRA *et al.* [36], 0,38% e 0,21%, respectivamente. Em mangas "Keitt", foi determinada ATT de 0,28% [7] e 0,57% [36]. LAKSHMINARAYANA [24] afirmou que a acidez diminui durante o processo de amadurecimento de mangas, mas que algumas cultivares mantém o teor de acidez elevado nas frutas quando maduras, como é o caso da cultivar Alphonso que apresenta 3% de acidez titulável, já em "Tommy Atkins", o autor relatou baixa acidez variando de 0,5 a 1,0%, com predomínio do ácido cítrico seguido pelos ácidos málico e oxálico.

Esse decréscimo de ATT é esperado no processo de amadurecimento de frutas e pode ser resultante da ativação da degradação de ácidos, da inibição da síntese e da transformação em açúcares [35]. Segundo HULME [17], durante o amadurecimento ocorre a diminuição do teor de ácidos orgânicos na maioria das frutas tropicais, pois esses ácidos são utilizados no ciclo de Krebs durante o processo respiratório.

As Tabelas 3, 4 e 5 mostram os resultados obtidos nas determinações realizadas para a composição centesimal em manga "Tommy Atkins" nos estádios de maturação verde, "de vez" e maduro.

Ao longo do período de amadurecimento houve diferença significativa (p<0,05) para o teor de açúcares totais e redutores entre os três estádios de maturação analisados (Tabela 3). O valor médio de açúcares totais foi de 6,30% em frutas verdes, ocorrendo aumento progressivo durante o amadurecimento atingindo 12,91% em frutas maduras. Para açúcares redutores, observou-se aumento de 2,95% para 4,92% em mangas verdes e maduras, respectivamente.

**Tabela 3.** Valores médios de açúcares totais e redutores de manga "Tommy Atkins" (g/100 g de polpa).

	AÇÚCARES TOTAIS maturação das frutas			3	AÇÚCARES REDUTORES maturação das frutas			
Lotes	verde	"de vez"	madura	verde	"de vez"	madura		
<b>1</b> <sup>a</sup>	6,32 a	9,83 a	12,79 ab	2,85 a	3,56 ab	4,81 a		
2 a	6,55 a	8,83 ab	11,98 b	2,97 a	3,26 b	4,33 a		
3 <sup>a</sup>	6,15 a	8,40 b	12,80 ab	2,90 a	2,95 b	5,19 a		
4 <sup>a</sup>	6,17 a	9,28 ab	14,07 a	3,06 a	3,92 a	4,95 a		
Média <sup>b</sup>	6,30 c	9,09 b	12,91 a	2,95 c	3,42 b	4,82 a		
DP °	0,18	0,61	0,86	0,09	0,41	0,36		

 $<sup>^{</sup>a}$  Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey.  $^{b}$  Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey.  $^{c}$  Estimativa do desvio padrão.

EVANGELISTA [12] observou comportamento semelhante do teor de açúcares durante o amadurecimento de mangas da mesma cultivar, com valores de açúcares totais aumentando de 5,19% em frutas verdes para 10,48% em maduras e teor de açúcares redutores variando de 3,5% para 4,5% em frutas verdes e maduras, respectivamente. BLEINROTH *et al.* [7] encontraram em mangas maduras da mesma cultivar, 12,37% de açúcares totais e 4,08% de açúcares redutores. Em mangas "Keitt"

os valores de açúcares totais e de açúcares redutores obtidos por SIQUEIRA *et al.* [36] foram 11,30% e 3,72%, respectivamente; já VAZQUEZ-SALINAS & LAKSMINROYANA [44] encontraram valor de açúcares totais consideravelmente superior, 17,7%.

Segundo Lakshminarayana [24] os teores de açúcares em mangas variam em função de cultivares, condições nutricionais do solo, condições climáticas, estádio de maturação e temperatura de armazenamento, sendo a glicose, frutose e sacarose os principais açúcares presentes. Durante o amadurecimento da manga, o teor de sacarose aumenta [10, 14, 32, 44].

Miller et al. [33] observaram em mangas "Tommy Atkins" aumento nos teores de frutose, sacarose e açúcares totais e, desaparecimento da glicose, após os frutos ficarem armazenados por 14 dias a 12°C, seguido de armazenamento a 21°C até o amadurecimento.

No caso do teor de fibra (Tabela 4) este diminuiu significativamente durante o processo de amadurecimento da manga, atingindo valor médio de 0,67% em mangas maduras. Valor próximo para teor de fibra, 0,82%, em mangas "Tommy Atkins" maduras foi determinado por BLEINROTH *et al.* [7]. Valor superior foi relatado por Siqueira *et al.* [36] em mangas "Keitt", com valor médio de 1,45% de teor de fibras. MARANCA [28] encontrou valores de fibras variando entre 0,3% e 0,8% para diferentes cultivares de mangas analisadas.

O teor de lipídeos (Tabela 4) em mangas "Tommy Atkins" variou de 0,56% a 0,82% em frutas verdes e maduras, respectivamente, mostrando correlação positiva com o processo de maturação. No caso do teor de proteínas, não houve alteração

durante todo o período de análise, apresentando valor de 2,52% independente do estádio de maturação da fruta.

**Tabela 4.** Valores médios de lipídeos, proteínas e fibras de manga "Tommy Atkins" (g/100 g de polpa).

	LIPÍDEOS maturação das frutas			PROTEÍNAS maturação das frutas			FIBRAS maturação das frutas		
Lotes	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura
1 a	0,56 a	0,61 b	0,84 a	2,52 a	2,52 a	2,51 a	2,96 a	1,90 b	0,60 a
2 a	0,57 a	0,63 a	0,80 a	2,51 a	2,52 a	2,52 a	2,53 ab	2,56 a	0,81 a
3 a	0,53 b	0,62 ab	0,80 a	2,52 a	2,52 a	2,52 a	2,901 ab	2,61 a	0,62 a
4 <sup>a</sup>	0,57 a	0,61 ab	0,86 a	2,52 a	2,52 a	2,52 a	2,41 b	1,63 b	0,65 a
Média <sup>b</sup>	0,56 c	0,62 b	0,83 a	2,52 a	2,52 a	2,52 a	2,70 a	2,18 b	0,67 c
DP °	0,02	0,01	0,03	0,005	0	0,005	0,27	0,49	0,09

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>c</sup> Estimativa do desvio padrão.

Com o processo de maturação a manga perdeu água, ocorrendo uma redução gradativa da umidade durante todo o processo de maturação. Os valores médios de umidade obtidos foram de 87,47% em mangas verdes, caindo gradativamente até 82,71% em mangas maduras. Valores próximos foram determinados para "Haden" e "Keitt", por JAGTIANI, CHAN & SAKAI [20] e TOREZAN [42], respectivamente. As cinzas apresentaram redução apenas no período inicial da maturação, com 0,46% em mangas verdes para 0,37% em mangas "de vez", mantendo esse valor até o estádio maduro.

**Tabela 5.** Valores médios de umidade e cinzas de manga "Tommy Atkins" (g/100 g de polpa).

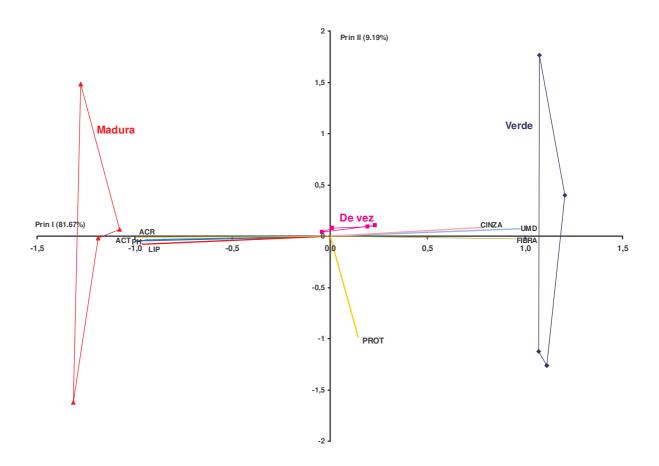
	UMIDADE maturação das frutas			CINZAS maturação das frutas		
Lotes	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura
1 <sup>a</sup>	87,20 c	84,77 b	82,93 ab	0,43 a	0,37 a	0,36 a
<b>2</b> a	87,37 bc	85,10 ab	83,47 a	0,48 a	0,38 a	0,38 a
3 <sup>a</sup>	87,43 b	85,50 ab	82,90 ab	0,48 a	0,37 a	0,38 a
4 <sup>a</sup>	87,87 a	85,60 a	81,53 b	0,46 a	0,36 a	0,37 a
Média <sup>b</sup>	87,47 a	85,24 b	82,71 c	0,46 a	0,37b	0,37 b
DP °	0,28	0,38	0,83	0,02	0,01	0,01

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>c</sup> Estimativa do desvio padrão.

A Figura 1 mostra a análise de componente principal (ACP) realizada para os atributos físico-químicos da manga "Tommy Atkins" nos três diferentes estádios de maturação.

O primeiro componente principal explica 81,67% da variabilidade entre as amostras. Essa variabilidade deve-se principalmente a variações com relação aos atributos pH, açúcares redutores (ACR), açúcares totais (ACT), lipídeos (LIP), cinzas (CINZA), umidade (UMD) e fibras (FIBRA). Nota-se que a proteína foi o atributo com menor explicação, sendo explicado pelo segundo componente principal. Dentre os atributos melhor explicados, houve aumento no teor de alguns compostos apresentando correlação positiva entre esses e a maturação, sendo eles pH, acidez total titulável, lipídeos, açúcares totais e açúcares redutores e correlação negativa, com redução em seus teores para os atributos umidade, cinzas e fibras. Cada estádio de maturação foi considerado como uma amostra. As distâncias entre as amostras observadas na

análise de ACP mostram a definição dos estádios de maturação verde, "de vez" e maduro frente aos atributos físico-químicos analisados.



**Figura 1.** ACP dos atributos proteínas (PROT), umidade (UMD), cinza (CINZA), fibra (FIBRA), lipídeos (LIP), açúcares totais (ACT) e açúcares redutores (ACR), acidez total titulável (ATT) e pH (pH), em relação à maturação da manga para os quatro lotes analisados.

Os resultados das análises dos teores de vitamina C para os quatro lotes de mangas analisados estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6.** Valores médios de vitamina C de polpas de manga "Tommy Atkins".

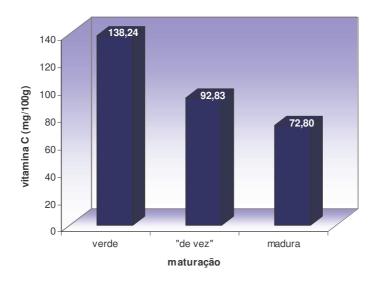
	VITAMINA C (mg/100 g) maturação das frutas					
Lotes	verde	"de vez"	madura			
1 a	156,84 a	92,21 b	71,92 b			
<b>2</b> <sup>a</sup>	154,65 a	97,73 a	72,12 b			
3 a	114,30 c	89,90 c	75,13 a			
4 <sup>a</sup>	127,16 b	91,48 b	72,02 b			
Média <sup>b</sup>	138,24 a	92,83 b	72,80 c			
DP °	20,10	3,41	1,58			

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>c</sup> Estimativa do desvio padrão.

O teor da vitamina C em função da maturação apresentou redução estatisticamente significativa (p<0,05), diminuindo de 138,24 mg/100 g em manga verde para 72,80 mg/100 g em manga madura (Figura 2). Para a mesma cultivar BLEINROTH et al. [7] determinaram o teor de vitamina C de 42 mg/100 g em mangas maduras. Comparando os dados obtidos neste trabalho com dados de mangas maduras de outras cultivares, valor próximo (76,5 mg/100 g) foi encontrado por VAZQUEZ & LAKSMINROYANA [44] e valor inferior (58,0 mg/100 g) foi citado por BLEINROTH et al. [7].

FRANCO [13] descreve a manga como uma fruta rica em vitamina C apresentando valores que variam de 66,5 mg/100 g na fruta verde a 43,0 mg/100 g na fruta madura e BLEINROTH [6] declarou que o valor de vitamina C em manga pode atingir 110 mg/100 g dependendo da cultivar. CARDELLO & CARDELLO [9] encontraram a mesma correlação de redução no teor de vitamina C durante a maturação de mangas "Haden", onde detectaram um teor aproximadamente de

205 mg/100 g em frutas verdes caindo para aproximadamente 105 mg/100 g em frutas maduras.



**Figura 2.** Teor de Vitamina C em polpa de manga "Tommy Atkins" nas maturações verde, "de vez" e madura.

De acordo com MEDINA *et al.* [30] com o amadurecimento da manga ocorre decréscimo no teor de vitamina C, podendo atingir uma taxa superior a 50% de perdas do teor no fruto verde para o fruto maduro. Em estudos com cultivares comerciais da Índia, os autores relataram decréscimo de 70-130 mg/100 g em polpas de mangas verdes para 15-50 mg/100 g em mangas maduras. THOMAS & OKE [41] esclarecem em estudos que o declínio de vitamina C pode ser explicado pelo aumento da atividade de ácido ascórbico oxidase.

## 4 - CONCLUSÕES

Parâmetros subjetivos de aparência da casca e polpa da manga foram eficientes na determinação dos estádios de maturação da fruta apresentando nítida correlação com os valores mensuráveis de pH, acidez total titulável e sólidos solúveis totais.

A maturação altera a composição química da polpa de mangas "Tommy Atkins", influenciando positiva ou negativamente os diferentes atributos de forma a causar aumento ou redução dos mesmos, respectivamente.

Atributos como pH, sólidos solúveis totais, gorduras e açúcares totais e redutores aumentam gradativamente com a maturação enquanto os atributos acidez total titulável, fibras, cinzas e água reduzem gradativamente com a maturação.

O teor de vitamina C foi maior em mangas verdes (138,24 mg/100 g, em média) do que em mangas maduras (72,80 mg/100 g, em média) mostrando relação negativa com a maturação da manga.

## 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the association of the Agricultural Chemists. 14. ed. Washington, 1984.
- [2] ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the association of the Agricultural Chemists. 15. ed. Arlington, 1990.

- [3] ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the association of the Agricultural Chemists. 14. ed. Washington, 1997.
- [4] BENASSI, M. T. Análise dos estudos de diferentes parâmetros na estabilidade de vitamina C em vegetais processados. Campinas, 1990, 1159p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade estadual de Campinas (UNICAMP).
- [5] BIALE, J. B. Synthetic and degradative process in fruit ripening. In: HAARD, N. F.; SALUNKHE, D. K. Postharvest Biology and Handling of Fruits and Vegetables. p. 8-18, 1975.
- [6] BLEINROTH, E. W. Caracterização de variedades de manga para industrialização. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 78p. 1976.
- [7] BLEINROTH, E. W.; FIGUEIREDO, I. B.; VEIGA, A. A.; SOARES, N. B.; MEDINA, J. C.; SABINO, J. C. Avaliação de novas cultivares de manga para industrialização. I. Análise das características físico-geométricas e químicas da matéria-prima. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, v. 22, n. 2, p. 207-216, 1985.
- [8] BLIGH, E. C.; DYER, W. J. A. Rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, v.37, p. 911-917, 1959.
- [9] CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina C, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangifera indica* L.) var. Haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n. 2, p. 211-217, 1998.
- [10] CASTRILLO, M.; KRUGER, N. J.; WHATLEY, F. R. Sucrose metabolism in mango fruit during ripening. **Plant Science**, v. 84, n. 1, p. 45-51, 1992.
- [11] CHAPLIN, G. R.; BUCKLEY, M. J.; LAI, S. C. Diferential softening and physicochemical changes in the mesocarp of ripening mango fruit. **Acta Horticulturae**, v. 269, p. 233-239, 1990.

- [12] EVANGELISTA, R. M. Qualidade de manga "Tommy Atkins" armazenadas sob refrigeração e tratadas com cloreto de cálcio pré-colheita. Lavras, 1999, 129p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade Federal de Lavras (UFLA).
- [13] FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9. ed. São Paulo: Atheneu Editora. 307p. 1997.
- [14] FUCHS, Y.; PESIS, E.; ZAUBERMAN, G. Changes in amylase activity, starch and sugars contents in mango fruit pulp. **Scientia Horticulturae**, 13(2): 155-160, 1980.
- [15] HAHN, F. Mango firmness sorter. **Biosystems Engineering**, v. 9, n. 3, p.309-319, 2004.
- [16] HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**, in press, 2005.
- [17] HULME, A. C. The mango. **The biochemistry of fruits and their products**. 2. ed. London: Academic Press, v. 2, p. 233-234, 1974.
- [18] INSTITUTO ADOLPHO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolpho Lutz. 2. ed., São Paulo, 1976.
- [19] ITAL, Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Manga: da cultura ao processamento e comercialização**, Campinas, 399p. 1981. (Revista de Frutas Tropicais, n. 8).
- [20] JAGTIANI, J.; CHAN JR, H. T.; SAKAI, W. S. **Tropical Fruit Processing**. San Diego, v. 184, 1988. (Food Science and Technology).
- [21] JHA, S. N.; KINGSLY, A. R. P.; CHOPRA, S. Physical and mechanical properties of mango during growth and storage for determination of maturity. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 1, p. 73-76, 2006.

- [22] KOLEKAR, T. G. Shelf-life extension of Alphonso mangoes by surface coating of sucrose ester. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 35, n. 1, p. 44-47, 1992.
- [23] KRAMER, A. Fruits and vegetables. In. KRAMER, A. & TWIGG, B. A. Quality control for the food industry. v. 2, p. 157-227, 1973.
- [24] LAKSHMINARAYANA, S. Mango. In: NAGY, S.; SHAW, P. E. Tropical and subtropical fruits. 563p., 1980.
- [25] LIMA, M. A. C.; ALVEZ, R. E.; ASSIS, J. S.; FILGUEIRAS, H. A. C.; COSTA, J. T. A. Qualidade, fenóis e enzimas oxidativas de uva "Itália" sob influência do cálcio durante a maturação. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 35, n. 12, p. 2493-2499, 2000.
- [26] MALEVSKI, Y.; GÓMEZ BRITO, L.; PELEG, M.; SILBERG, M. External color as maturity index of mango. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 5, p. 1316-1318, 1977.
- [27] MANRIQUE, G. D.; LAJOLO, F. M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, n. 1, p. 11-24, 2004.
- [28] MARANCA, G. Manga. In: MARANCA, G. Fruticultura Comercial: Manga e Abacate (3ed.). Editora Livraria Nobel, p. 13-61, 1978.
- [29] MARIN, M. A.; CANO, M. P. Patterns of peroxidase in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruits. **Journal of Food Science**, v. 57, n.3, p. 690-692, 1992.
- [30] MEDINA, J. C.; BLEINROTH, E. W.; de MARTIN, Z. J.; QUAST, D. G.; HASHIZUME, T.; FIGUEIREDO, N. M. S.; CANTO, W. L.; BICUDO NETO, L. C. Manga – da cultura ao processamento e comercialização. Instituto de Tecnologia de Alimento, Campinas (Série Frutas Tropicais, n. 8), 1981.

- [31] MEDLICOTT, A. P.; REYNOLDS, S. B.; THOMPSON A. K. Effects of temperature on the ripening of mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 37, n. 5, p. 469-474, 1986.
- [32] MEDLICOTT, A. P.; THOMPSON A. K. Analysis of sugars and organic acid in ripening mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Keitt) by high performance liquid chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.36, p. 561-566, 1985.
- [33] MILLER, W. R., HALE, P. W.; SAPLDING, D. H. *et al.* Quality and decay of mango fruit wrapped in heat-skrinkable film. **HortScience**, v. 18, n. 6, p. 957-958, 1983.
- [34] NELSON, N. A photometric adaptation of somogyi method for determination of glucose. **Journal Biological Chemistry**, v. 153, p. 375-380, 1944.
- [35] RUFFNER, H. P.; BREM, S.; MALIPIERO, U. The physiology of acid metabolism in grape berry ripening. **Acta Horticulturae**, v. 139, p. 123-128, 1983.
- [36] SIQUEIRA, D. L.; BOTREL, N., CARVALHO, V. D.; RAMOS, V. H. V.; COUTO, F. A. D. Características físicas e químicas de frutos de vinte cultivares de mangueira (*Mangifera indica*) em Uberaba MG. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 10, n. 2, p. 49-54, 1998.
- [37] SOARES, F. D.; PEREIRA, T.; MARQUES, M. O. M.; MONTEIRO, A. R. Volatile and non-volatile chemical composition of the White guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. **Food Chemistry**, in press, 2005.
- [38] SPEIRS, J.; BRADY, C. J. Modification of gene expression in ripening fruit. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.18, p. 519-532,1991.
- [39] STATSOFT, INC. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc, 2300 East 14<sup>th</sup> Street, Tulsa, OK 74104, Web: http://www.statsoft.com. 2000.

- [40] SUGAI, A. Y. Processamento descontínuo de purê de manga (Mangifera indica Linn.), variedade Haden: estudo da viabilidade do produto para pronto consumo. Dissertação (Mestrado em Engenharia), Escola Politécnica -Universidade de São Paulo, São Paulo, 82p., 2002.
- [41] THOMAS, P.; OKE, M. S. Technical note: Vitamin C content and distribution in mangoes during ripening. **Journal of Food Science and Technology**, v. 15, n. 6, p. 669-672, 1980.
- [42] TOREZAN, G. A. P. Tratamento enzimático em suco de manga (Mangifera indica L. cv. Keitt) para redução dos teores de sacarose e glicose e obtenção de geléia através de processo contínuo. Campinas, 2000, 158p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade estadual de Campinas (UNICAMP).
- [43] TUCKER, G. A. Introduction. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (ed.) **Biochemistry of fruit ripening,** London: Chapman & Hall, cap. 1, p. 255-266, 1993.
- [44] VAZQUEZ-SALINAS, C. LAKSMINARAYANA, S. Composition changes in mango fruits during ripening at different storage temperatures. **Journal of Food Science**, v. 50, n. 6, p. 1646-1648, 1985.
- [45] VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195-198, 2000.
- [46] VILAS-BOAS, B. M.; NUNES, E. E.; FIORINI, F. V. A.; LIMA, L. C. O.; VILAS-BOAS, E. V. B.; COELHO, A. H. R. Avaliação de qualidade de mangas "Tommy Atkins" minimamente processadas. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 26, n. 3, p. 540-543, 2004.

- [47] WILLS, R. B.; LEE, T. H.; GRAHAM, D.; McGLASSON, W. B.; HALL, E. G. Temperature. In: **Postharvest physiology, handling of fruits and vegetables**, p. 39-51, 1981.
- [48] YASHODA, M. H.; PRABHA, T. N.; THARANATHAN, N. Mango ripening chemical and structural characterization of pectin and hemicellulosic polysaccharides. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 1335-1342, 2005.

## **6 – AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao CNPq pelo auxílio financeiro.

**CAPÍTULO 3** 

Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas maduras das cultivares

Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no Brasil

Andréia C. S. AZEVEDO, Gláucia M. PASTORE

**RESUMO** 

A manga (Mangifera indica L.) pertence à família Anacardiaceae, é amplamente

encontrada em regiões tropicais e subtropicais e é uma das frutas mais popularmente

conhecidas no mundo. O objetivo desse trabalho foi estudar as enzimas polifenol

oxidase e peroxidase em polpas de mangas maduras das cultivares Tommy Atkins,

Haden e Palmer produzidas no Brasil. Os resultados mostraram que a cultivar Tommy

Atkins apresentou maior atividade da enzima polifenol oxidase (82,13 U/ml/min) seguida

da "Haden" e da "Palmer" com valores médios de atividade da polifenol oxidase de

54,91 U/ml/min e 18,80 U/ml/min, respectivamente. A enzima peroxidase apresentou

maior atividade na "Tommy Atkins" com valor médio de (7.422,36 U/ml/min) seguida da

"Haden" (4.155,98 U/ml/min) e com uma menor atividade da enzima peroxidase, a

"Palmer" (2.808,51 U/ml/min). Concluiu-se que as enzimas polifenol oxidase e

peroxidase estão presentes em maior concentração na cultivar Tommy Atkins do que

nas demais cultivares estudadas.

Palavras-chave: polifenol oxidase, peroxidase, maturação, manga

**SUMMARY** 

93

The mango (*Mangifera indica* L.) belongs to the family Anacardiaceae, it is abundantly found in tropical and subtropical areas and it is one of the most popular fruits in the world. The objective of this work was to study the enzymes polyphenol oxidase and peroxidase in pulps of ripe mangos of the cultivate Tommy Atkins, Haden and Palmer produced in Brazil. The results showed that the cultivate Tommy Atkins presented larger activity of the enzyme polyphenol oxidase (82.13 U/ml/min) following by "Haden" and "Palmer" with medium values of activity of polyphenol oxidase of 54.91 U/ml/min and 18.80 U/ml/min, respectively. The enzyme peroxidase showed larger activity in "Tommy Atkins" with a medium value of (7422.36 U/ml/min), followed by "Haden" (4155.98 U/ml/min) and with a smaller activity of the enzyme peroxidase, "Palmer" (2808.51 U/ml/min). It was found that the enzymes polyphenol oxidase and peroxidase are present in larger concentration in cultivate Tommy Atkins than in the others cultivates studied.

**Keywords:** enzyme, polyphenol oxidase, peroxidase, maturation, mango

# 1 - INTRODUÇÃO

Parte da produção mundial de frutas e verduras é perdida devido a danos póscolheita. Uma das causas principais dessa perda é devido à ação das enzimas polifenol oxidase e peroxidase que causam alterações provocando o escurecimento do tecido desses alimentos. A polifenol oxidase catalisa o escurecimento enzimático de frutas e verduras, e em alguns casos, está envolvida na despigmentação por catalisar a degradação de antocianina causando a redução na intensidade da cor [20]. As peroxidases estão envolvidas nas mudanças deteriorativas, causam alterações oxidativas do sabor, cor, aroma e qualidade nutricional de plantas [19] e ainda, estão

envolvidas na descoloração catalítica de antocianinas e outros pigmentos encontrados em plantas [9]. Ambas enzimas, polifenol oxidase e peroxidase, são encontradas amplamente distribuídas no reino vegetal [22].

A manga é uma fruta de origem asiática, introduzida no Brasil no século XVI o qual se tornou atualmente o oitavo país maior produtor da manga e segundo maior exportador, perdendo apenas para o México [2, 3]. A manga conquistou o mercado consumidor passando a ser a segunda fruta mais consumida no mundo, perdendo apenas para a banana [5, 14]. Atualmente é considerada uma das principais frutas tropicais comercializadas [1, 17], destacando assim sua elevada importância comercial ao nível mundial [4].

O objetivo deste trabalho foi estudar as enzimas polifenol oxidase e peroxidase em polpas de mangas maduras das cultivares Tommy Atkins, Haden e Palmer, produzidas no Brasil.

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 - Amostras

Mangas maduras (*Mangifera indica* L., cultivares Tommy Atkins, Palmer e Haden) foram adquiridas no mercado de Campinas/ São Paulo.

## 2.1.1 - Preparo das amostras

As frutas maduras foram higienizadas com água potável e sabão neutro. Em seguida, as frutas foram descascadas e despolpadas. Cada amostra foi preparada com polpas de três frutas e essas foram analisadas em triplicata. Foram avaliados 5 lotes de cada cultivar estudada.

#### 2.2 - Métodos

## 2.2.1 - Obtenção do extrato bruto das enzimas

O extrato bruto das enzimas foi preparado de acordo com LIMA [12] utilizando 30g de polpa da fruta com 200 ml de 0,025 M tampão fosfato de potássio pH 6,5 a 4°C, homogeneizados em liquidificador durante 3 minutos. O homogeneizado foi centrifugado a 11.000g em centrífuga refrigerada a 0°C durante 15 minutos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante mantido a 4°C para ser utilizado nos experimentos. No extrato bruto foram medidas as atividades das enzimas polifenol oxidase e peroxidase.

## 2.2.2 - Determinação da atividade da polifenol oxidase

A determinação da atividade de polifenol oxidase dos extratos de manga foi baseada no método descrito por OKTAY *et al.* [15], utilizando o catecol como substrato, com modificações na temperatura da reação para 60°C. A mistura de reação foi constituída por 0,1 ml de solução de enzima, 1,7 ml de 0,05 M tampão fosfato de

potássio pH 6,0 e 1,2 ml de solução catecol 0,4% preparada em 0,05 M tampão fosfato de potássio pH 6,0.

O aumento da absorbância a 420 nm foi monitorado durante 5 minutos de reação a 60°C, contra um branco no qual a amostra foi substituída por tampão. O equipamento usado foi um espectrofotômetro BECKMAN UV/VIS Série DU-70.

Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima que causou aumento de absorbância de 0,001 unidades por minuto a 420 nm.

# 2.2.3 - Determinação da atividade da peroxidase

A determinação da atividade de peroxidase dos extratos de manga foi baseada no método descrito por KHAN & ROBINSON [10], com modificações na temperatura da reação para 50°C. A mistura de reação foi constituída de 0,1 ml de solução de enzima, 1,2 ml de 0,05 M tampão fosfato de potássio pH 6,0 e 1,5 ml de solução guaiacol a 1% preparada em 0,05 M tampão fosfato de potássio pH 6,0. Em seguida foi adicionado 0,4 ml de solução H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> preparada no mesmo tampão e por fim, completou o volume da reação para 3,2 ml com tampão.

O aumento da absorbância a 470 nm foi monitorado durante 5 minutos de reação a 50°C, contra um branco no qual a solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi substituída por tampão. O equipamento usado foi um espectrofotômetro BECKMAN UV/VIS Série DU-70.

Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima que causou aumento de absorbância de 0,001 unidades por minuto a 470 nm, tendo o guaiacol como doador de H<sup>+</sup>.

#### 2.3 - Análise estatística

Foi realizada análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey utilizando-se o programa STATISTICA, STATSOFT [21]. Foram avaliadas as diferenças significativas (p<0,05) para as enzimas analisadas nas diferentes cultivares de manga.

# 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados nas Tabelas 1 e 2 são referentes às atividades das enzimas polifenol oxidase e peroxidase nos cinco lotes das diferentes cultivares de manga maduras analisadas.

Nas três cultivares analisadas (Tommy Atkins, Haden e Palmer) pode-se observar que a atividade da enzima peroxidase foi muito mais expressiva do que da polifenol oxidase, onde a primeira atingiu valor médio de atividade até 150 vezes maior do que a segunda, dependendo da cultivar.

**Tabela 1.** Atividade da enzima polifenol oxidase em mangas maduras "Tommy Atkins", "Haden" e "Palmer".

	POLIFENOL OXIDASE (U/ml/min) cultivar da manga			
Lotes	Tommy Atkins	Haden	Palmer	
1 <sup>a</sup>	60,11 c	53,22 a	20,78 b	
<b>2</b> <sup>a</sup>	82,56 b	53,56 a	18,56 bc	
3 <sup>a</sup>	90,89 ab	54,00 a	13,67 d	
<b>4</b> <sup>a</sup>	79,67 b	55,22 a	25,33 a	
5 <sup>a</sup>	97,44 a	58,56 a	15,67 cd	
Média <sup>b</sup>	82,13 a	54,91 b	18,80 c	
DP °	14,16	2,17	4,55	

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>c</sup> Estimativa de desvio padão.

**Tabela 2.** Atividade da enzima peroxidase em mangas maduras "Tommy Atkins", "Haden" e "Palmer".

	PEROXIDASE (U/ml/min) cultivar da manga		
Lotes	<b>Tommy Atkins</b>	Haden	Palmer
1 <sup>a</sup>	7.642,00 b	3.894,78 c	2.868,67 b
<b>2</b> <sup>a</sup>	8.652,00 a	4.579,78 a	3.038,67 b
3 <sup>a</sup>	6.715,44 c	3.638,33 d	3.271,33 a
4 <sup>a</sup>	7.806,67 b	4.184,67 b	2.536,33 c
5 <sup>a</sup>	6.295,67 d	4.482,33 a	2.327,56 c
Média <sup>b</sup>	7.422,36 a	4.155,98 b	2.808,51 c
DP °	932,35	394,69	379,54

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>c</sup> Estimativa de desvio padão.

Os valores mais altos de atividade da enzima polifenol oxidase foram encontrados nas polpas de manga da cultivar Tommy Atkins, com valor médio de

82,13 U/ml/min, diferindo significativamente das cultivares Haden e Palmer com atividade de 54,91 U/ml/min e 18,80 U/ml/min, respectivamente (Figura 1).

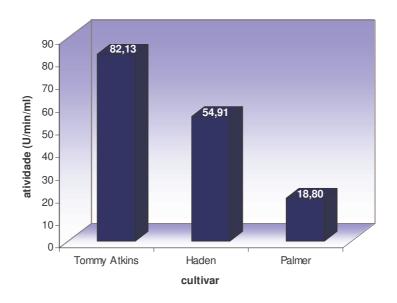


Figura 1. Atividade da polifenol oxidase em polpa de diferentes cultivares de manga.

Na literatura, são escassos os relatos de determinação de atividade da polifenol oxidase onde os autores expressam os valores encontrados. KATWA, RAMAKRISHNA & RAGHAVENDRA RAO [8] avaliaram a atividade da polifenol oxidase em extrato bruto de manga madura cv. Raspuri e encontraram atividade de 51,58 U/ml, enquanto GUERRERO-BELTRÁN, SWANSON & BARBOSA-CÁNOVAS [7] estudaram a atividade da polifenol oxidase em purê de manga, em diferentes pHs e determinaram atividade de 259,2 U; 23,1 U e 11,7 U de atividade da enzima para os pHs 4,4; 4,4 e 3,5, respectivamente. Estudos de determinação da atividade da enzima foram

realizados também em mangas "Badami" e "Haden" por PRABHA & PATWARDHAN [18] e PARK *et al.* [16], respectivamente.

Com relação à enzima peroxidase, a manga "Tommy Atkins" também se destacou por apresentar maior atividade desta enzima, 7422,36 U/ml/min, seguindo da "Haden" e "Palmer", com valores 4155,98 U/ml/min e 2808,51 U/ml/min, respectivamente (Figura 2). KHAN & ROBINSON [11, 12] estudaram a peroxidase de manga e relataram que as isoperoxidases C1 e C3 apresentaram atividade de 38,1 DO<sub>460nm</sub>/mg de proteína e a isoperoxidase C3 atividade de 6,0 DO<sub>420nm</sub>/mg. Atividade da peroxidase foi determinada em outras cultivares tais como, "Badami" [18], "Lippens" e "Smith" [13].

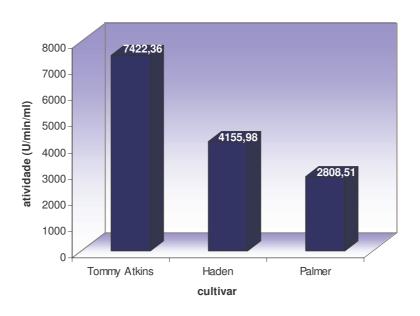


Figura 2. Atividade da peroxidase em polpa de diferentes cultivares de manga.

Comparando os valores obtidos nesse estudo para a atividade das enzimas polifenol oxidase e peroxidase nas diferentes cultivares estudadas e os dados descritos na literatura para manga, é possível verificar a existência de diferenças de expressão de atividade das enzimas nas diferentes cultivares de manga, essas diferenças podem estar relacionadas ao fato de se tratarem de cultivares diferentes e também ao fato dessas frutas apresentarem origens distintas considerando, portanto vários fatores, como condições climáticas, condições de cultivo, condições de armazenamento, entre outros. É conhecido que esses fatores devem ser considerados ao estudar constituição química em frutas, pois esta é influenciada por esses fatores [6].

#### 4 - CONCLUSÕES

As atividades das enzimas polifenol oxidase e peroxidase foram estatisticamente diferentes (p<0,05) entre as cultivares comerciais Tommy Atkins, Haden e Palmer.

A cultivar Tommy Atkins apresentou as maiores atividades para as enzimas polifenol oxidase e peroxidase quando comparadas as cultivares Haden e Palmer.

A "Palmer" apresentou atividades das enzimas polifenol oxidase e peroxidase menores do que as cultivares Tommy Atkins e Haden.

Nas três cultivares avaliadas, a enzima peroxidase apresentou valores de atividade maiores que a enzima polifenol oxidase, mostrando que em mangas existe uma quantidade muito mais expressiva da peroxidase do que da polifenol oxidase.

# 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BERARDINI, N.; KNÖDLER, M.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, *in press*, 2005.
- [2] BNDES. A cultura da manga: Desempenho no período 1961/2001. Rio de Janeiro,v. 17, n. 3, p. 3-68, 2003a.
- [3] BNDES. A cultura da manga no Brasil: Desempenho entre 1990 e 2001. Rio de Janeiro, v. 17, n. 3, p. 3-68, 2003b.
- [4] CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carries on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and is functional characterization. Food Science and Emerging Technologies, in press, 2005.
- [5] CANO, M. P.; de ANCOS, B. Carotenoids and carotenoids ester composition in mango fruit as influenced by processing method. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 42, p. 2737-2742, 1994.
- [6] CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina C, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangifera indica* L.) var. Haden, durante o amadurecimento. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 18, n. 2, p. 211-217, 1998.
- [7] GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; SWANSON, B. G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Inhibition of polylhenoloxidase in mango puree with 4-hexylresorcinol, cysteine and ascorbic acid. Lebensmittel-Wissenschaft U.-Technologie, v. 38, p. 625-630, 2005.

- [8] KATWA L. C.; RAMAKRISHNA, M.; RAGHAVENDRA RAO, M. R. Purification and properties of polyphenol oxidase from mango peel (*Mangifera indica* var. Raspuri). **Journal of Food Biochemistry**, v. 6, p. 217-228, 1982.
- [9] KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. The thermostability of purified mango isoperoxidases. **Food Chemistry**, v. 47, n. 1, p. 53-59, 1993a.
- [10] KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. Purification of an anionic peroxidase isoenzyme from mango (*Mangifera indica* L. var. Chaunsa). Food Chemistry, v. 46, n. 1, p. 61-64, 1993b.
- [11] KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases. **Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 407-410, 1994.
- [12] LIMA, E. D. P. A. Purificação e caracterização bioquímica da polifenoloxidase (PPO) em fruto da família Anonácea - pinha (Annona squamosa L.). Campinas, 1999, 132p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade estadual de Campinas (UNICAMP).
- [13] MARIN, M. A.; CANO, M. P. Patterns of peroxidase in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruits. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 3, p. 690-692, 1992.
- [14] MERCADANTE, A. Z.; RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B.; BRITTON, G. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p.120-123, 1997.
- [15] OKTAY, M.; KÜFREVIOGLU, Ö. I.; KOCACALISKAN, I.; SAKIROGLU, H. Polyphenoloxidase from *Amasya apple*. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 3, p. 494-505, 1995.
- [16] PARK, Y. K.; SATO, H. H.; ALMEIDA, T. D.; MORETTI, R. H. Polyphenol oxidase of mango (*Mangifera indica* var. Haden). **Journal of the Food Science**, v. 45, p. 1619-1621, 1980.

- [17] PELEGRINE. D. H.; SILVA, F. C.; GASPARETTO, C. A. Rheological behaviour of pineapple and mango pulps. **Lebensmittel-Wissenschaft U-Technologie**, v. 35, p. 645-648, 2002.
- [18] PRABHA, T. N.; PATWARDHAN, M. V. Polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzyme activities and their isoenzyme patterns in ripening fruits. **Acta Alimentaria**, v. 15, n. 3, p. 199-207, 1986.
- [19] SANTOS, E. R. Caracterização bioquímica de peroxidase e da polifenoloxidase de açaí (*Euterpe oleracea*). Campinas, 2002, 104p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
- [20] SIDDIQ, M.; ARNOLD, J. F.; SINHA, N. K.; CASH, J. N. Effect of polyphenol oxidase and its inhibitors on anthocyanin changes in plum juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 18, p. 75-84, 1994.
- [21] STATSOFT, INC. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc, 2300 East 14<sup>th</sup> Street, Tulsa, OK 74104, Web: http://www.statsoft.com. 2000.
- [22] VÁMOS-VIGYÁZÓ, L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 15, p. 49-127, 1981.

#### 6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo auxílio financeiro.

# **CAPÍTULO 4**

Enzimas polifenol oxidase e peroxidase em mangas (*Mangifera indica* L.

cv. Tommy Atkins) em três estádios de maturação

Andréia C. S. AZEVEDO; Gláucia, M. PASTORE

#### **RESUMO**

O estudo das enzimas polifenol oxidase (EC 1.10.3.1; PFO) e peroxidase (EC 1.11.1.7; POD) é de grande importância por estarem envolvidas com o escurecimento enzimático de frutas e verduras. A manga (*Mangifera indica* L.) pertence à família Anacardiaceae, é amplamente encontrada em regiões tropicais e subtropicais e é uma das frutas mais popularmente consumidas no mundo. O objetivo deste trabalho foi estudar as atividades da peroxidase e polifenol oxidase em polpas de manga cv. Tommy Atkins, durante o amadurecimento. Os resultados demonstraram uma variação na atividade das enzimas durante o processo de maturação. A atividade da peroxidase foi maior em mangas maduras (7.063,71 U/ml/min) do que em mangas verdes (3.884,84 U/ml/min). A atividade da polifenol oxidase em mangas verdes foi maior (170,04 U/ml/min) do que em mangas maduras (57,28 U/ml/min). Concluiu-se que a maturação causou um aumento na atividade da peroxidase e uma redução na atividade da polifenol oxidase em manga "Tommy Atkins", mostrando que a indução dessas enzimas ocorre de forma diferente durante o processo de amadurecimento da fruta.

Palavras-chave: enzima, polifenol oxidase, peroxidase, manga, maturação

#### **SUMMARY**

The study of the enzymes polyphenol oxidase (EC 1.10.3.1; PPO) and peroxidase (EC 1.11.1.7; POD) is of great importance because they are involved in the enzymatic darkening of fruits and green vegetables. The mango (*Mangifera indica* L.) belongs to the family Anacardiaceae, it is abundantly found in tropical and subtropical areas and is one of the most consumed fruits in the world. The objective of this work was to study the activities of the enzymes peroxidase and polyphenol oxidase in pulps of mango cv. Tommy Atkins during the ripening process. The results demonstrated a variation in the activity of the enzymes during the maturation process. The activity of the peroxidase was larger in ripe mangos (7063.71 U/ml/min) than in green mangos (3884.84 U/ml/min). The activity of polyphenol oxidase in green mangos was higher (170.04 U/ml/min) than in ripe mangos (57.28 U/ml/min). It was found that the maturation caused an increase in the activity of the peroxidase and a reduction in the activity of the polyphenol oxidase in mango "Tommy Atkins", showing that this induction of the enzymes occurs differently according to the ripening process of the fruits.

**Keywords:** enzyme, polyphenol oxidase, peroxidase, mango, maturation

# 1 - INTRODUÇÃO

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma das mais importantes frutas tropicais comercializadas no mundo [10]. Originária do sul da Ásia (Índia), foi introduzida no Brasil no século XVI por portugueses, na região nordeste, de onde se disseminou por quase todo o território brasileiro. Em termos de produção, a manga ocupa a quinta posição mundial entre as maiores culturas [8, 9]. No Brasil, a cultivar Tommy Atkins é

uma das principais em importância comercial e responde por mais de 80% da produção nacional da manga [23].

Um sério problema de conservação de frutas é o escurecimento do tecido, o qual tem sido relacionado à presença de enzimas do complexo oxidase. Dentre essas enzimas, estão a polifenol oxidase (EC 1.10.3.1; PFO) e a peroxidase (EC 1.11.1.7; POD) que promovem alterações nos alimentos devido a reações indesejáveis causando depreciação na qualidade dos mesmos. Em frutas, essas enzimas causam o escurecimento dos tecidos, decorrente principalmente da reação de oxidação enzimática dos compostos fenólicos naturais [2, 4]. As polifenol oxidases são responsáveis principalmente pelo escurecimento ocorrido nas verduras e frutas devido a injúrias, estocagem ou durante o processamento dos mesmos [6, 19] e as peroxidases contribuem com alterações deteriorativas no aroma, sabor, textura, cor e valor nutricional de frutas e verduras [12, 19].

Este trabalho teve por objetivo estudar a atividade das enzimas PFO e POD em polpas de manga "Tommy Atkins", analisando o efeito da maturação da fruta na ação dessas enzimas.

# 2 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 - Amostras

Foram analisados 5 lotes de manga (*Mangifera indica* L.) da cultivar Tommy Atkins a qual tem se destacado em produção nacional e interesse comercial. As frutas

foram adquiridas no CEASA de Campinas/ São Paulo, no estádio verde de maturação. Cada lote foi dividido em três partes, uma parte foi submetida às análises aos frutas ainda verdes, as outras duas partes foram armazenadas em temperatura ambiente até que as frutas atingissem a maturação "de vez" e madura, para então serem analisadas.

## 2.1.1 - Preparo das amostras

As frutas foram higienizadas com sabão neutro e água potável, descascadas e despolpadas.

Foram preparadas três amostras para cada estádio de maturação. Cada amostra fora obtida a partir da polpa homogeneizada de três frutas.

### 2.2 - Métodos

## 2.2.1 - Obtenção do extrato bruto das enzimas

O extrato bruto das enzimas foi preparado de acordo com LIMA [15], utilizando 30 g de polpa da fruta com 200 ml de 0,025 M tampão fosfato de potássio pH 6,5 a 4°C, homogeneizados em liquidificador durante 3 minutos. O homogeneizado foi centrifugado a 11.000g em centrífuga refrigerada a 0°C durante 15 minutos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante mantido a 4°C para ser utilizado nos experimentos. No extrato bruto foram medidas as atividades das enzimas PFO e POD.

# 2.2.2 - Determinação da atividade da polifenol oxidase

A determinação da atividade de PFO dos extratos de manga foi baseada no método descrito por OKTAY *et al.* [17], utilizando o catecol como substrato, com modificações na temperatura da reação para 60°C. A mistura de reação foi constituída por 0,1 ml de solução de enzima, 1,7 ml de 0,05 M tampão fosfato de potássio pH 6,0 e 1,2 ml de solução catecol 0,4% preparada em 0,05 M tampão fosfato de potássio pH 6,0.

O aumento da absorbância a 420 nm foi monitorado durante 5 minutos de reação a 60°C, contra um branco no qual a amostra foi substituída por tampão. O equipamento usado foi um espectrofotômetro BECKMAN UV/VIS Série DU-70.

Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima que causa aumento de absorbância de 0,001 unidades por minuto a 420 nm.

## 2.2.3 - Determinação da atividade da peroxidase

A determinação da atividade de POD dos extratos de manga foi baseada no método descrito por KHAN & ROBINSON [12], com modificações na temperatura da reação para 50°C. A mistura de reação foi constituída de 0,1 ml de solução de enzima, 1,2 ml de 0,05 M tampão fosfato de potássio pH 6,0 e 1,5 ml de solução guaiacol a 1% preparada em 0,05 M tampão fosfato de potássio pH 6,0. Em seguida foi adicionado 0,4 ml de solução H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> preparada no mesmo tampão e por fim, completou o volume da reação para 3,2 ml com tampão.

O aumento da absorbância a 470 nm foi monitorado durante 5 minutos de reação a 50°C, contra um branco no qual a solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi substituída por tampão. O equipamento usado foi um espectrofotômetro BECKMAN UV/VIS Série DU-70.

Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima que causa aumento de absorbância de 0,001 unidades por minuto a 470 nm, tendo o guaiacol como doador de H<sup>+</sup>.

#### 2.3 - Análise estatística

Foi realizada análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey utilizando-se o programa STATISTICA, STATSOFT [23]. Foram avaliadas as diferenças significativas (p<0,05) para a PFO e POD nos diferentes estádios de maturação.

## 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de atividade das enzimas PFO e POD foram avaliados utilizando-se o programa STATISTICA, StatSoft (2000) e estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Conforme as Tabelas 1 e 2, houve diferença significativa (p<0,05) entre os lotes, possivelmente devido a alguns fatores tais como condições de cultivo, armazenamento pós-colheita, entre outros. Essa diferença foi também observada na média extraída das análises dos cinco diferentes lotes de cada amostra para os três

estádios de maturação tanto para a enzima PFO como para a POD, mostrando que as atividades dessas enzimas sofreram influência da maturação.

**Tabela 1.** Atividade da enzima PFO em mangas "Tommy Atkins" nos diferentes estádios de maturação.

	POLIFENOL OXIDASE (U/ml/min) maturação da manga			
Lotes	verde	"de vez"	madura	
1 <sup>a</sup>	169,89 c	107,11 b	66,33 ab	
<b>2</b> <sup>a</sup>	133,78 d	90,00 bc	51,89 c	
3 <sup>a</sup>	223,33 a	137,67 a	55,22 bc	
<b>4</b> <sup>a</sup>	123,11 d	84,11 c	44,00 c	
5 <sup>a</sup>	200,11 b	100,44 bc	69,44 a	
Média <sup>b</sup>	170,04 a	103,87 b	57,28 c	
DP °	42,61	20,89	10,48	

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey; <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey; <sup>c</sup> Estimativa de desvio padão.

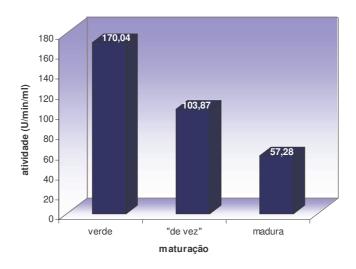
**Tabela 2.** Atividade da enzima POD em mangas "Tommy Atkins" nos diferentes estádios de maturação.

	PEROXIDASE (U/ml/min) maturação da manga		
Lotes	verde	"de vez"	madura
<b>1</b> <sup>a</sup>	6.335,22 a	7.184,60 a	7.915,40 b
<b>2</b> <sup>a</sup>	4.043,44 b	4.883,10 c	5.662,10 d
3 <sup>a</sup>	4.124,11 b	5.198,10 c	7.207,70 c
<b>4</b> <sup>a</sup>	2.788,56 c	3.663,00 d	5.339,80 d
<b>5</b> <sup>a</sup>	2.132,89 d	6.672,40 b	9.193,60 a
Média <sup>b</sup>	3.884,84 c	5.520,24 b	7.063,71 a
DP <sup>c</sup>	1609,19	394,69	379,54

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey; <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>c</sup> Estimativa de desvio padão.

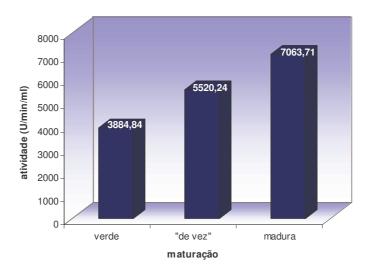
O processo de maturação apresentou efeito negativo na atividade enzima PFO, ocasionando redução da mesma, onde a atividade média foi 170,04 U/ml/min em frutas verdes, diminuindo para 103,87 U/ml/min em frutas "de vez", e atingindo valor médio de 57,28 U/ml/min em frutas maduras (Figura 1). EVANGELISTA [3] verificou comportamento similar da PFO em mangas da mesma cultivar, onde a atividade da enzima reduziu com a maturação da fruta. SELVARAJ & KUMAR [20] também verificaram essa redução em mangas das cultivares Alphonso, Dasheri, Suvarnarekha e Totapuri. No entanto difere do observado por PRABHA & PATWARDHAN [19] que em estudos de manga "Badami" não detectaram atividade desta enzima na polpa em todas as fases da maturação, enquanto que na casca da mesma fruta, constataram aumento da atividade da PFO durante o amadurecimento da fruta.

Com objetivo de verificar mecanismos para inativação da PFO em manga "Haden" e em purê de manga, estudos foram realizados por PARK *et al.* [18] e GUERRERO-BELTRÁN, SWANSON & BARBOSA-CÁNOVAS [7], respectivamente. A determinação da atividade dessa enzima foi feita por KATWA *et al.* [11] em extrato bruto de manga madura "Raspuri" (51,58 U/ml) e por GUERRERO-BELTRÁN, SWANSON & BARBOSA-CÁNOVAS [7] em purê de manga, neste último os autores avaliaram a atividade da enzima em diferentes pHs e determinaram atividade de 259,2 U, 23,1 U e 11,7 U para os pHs 4,4; 4,4 e 3,5, respectivamente. Estudos da PFO foram conduzidos também em caroço de manga [1] e na floração da mangueira [21].



**Figura 1.** Atividade da polifenol oxidase em polpa de manga "Tommy Atkins" em diferentes estádios de maturação.

O comportamento da POD em relação à maturação da manga foi diferente do apresentado pela PFO. O efeito da maturação foi positivo sobre a atividade da POD ocasionando aumento gradativo conforme o avanço da maturação, onde frutas verdes apresentaram atividade média de 3.884,84 U/ml/min, aumentando para 5.520,24 U/ml/min em frutas "de vez" e alcançando 7.063,71 U/ml/min em frutas maduras (Figura 2). Segundo VALDERRAMA, MARANGONI & CLEMENTE [24] o aumento da atividade da POD pode ser devido a um aumento da solubilidade desta enzima conforme a maturação da fruta.



**Figura 2.** Atividade da peroxidase em polpa de manga "Tommy Atkins" em diferentes estádios de maturação.

Resultados diferentes foram relatados por PRABHA & PATWARDHAN [19] ao estudarem a atividade da POD em casca e polpa de manga "Badami", observando aumento da atividade enzimática até a fruta atingir o climatério, diminuindo logo em seguida, o que ocasionou a formação de um pico de atividade durante o processo de maturação da manga. MARIN & CANO [16] estudaram a atividade de POD em polpa de manga cultivares Lippens e Smith e relataram também a ocorrência do aumento da atividade até o climatério da fruta.

Outros estudos da enzima POD em mangas foram conduzidos com diferentes objetivos como purificação de isoperoxidases [12, 13], determinação de atividade de isoperoxidases purificadas [14] e de frutas irradiadas [5].

# 4 - CONCLUSÕES

A maturação influenciou significativamente (p<0,05) na atividade das enzimas polifenol oxidase e peroxidase em polpas de manga "Tommy Atkins".

A PFO apresentou maior atividade em mangas verdes com contínua redução durante o processo de maturação, mostrando influência negativa do processo de maturação da manga.

Mangas verdes apresentaram menor atividade da enzima POD do que mangas maduras, ocorrendo aumento gradativo da atividade dessa enzima durante o amadurecimento da fruta.

As enzimas PFO e POD apresentaram comportamentos diferentes em mangas "Tommy Atkins", pois a atividade da PFO diminuiu enquanto a atividade da POD aumentou conforme o avanço do grau de maturação das frutas.

## 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AROGBA, S. S.; AJIBOYE, O. L.; UGBOKO, L. A.; ESSIENETTE, S. Y.; AFOLABI, P. O. Properties of polyphenol oxidase in mango (*Mangifera indica*) kernel. **Journal** of the Science of Food and Agriculture, v. 77, p. 459-462, 1998.
- [2] BRAVERMAN, J. B. S. Vitaminas. In: BRAVERMAN, J. B. S. Introduction a la Bioquimica de los Alimentos. Barcelona: Omega, cap. 14, p. 206-239, 1967.
- [3] EVANGELISTA, R. M. Qualidade de manga "Tommy Atkins" armazenadas sob refrigeração e tratadas com cloreto de cálcio pré-colheita. Lavras, 1999, 129p.

- Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Lavras, Universidade Federal de Lavras (UFLA).
- [4] FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I. C. Uso analítico de tecidos e extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 455-464, 2002.
- [5] FRYLINCK, L.; DUBERY, I., A.; SCHABORT, J. C. Biochemical changes involved in stress response and ripening behavior of γ-irradiated mango fruit. **Phytochemistry**, v. 26, n. 3, p. 681-686, 1987.
- [6] GOUPY, P.; AMIOT, M. J.; RICHARD-FORGET, F.; DUPRAT, F.; AUBERT, S.; NICOLAS, J. Enzymatic browning of model solutions and apple phenolic extracts by apple polyphenoloxidase. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 3, p. 497-505, 1995.
- [7] GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; SWANSON, B. G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Inhibition of polylhenoloxidase in mango puree with 4-hexylresorcinol, cysteine and ascorbic acid. Lebensmittel-Wissenschaft U.-Technologie, v. 38, p. 625-630, 2005.
- [8] HYMAVATHI, T. V.; KHADER, V. Carotene, ascorbic acid and sugar content of vacuum dehydrated ripe mango powders stored in flexible packaging material. Journal of Food Composition and Analysis, v. 18, p. 181-192, 2005.
- [9] IAGLER, F.; REICHER, F.; GANTER, J. L. M. S. Structural and rheological properties of polysaccharides from mango (*Mangifera indica* L.) pulp. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, n. 1, p. 9-17, 2002.
- [10] JHA, S. N.; KINGSLY, A. R. P.; CHOPRA, S. Physical and mechanical properties of mango during growth and storage for determination of maturity. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 1, p. 73-76, 2006.
- [11] KATWA L. C.; RAMAKRISHNA, M.; RAGHAVENDRA RAO, M. R. Purification and properties of polyphenol oxidase from mango peel (*Mangifera indica* var. Raspuri). **Journal of Food Biochemistry**, v. 6, p. 217-228, 1982.

- [12] KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. The thermostability of purified mango isoperoxidases. **Food Chemistry**, v. 47, n. 1, p. 53-59, 1993a.
- [13] KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. Purification of an anionic peroxidase isoenzyme from mango (*Mangifera indica* L. var. Chaunsa). **Food Chemistry**, v. 46, n. 1, p. 61-64, 1993b.
- [14] KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases. **Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 407-410, 1994.
- [15] LIMA, E. D. P. A. Purificação e caracterização bioquímica da polifenoloxidase (PPO) em fruto da família Anonácea - pinha (Annona squamosa L.). Campinas, 1999, 132p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- [16] MARIN, M. A.; CANO, M. P. Patterns of peroxidase in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruits. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 3, p. 690-692, 1992.
- [17] OKTAY, M.; KÜFREVIOGLU, Ö. I.; KOCACALISKAN, I.; SAKIROGLU, H. Polyphenoloxidase from Amasya apple. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 3, p. 494-505, 1995.
- [18] PARK, Y. K.; SATO, H. H.; ALMEIDA, T. D.; MORETTI, R. H. Polyphenol oxidase of mango (*Mangifera indica* var. Haden). **Journal of the Food Science**, v. 45, p.1619-1621, 1980.
- [19] PRABHA, T. N.; PATWARDHAN, M. V. Polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzyme activities and their isoenzyme patterns in ripening fruits. **Acta Alimentaria**, v. 15, n. 3, p. 199-207, 1986.
- [20] SELVARAJ, Y.; KUMAR, R. Studies on fruit softening enzymesand polyphenol oxidase activity in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. **Journal of Food Science and Technology**, v. 26, n. 4, p. 218-222, 1989.

- [21] SHARMA, R. R.; GOSWAMI, A. M.; SINGH, C. N.; CHHONKAR, O. P.; SINGH, G. Cathecolase and cresolase activities and phenolic content in mango (*Mangifera indica* L.) at panicle initiation. Scientia Horticulturae, v.87, p. 147-151, 2001.
- [22] SOUZA, J. S.; ALMEIDA, C. O.; ARAÚJO, J. L. P.; CARDOSO, C. E. L. Aspectos socioeconômicos. In: GENÚ, P. J. C.; PINTO, A. C. Q. (Ed.) A cultura da mangueira. Brasília: Embrapa, p. 20-29, 2002.
- [23] STATSOFT, INC. STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc, 2300 East 14<sup>th</sup> Street, Tulsa, OK 74104, Web: http://www.statsoft.com. 2000.
- [24] VALDERRAMA, p.; MARANGONI, F.; CLEMENTE, E. efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em maçã (*Mallus comunis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 321-325, 2001.

### 6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo auxílio financeiro.

# **CAPÍTULO 5**

Determinação de compostos fenólicos em manga (*Mangifera indica* L. cv. Tommy Atkins) por cromatografia líquida de alta eficiência

Andréia C. S. AZEVEDO; Gláucia M. PASTORE

#### **RESUMO**

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma das frutas mais consumidas no mundo, possuindo lugar de destaque entre as frutas tropicais. Originária da Ásia, a manga foi introduzida no Brasil por portugueses no século XVI e hoje representa uma das principais culturas no país. O objetivo deste trabalho foi avaliar os teores de compostos fenólicos de polpas de mangas verde, "de vez" e madura, em função do estádio de maturação usando CLAE. Foram pesquisados treze diferentes compostos fenólicos, dentre os quais, sete foram encontrados nas amostras analisadas, sendo eles, ácido gálico, metil galato, catequina, epicatequina, ácido ferúlico, ácido iso-ferúlico e propil galato. Os compostos responderam de maneira diferente à influência da maturação. A concentração de epicatequina apresentou aumento inicial seguido de redução significativa em seu teor até o final do período de avaliação. O propil galato, metil galato e ácido gálico apresentaram aumento gradual durante todo o período de avaliação com valores de 3,10 a 5,42; 10,29 a 16,29 e 3,80 a 9,68 mg/g de polpa liofilizada, respectivamente. As concentrações de catequina e ácido ferúlico aumentaram do estádio verde para "de vez", mantendo estáveis até o estádio maduro. O teor de ácido isoferúlico aumentou durante a maturação.

Palavras-chave: polifenóis, manga, maturação, CLAE

#### SUMMARY

The mango (Mangifera indica L.) is one of the most consumed in the world, possessing a top place among the tropical fruits. Originated of Asia, the mango was introduced in Brazil by the Portuguese in the 16<sup>th</sup> century and today it represents one of the main cultures in the country. The objective of this work was to evaluate the content of phenolic compounds in pulps of green, half-green and ripe mangos, as a function of the maturation stadium using HPLC. Thirteen different phenolic compounds were searched, seven were found in the analyzed samples: gallic acid, methyl gallate, catechin, epicatechin, ferulic acid, isoferulic acid and propyl gallate. The found substances have shown different reactions to the influence of the maturation. The concentration of epicatechin was first increased and decreased significantly in the end of the analysis. The concentration of propyl gallate, methyl gallate and gallic acid was gradually increase during the whole evaluation period presenting 3.10 a 5.42; 10.29 a 16.29 e 3.80 a 9.68 mg per gram of liofilized pulp respectively. The concentrations of catechin and ferulic acid increased from the green to half-green stadiums, and kept constant values until the ripe stadium. The concentration of isoferulic acid increased during the maturation.

**Keywords:** polyphenols, mango, maturation, HPLC

# 1 - INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos têm mostrado que muitos nutrientes de frutas e verduras podem ser benéficos ao corpo humano protegendo contra danos causados por oxigênio e nitrogênio reativos (Diplock et al., 1998; Soong & Barlow, 2004). Com isso, frutas e verduras têm atraído a atenção de consumidores e pesquisadores, devido à presença de tais substâncias, entre elas estão as substâncias com função antioxidante como os compostos fenólicos. Compostos fenólicos naturais têm apresentado atividade farmacológica controlando o estresse oxidativo, pois neutralizam radicais livres reativos gerando moléculas de baixa reação (Mishra et al., 2005). Portanto, o consumo de antioxidantes naturais na dieta humana é de grande importância (Ciéslik et al., 2006). É amplamente aceito que frutas e verduras têm muitas propriedades funcionais benéficas à saúde (Hertog et al., 1995), sendo sustentado por pesquisas relações positivas entre o consumo de frutas e redução da taxa de mortalidade causada por doenças cardiovasculares entre outras (Joshipura et al., 1999; Ciéslik et al., 2006). Essas influências positivas são atribuídas aos antioxidantes naturais presentes nesses alimentos (Rice-Evans et al., 1996; Gorinstein et al., 2000; Kondo et al., 2005).

A manga (*Mangifera indica* L.) originária do sul da Ásia, foi introduzida no Brasil por portugueses no século XVI e atualmente é considerada uma das principais frutas tropicais comercializadas no mundo (Schieber *et al.*, 2000, Pelegrine *et al.*, 2002; Berardini *et al.*, 2005b; Jha *et al.*, 2006) sendo muito apreciada pelo seu sabor, aroma, coloração e valor nutritivo (Cardello & Cardello, 1998; Torezan, 2000; Dak *et al.*, 2005).

Em 2004, a manga destacou-se por apresentar produção global excedendo 26 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2005), ocupando a quinta posição mundial entre as maiores culturas (Hymavathi & Krader, 2005). O comércio exterior igualmente apresentou tendência de elevado crescimento, destacando-se países como México, Filipinas, Holanda, Brasil e Peru (BNDES, 2003).

Tida como uma das frutas mais consumidas no mundo, a manga tem despertado interesse entre pesquisadores por suas possíveis propriedades nutricionais (Purankavara *et al.*, 2000; Schieber *et al.*, 2000; Anila & Vijayalakshmi, 2003; Berardini *et al.*, 2005a). Schieber *et al.* (2000) afirmaram que devido à presença de carotenóides e polifenóis a manga representa uma rica fonte de antioxidantes, tendo sido mencionada sua importância nutricional com relação à prevenção de doenças.

Dentre as cultivares de mangas produzidas no Brasil, a "Tommy Atkins" tem se destacado por ser a mais tolerante a certas doenças e apresentar bons atributos de qualidade, sendo assim uma das principais cultivares em importância comercial apresentando-se como a mais cultivada e exportada pelo país (Brasil, 1999). Atualmente a manga "Tommy Atkins" responde por aproximadamente 80% da produção nacional de manga (SOUZA *et al.*, 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os teores de compostos fenólicos da polpa de manga cv. Tommy Atkins (verde, "de vez" e madura) em função do estádio de maturação, através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

# 2 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 - Amostras

Foram adquiridos 5 lotes de manga (*Mangifera indica* cv. Tommy Atkins) no CEASA de Campinas/ São Paulo, procedentes da região Nordeste do Brasil. As frutas foram adquiridas no estádio verde de maturação. Todas as frutas foram lavadas com sabão neutro e água potável. Cada lote foi dividido em três partes, onde uma parte foi submetida à preparação das amostras para análises nos frutos ainda verdes. As outras duas partes foram armazenadas em temperatura ambiente até que as frutas atingissem a maturação "de vez" e totalmente madura, para então serem preparadas e analisadas. Para as análises foram retirados casca e caroço das frutas e as polpas foram homogeneizadas para uma maior uniformidade da amostra. Uma porção da polpa na forma *in natura* foi utilizada para a análise de fenólicos totais e a outra porção foi submetida ao processo de liofilização em etanol 95% para posterior análise qualitativa dos compostos fenólicos através do método CLAE. Cada amostra foi preparada com polpas de três frutas e todas as análises foram realizadas em triplicata.

## 2.2 - Obtenção dos extratos fenólicos para determinação de fenóis totais

A extração dos fenólicos totais em polpa de manga foi feita seguindo o método descrito por Queiroz *et al.* (2002), o qual utiliza como solução extratora uma solução de acetona-água na proporção 7:3 (v/v). Preparou-se uma suspensão contendo 10 g de polpa de fruta macerada com 300 ml da solução, a qual foi mantida por 24 horas no

escuro a temperatura de 25°C e agitação constante de 180 rpm. Em seguida o material foi filtrado e submetido à evaporação sob pressão de 40 mm Hg/ 40°C para eliminar a acetona. Os ensaios foram realizados com as amostras logo após o processo de evaporação.

## 2.3 - Determinação do teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi determinado usando o reagente Folin-Ciocalteau (Singleton & Rossi, 1965), onde foi preparada a reação contendo uma alíquota de 0,5 ml do extrato fenólico (ítem 2.2.), 2,5 ml de solução aquosa de Folin-Ciocalteau 10% e 2,0 ml de carbonato de sódio 7,5%. A mistura foi mantida em banho-maria a 50°C durante 5 minutos e então realizada a leitura por espectrofotometria a uma absorbância de 760 nm. O branco foi utilizado como referência, o qual foi preparado substituindo o extrato fenólico por água destilada.

Para a determinação dos fenólicos totais o mesmo procedimento foi realizado utilizando soluções padrões de ácido gálico, construindo-se uma curva com o composto em um intervalo de concentração de 1 a 50 μg/ml.

# 2.4 - Obtenção dos extratos fenólicos para identificação dos fenóis através de cromatografia líquida de alta eficiência

Os extratos fenólicos foram obtidos seguindo a metodologia descrita por Schieber *et al.* (2003), fazendo-se um macerado com 0,5 g de polpa de manga liofilizada, 0,2 g de ácido ascórbico e 10 ml de metanol 80% em HCl 2N. Misturados em "vortex" por 1 minuto e colocados em banho Maria a 60°C com agitação constante por 2 horas. Novamente misturados em "vortex" por 1 minuto e filtrados. As amostras foram submetidas ao ensaio.

## 2.5 - Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A identificação dos compostos fenólicos foi feita através de comparação com os tempos de retenção e espectro de absorção de padrões analíticos. Os padrões mangiferina, propil galato, metil galato, ácido gálico, ácido ferúlico, ácido isoferúlico, catequina, epicatequina, ácido fumárico, ácido *p*-cumárico, ácido caféico, ácido benzóico e ácido clorogênico foram adquiridos da Sigma-Aldrich Chem. Co. (Madrid, Spain), apresentando pureza entre 95-99%. Para cada composto foi realizada uma curva de calibração através da qual fez-se por comparação a quantificação dos compostos presentes nas amostras.

A separação dos polifenóis foi realizada usando um equipamento cromatógrafo líquido Shimadzu Co. modelo SPD-M10A, contendo software (Class Vp), uma bomba de gradiente, um auto-injetor, e um detector de arranjo diodo. A coluna utilizada para as

análises foi uma YMC-Pack ODS-A (C18 com 250 x 4,6 mm, o tamanho da partícula 5 μm) e uma coluna guarda do mesmo material. A coluna foi operada a 25°C.

A fase móvel utilizada seguiu a descrita por Schieber *et al.* (2000) e consistiu de 2% (v/v) de ácido acético em água (eluente A) e 0,5% de ácido acético em água e acetonitrila (50:50, v/v; eluente B). O programa de gradiente foi o seguinte: 10-55% eluente B (50 min), 55-100% eluente B (10 min), 100 a 10% eluente B (5 min). O volume da injeção para todas as amostras foi de 10 μl. Os cromatogramas foram obtidos a 280 nm e a taxa de vazão foi de 1 ml/min. O monitoramento do espectro foi feito num intervalo de 200 a 600 nm.

## 2.6 - Avaliação de atividade antioxidante usando o método DPPH

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada usando o teste DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) de acordo com a metodologia descrita por Chen *et al.* (1996). O DPPH é um radical estável que aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula diamagnética e desta forma, é reduzido na presença de um antioxidante.

Para a avaliação da atividade antioxidante as amostras de manga preparadas em metanol na concentração de 200 mg/ml foram submetidas à reação com DPPH, onde foi misturado 4 ml da amostra em 1 ml da solução DPPH a 0,05 mM. A redução do radical do DPPH foi medida através do monitoramento contínuo do declínio da absorbância a 517 nm por 30 minutos, ao abrigo da luz, até valores estáveis de

absorção. A absorbância foi convertida em porcentagem da atividade antioxidante (AA) usando a seguinte fórmula:  $AA\% = 100 - \{[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100] / Abs_{controle}\},$  onde AA: atividade antioxidante;  $Abs_{amostra}$ : valor de leitura da amostra;  $Abs_{branco}$ : valor de leitura do branco;  $Abs_{controle}$ : valor de leitura do controle negativo.

Um controle foi feito com 4 ml de metanol e 1 ml de DPPH (controle negativo) e um branco foi realizado para o extrato (4 ml) e 1 ml de metanol. Os testes foram feitos em triplicata.

A capacidade antioxidante de cada amostra foi expressa como a quantidade de amostra necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH para 50% (EC<sub>50</sub>).

Os valores das foram calculados por regressão linear e os resultados foram apresentados como média.

## 2.7 - Análise estatística

Foi realizada análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey utilizando-se o programa STATISTICA, STATSOFT (2000). Foram avaliadas as diferenças significativas (p<0,05) para os polifenóis nos diferentes estádios de maturação da manga.

## 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 - Análise de fenóis totais

Houve diferença significativa entre os valores médios de compostos fenólicos na polpa de manga "Tommy Atkins" nos estádios de maturação verde, "de vez" e maduro, conforme demonstrado na Tabela 1.

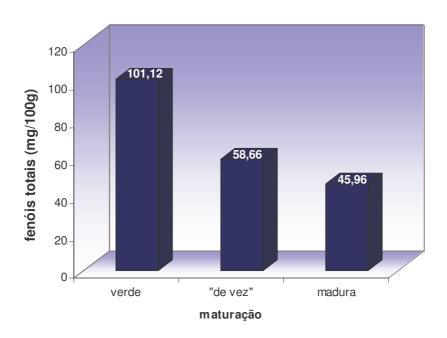
O teor de fenóis totais em polpa de manga cv. Tommy Atkins apresentou diferença significativa entre os estádios de maturação, com valores médios de 101,12 mg/100 g, 58,66 mg/100 g e 45,96 mg/100 g em mangas verdes, "de vez" e maduras, respectivamente, mostrando que com o processo de amadurecimento da fruta ocorreu uma diminuição gradativa desses fenóis (Figura 1).

**Tabela 1.** Teor de fenóis totais em polpa de mangas "Tommy Atkins" nos diferentes estádios de maturação.

	FENÓIS TOTAIS (mg/100 g) maturação da manga					
Lotes	Verde	"de vez"	madura			
<b>1</b> <sup>a</sup>	117,44 a	40,88 c	36,46 cd			
<b>2</b> <sup>a</sup>	101,02 b	60,97 b	49,34 b			
<b>3</b> <sup>a</sup>	80,52 c	45,30 c	31,68 d			
<b>4</b> <sup>a</sup>	99,78 b	62,68 b	39,32 c			
<b>5</b> <sup>a</sup>	106,82 ab	83,44 a	73,02 a			
Média <sup>b</sup>	101,12 a	58,66 b	45,96 c			
DP °	13,46	16,81	16,45			

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey. <sup>c</sup> Estimativa de desvio padão.

Poucos são os estudos quantitativos do teor de fenóis totais em mangas. Os dados obtidos são compatíveis aos citados por Lakshminarayana (1980) que declarou que o conteúdo de compostos fenólicos em mangas maduras variaram de 31 mg/100 g a 75 mg/100 g. Joshi & Roy (1985) encontraram altos valores de compostos fenólicos em mangas "Alphonso", entre 85 mg/100 g a 140 mg/100 g quando verdes, caindo para valores entre 56 mg/100 g a 76 mg/100 g em frutas maduras. Soong & Barlow (2004) analisaram conteúdo fenólico em polpa e caroço de manga onde obtiveram 117 mg/100 g em caroço e 2,4 mg/100 g em polpa. Soong & Barlow (2005) encontraram ácido gálico e ácido elágico em caroço de manga em grande quantidade.



**Figura 1.** Teor de fenóis totais em polpa de mangas "Tommy Atkins" em diferentes estádios de maturação.

Comparando o comportamento observado para o teor de fenóis totais de mangas observado neste estudo com o ocorrido em outras frutas, essa mesma redução dos fenóis totais em função do amadurecimento da fruta foi reportada em uva (Esteban et al., 2001), acerola (Lima et al., 2005), pêra (Amiot et al., 1995) e maçã (Burda et al., 1990). Segundo Lima et al. (2005) durante a maturação da fruta ocorre degradação dos fenóis, de um modo geral, mas resultados adversos podem ocorrer provavelmente por influências climáticas. Lizada (1993) conclui que os níveis de fenólicos variam extensivamente e são dependentes da cultivar, do estádio fisiológico, entre outros.

## 3.2 – Análise de compostos fenólicos por CLAE

Com relação aos estudos cromatográficos, a Figura 2 mostra o cromatograma obtido para os padrões e a Figura 3 apresenta um cromatograma de uma amostra de manga. Dos treze compostos fenólicos avaliados, sete foram encontrados nas amostras de polpa de manga analisadas, sendo eles, ácido gálico, metil galato, catequina, epicatequina, ácido ferúlico, ácido isoferúlico e propil galato (Tabela 2). Ácido benzóico, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido fumárico, ácido *p*-cumárico e mangiferina não foram encontrados no material estudado através da metodologia utilizada.

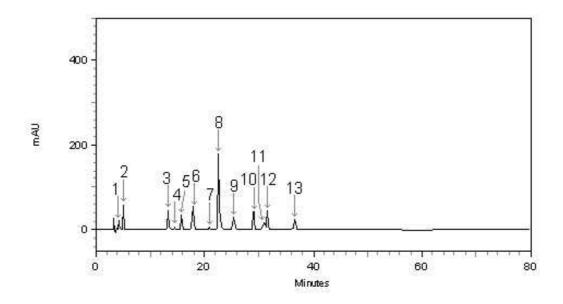
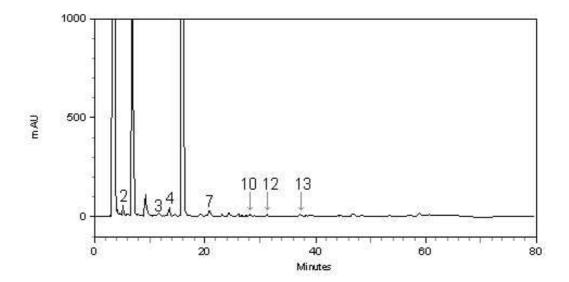


Figura 2. Cromatograma de padrões de polifenóis. 1- ác. fumárico; 2- ác. gálico; 3- metil galato; 4- catequina; 5- ác. clorogênico; 6- ác. caféico; 7- epicatequina; 8- mangiferina; 9- ác. p-cumárico; 10- ác. ferúlico; 11- ác. benzóico; 12- ác. isoferúlico; 13- propil galato. Condições cromatográficas descritas no texto.



**Figura 3.** Cromatograma da polpa da manga cv. Tommy Atkins. 2- ác. gálico; 3- metil galato; 4-catequina; 7- epicatequina; 10- ác. ferúlico; 12- ác. isoferúlico; 13- propil galato. Condições cromatográficas descritas no texto.

Tabela 2. Compostos fenólicos de polpa de manga nos diferentes estádios de maturação (mg/g).

	PROPIL GALATO maturação das frutas		ÁCIDO FERRÚLICO maturação das frutas		ÁCIDO ISOFERRÚLICO maturação das frutas			ÁCIDO GÁLICO maturação das frutas				
Lotes	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura
1 a	3,01 ab	4,12 a	5,44 a	0,80 a	1,21 a	1,08 a	2,78 b	3,38 c	3,71 c	3,92 a	3,32 b	10,07 a
2 a	3,03 b	4,16 a	5,42 a	0,90 a	1,42 a	1,72 a	2,92 b	4,96 a	5,04 a	3,70 b	4,40 a	8,36 b
3 <sup>a</sup>	3,07 b	4,19 a	5,36 a	1,31 a	1,36 a	1,89 a	3,49 a	3,64 c	4,35 b	3,49 c	3,04 b	7,77 c
4 <sup>a</sup>	3,20 a	4,21 a	5,46 a	0,72 a	1,12 a	2,60 a	2,61 b	4,12 b	4,22 b	4,07 a	3,99 a	8,51 b
Média <sup>b</sup>	3,10 c	4,17 b	5,42 a	0,93b	1,91 a	1,82 a	2,95 c	4,03 b	4,33 a	3,80 b	3,69 b	9,68 a
DP °	0,08	0,04	0,04	0,26	0,14	0,63	0,38	0,69	0,55	0,25	0,62	0,98

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey; <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey; <sup>c</sup> Estimativa de desvio padrão

**Tabela 2 (Continuação).** Compostos fenólicos de polpa de manga nos diferentes estádios de maturação (mg/g).

	METIL GALATO maturação das frutas			CATEQUINA maturação das frutas			EPICATEQUINA maturação das frutas		
Lotes	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura	verde	'de vez'	madura
1 a	10,07 a	7,77 c	15,23 c	9,5 c	13,32 b	14,29 c	27,82 a	27,69 b	26,39 c
2 a	8,37 b	9,90 b	17,36 b	9,33 b	16,37 a	16,91 b	25,32 b	31,01 a	32,89 a
3 a	7,77 c	11,37 a	14,11 d	10,20 a	15,69 a	18,67 a	27,51 a	29,79 a	28,77 b
4 <sup>a</sup>	8,51 b	12,12 a	19,24 a	8,59 c	13,87 b	9,37 d	24,77 b	25,38 c	20,99 d
Média <sup>b</sup>	8,68 c	10,29 b	16,49 a	9,16 b	14,81 a	14,81 a	26,26 c	28,47 a	27,26 b
DP °	0,98	1,92	2,28	0,66	1,45	4,05	0,81	0,47	0,55

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna entre as médias parciais não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey; <sup>b</sup> Valores assinalados com a mesma letra na última linha entre as médias finais, para o mesmo parâmetro, não diferem significativamente (p<0.05), segundo o teste de Tukey; <sup>c</sup> Estimativa de desvio padrão

Os compostos fenólicos responderam de maneira diferente à influência da maturação (Figura 4). A concentração de epicatequina apresentou aumento inicial seguido de redução significativa até o final do período de avaliação. Os teores de propil galato, metil galato e ácido gálico aumentaram gradualmente durante todo o período de avaliação com valores de 3,10 a 5,42, 10,29 a 16,29 e 3,80 a 9,68 mg/g de polpa liofilizada, respectivamente. As concentrações de catequina e ácido ferúlico apresentaram aumento inicial do estádio verde para "de vez", mantendo estáveis até o estádio maduro. O teor de ácido isoferúlico aumentou durante a maturação.

Saeed (1976) detectou compostos fenólicos mangiferina e ácido gálico em polpa de manga "Alphonso", "Kitchener" e "Abu Samaka" e não detectou ácido clorogênico e ácido cafeíco, que são precursores de substâncias responsáveis pelo escurecimento enzimático de frutos. Lakshminarayana (1980) relatou que em mangas ocorre a predominância de compostos fenólicos hidrolizáveis, do tipo galotaninos, ácido m-digálico e mangiferina. Estes fenólicos não causam escurecimento quando ocorre perda da compartimentalização.

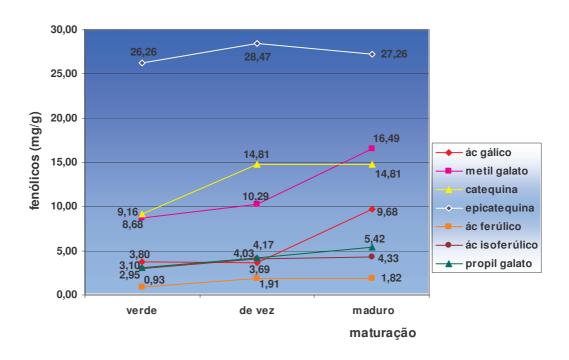


Figura 4. Teor de polifenóis em manga "Tommy Atkins".

## 3.3 - Análise de atividade antioxidante por DPPH

Os resultados obtidos dos testes frente ao método do radical livre DPPH estão apresentados na Tabela 3 e permitem fazer uma comparação do potencial antioxidante entre as amostras de polpa de diferentes estádios de maturação.

**Tabela 3.** Valores de AA%<sub>máxima</sub> e EC<sub>50</sub> dos extratos de polpa de manga

	AA (%) maturação das frutas			EC50 (μg/ml) maturação das frutas		
	verde	"de vez"	madura	verde	"de vez"	madura
Média	42,41 ± 0,3	29,99 ± 1,0	25,95 ±0,1	235,79 ± 1,7	333,44 ± 11,1	385,36 ± 0,2

Os valores obtidos da regressão linear possuem nível de confiança de 95%. EC<sub>50</sub> é definida como a quantidade de amostra suficiente para reduzir a concentração inicial de DPPH para 50%.

A figura 5 ilustra que os resultados de atividade antioxidante obtidos através do método de DPPH para a polpa de manga revelaram que polpas de mangas verdes possuem maior capacidade antioxidante (42,41%) do que "de vez" (29,99%) e madura (25,95%), ocorrendo uma redução da capacidade antioxidante da fruta com a evolução da maturação.

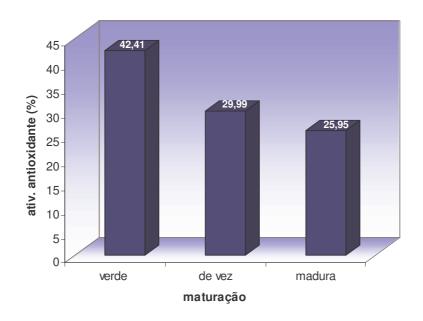


Figura 5. Atividade antioxidante em polpa de manga "Tommy Atkins".

Correlacionando o teor de fenólicos totais e a capacidade antioxidante na polpa de manga observa-se interação entre os dois atributos, pois a atividade antioxidante foi mais expressiva em polpa verde coincidindo com o estádio de maturação em que o teor de fenólicos foi maior. Nos estádios "de vez" e maduro ocorre redução de ambos

atributos, reforçando a afirmação de Schieber *et al.* (2000) que atribuem que a capacidade antioxidante da fruta está relacionada com o teor de fenólicos nela presente.

## 4 - CONCLUSÕES

O teor de fenólicos totais variou na polpa de manga "Tommy Atkins" dependendo do estádio de maturação, apresentando maior teor em polpas de frutas verdes que em frutas maduras.

A maturação apresentou influência na composição dos fenólicos em polpa da manga, causando modificações na concentração desses compostos, mas não na composição qualitativa dos mesmos.

Através da metodologia usada, foram determinados em polpa de manga os compostos, propil galato, metil galato, ácido ferúlico, ácido isoferúlico, catequina, epicatequina e ácido gálico.

O epicatequina destacou-se dentre os compostos encontrados por estar em maior concentração na polpa, nos três estádios de maturação.

O teste de atividade antioxidante mostrou que polpa de manga verde tem maior capacidade antioxidante do que polpa de manga madura, mostrando correlação positiva com o teor de fenólicos totais.

## 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIOT, M. J.; TACCHINI, M.; AUBERT, S. Y.; OLESZEK, W. Influence of cultivar, maturity stage, and storage conditions on phenolic composition and enzymatic browning of pear fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n 5, p. 1132-1137, 1995.

ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Antioxidant action of flavonoids from *Mangifera indica* and *Emblica officinalis* in hypercholesterolemic rats. **Food Chemistry**, v. 83, p. 569-574, 2003.

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

BERARDINI, N.; KNÖDLER, M.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, *in press*, 2005b.

BNDES. A cultura da manga: Desempenho no período 1961/2001. Rio de Janeiro, v. 17, n. 3, p. 3-68, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Padrões de identidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da União**. Brasília, 1999.

BURDA, S.; OLESZEK, W.; LEE, C. Y. Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 4, p. 945-948, 1990.

CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina C, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangifera indica* L.) var. Haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 211-217, 1998.

CHEN, J. H.; SHAO, Y.; HUANG, M. T.; CHIN, C. K.; HO, C. T. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on human leukemia HL-60 cells. **Cancer Letters**, v. 108, n. 2, p. 211-214, 1996.

CIÉSLIK, E.; GREDA, A.; ADAMUS, W. Contents of polyphenols in fruit and vegetables. **Food Chemistry**, v. 94, p. 135-142, 2006.

DAK, M.; VERMA, R. C.; SHARMA, G. P. Flow characteristics of juice of "Totapuri" mangoes. **Journal of Food Engineering**, *in press*, 2005.

DIPLOCK, A.; CHARLEUX, J.; GROZIER-WILLI, G.; KOK, K.; RICE-EVANS, C.; ROBERFROID, M.; STAHL, W.; VINA-RIBES, J. Functional food sciences and defence against reactive oxidative species. **British Journal of Nutrition**, v. 80, p. 77-82, 1998.

ESTEBAN, M. A.; VILLANUEVA, M. J.; LISSARAGUE, J. R. Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 409-420, 2001.

FAOSTAT. **FAO Statistical Databases**. Agriculture. <a href="http://apps.fao.org">http://apps.fao.org</a>. 2005. Acessado em fevereiro, 2005.

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

HERTOG, M. G. L.; KROMHOUT, D.; ARAVANIS, C.; BLACKBURN, H.; BUZINA, R.; FIDANZA, F.; GIAMPAOLI, S.; JANSEN, A.; MENOTTI, A.; NEDELJKOVIC, S.; PEKKARIN, M.; SIMUC, B. S.; TOSHIMA, H.; FERKENS, E. J. M.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **Archives of Internal Medicine**, v. 155, p. 381-386, 1995.

HYMAVATHI, T. V.; KHADER, V. Carotene, ascorbic acid and sugar content of vacuum dehydrated ripe mango powders stored in flexible packaging material. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 181-192, 2005.

JHA, S. N.; KINGSLY, A. R. P.; CHOPRA, S. Physical and mechanical properties of mango during growth and storage for determination of maturity. **Journal Food Engineering**, v. 72, n. 1, p. 73-76, 2005.

JOSHI, G. D.; ROY, S. K. Spongy tissue in mango, a physiological disorder. **Indian Horticulture**, v. 29, n. 4, p. 21-22, 1985.

JOSHIPURA, K. J.; ASCHERIO, A.; MANSON, J. E.; STAMPFER, M. J.; RIMM, E. B.; SPEIZER, F. E.; HENNEKENS, C. H.; SPIEGELMAN, D.; WILLETT, W. C. Fruit and vegetable intake in relation to risk of ischemic stroke. **Journal of American Medial Association**, v. 282, p. 1233-1239, 1999.

KONDO, S.; KITTIKORN, M.; KANLAYANARAT, S. Preharvest antioxidant activities of tropical fruit and the effect of low temperature storage on antioxidants and jasmonates. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, p. 309-318, 2005.

LAKSHMINARAYANA, S. Mango. In: NAGY, S.; SHAW, P. E. **Tropical and subtropical fruits.** 563p., 1980.

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

LIZADA, C. Mango. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (ed.) **Biochemistry of fruit ripening,** London: Chapman & Hall cap.8, p. 255-266, 1993.

MISHRA, B.; INDIRA-PRIYADARSINI, K.; SUDHEERKUMAR, M.; UNNIKRISHHNAN, M. K.; MOHAN, H. Pulse radiolysis studies of mangiferin: A *C-glycosyl* xanthone isolated from *Mangifera indica*. **Radiation Physics and Chemistry**, in press, 2005.

PELEGRINE. D. H.; SILVA, F. C.; GASPARETTO, C. A. Rheological behaviour of pineapple and mango pulps. **Lebensmittel-Wissenschaft U-Technologie**, v. 35, p. 645-648, 2002.

PURAVANKARA, D.; BOGHRA, V.; SHARMA, R. S. Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica* L) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butter-fat). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 522-526, 2000.

QUEIROZ, C. R. A. A.; de MORAES, S. A. L.; do NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroreira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 493-497, 2002.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; BOLWELL, P. G. BRAMLEY, P. M., PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoides. **Free Radical Research**, v. 22, n. 4, p. 375-383, 1995.

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

SCHIEBER, A.; ULLRICH, W.; CARLE, R. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 1, p. 161-166, 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 liquid chromatography-eletrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 5, p. 5006-5011, 2003.

SINGLETON, V. I.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

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

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lourr.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. **Food Chemistry**, in press, 2005.

SOUZA, J. S.; ALMEIDA, C. O.; ARAÚJO, J. L. P.; CARDOSO, C. E. L. Aspectos socioeconômicos. In: GENÚ, P. J. C.; PINTO, A. C. Q. (Ed.) **A cultura da mangueira**. Brasília: Embrapa, p. 20-29, 2002.

TOREZAN, G. A. P. Tratamento enzimático em suco de manga (*Mangifera indica* L. cv. Keitt) para redução dos teores de sacarose e glicose e obtenção de geléia através de processo contínuo. Campinas, 2000, 158p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

#### **6. AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao CNPq pelo auxílio financeiro.

CAPÍTULO 6

Quantificação da mangiferina em manga (*Mangifera indica* L. cv. Tommy Atkins)

por cromatografia líquida de alta eficiência

Andréia C. S. AZEVEDO, Marcelo A. PRADO, Gláucia M. PASTORE

**RESUMO** 

Mangiferina é uma xantona com propriedades farmacológicas comprovadas. Recentes

estudos têm mostrado que a mangiferina tem um potencial como agente antioxidante,

antiviral e antitumoral. Cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para

determinar o conteúdo de mangiferina em mangas "Tommy Atkins" produzidas no

Brasil. O estudo foi realizado em mangas verdes, "de vez" e maduras, analisando cada

parte da fruta (casca, polpa e caroço). A separação foi conduzida utilizando coluna C18

e a fase móvel utilizada foi água e acetonitrila (5:1; v/v) contendo 0,2% de ácido acético

glacial. A mangiferina foi detectada apenas na casca, estando presente nos três

diferentes estádios de maturação estudados. O processo de amadurecimento da manga

mostrou influenciar no conteúdo de mangiferina. Durante a maturação o conteúdo de

mangiferina foi reduzido de 138,24 mg/g para 72,80 mg/g em cascas de mangas verdes

e maduras, respectivamente.

Palavras-chave: mangiferina, manga, CLAE, maturação

145

#### **SUMMARY**

Mangiferin is a xanthone with proven pharmacological properties. Recent studies have shown that mangiferin has a potential as an antioxidant, antiviral and antitumoral agent. High Performance Liquid Chromatography was used to determine the mangiferin content in mangos "Tommy Atkins" produced in Brazil. The study was accomplished in green, half ripe and ripe mangos, analyzing each part of the fruit (peel, pulp and pit). The separation was performed using a C18 reversed phase column and the mobile phase was water and acetonitrile (5:1; v/v) containing 0.2% of glacial acetic acid. The mangiferin was detected in the peel, being present in the three different maturation stadiums studied. Ripening process showed to influence in the mangiferin content. During the matutation process, mangiferin content was reduced from 138.24 mg/g to 72.80 mg/g in peels of green and ripe mangos, respectively.

**Keywords:** mangiferin, mango, HPLC, maturation

# 1 - INTRODUÇÃO

0 flavonóide mangiferina 1,3,6,7-tetrahidroxixantona-C2-β-D-glicosídeo (C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>11</sub>), é uma xantona derivada da *C*-glicosilxantona (Bhatia *et al.*, 1967; Aritomi & Kawasaki, 1969; Nong et al., 2005). A mangiferina é um polifenol natural e está distribuída em plantas superiores sendo encontrada nas famílias Anacardiaceae e Gentianaceae, especialmente em folhas e casca (Yoshimi et al., 2001) e também em algumas samambaias (Benett & Lee, 1989). Em estudos, a mangiferina já foi detectada em diferentes partes da planta como raiz (Dai et al., 2004), folha (El-Sissi et al., 1965; Yoshimi et al., 2001) e fruta (Schieber et al., 2000). Sua estrutura molecular foi elucidada por Nott & Roberts (1967) (Figura 1).

**Figura 1.** Estrutura da mangiferina (1,3,6,7-tetrahidroxixantona-C2-β-D-glicosídeo) (Nott & Roberts, 1967).

Alguns países utilizam produtos preparados contendo extrato de mangiferina visando tratamentos ou prevenção de doenças. Nas Filipinas, folhas de manga são preparadas em forma de chá ou suco e são usadas em controle de disenteria (Quisumbing, 1978). Em Cuba, utiliza-se o Vimang®, um extrato comercial a base de mangiferina produzido em escala industrial para ser usado como suplemento nutricional, cosmético e na fitomedicina (Núñez-Sellés et al., 2002; Beltrán et al., 2004). Na China os produtos Sann-joong-kuey-jian-tang (Lin et al., 1996), Zi-Shen-Pill (Dai et al., 2004), Shiau-feng-saan (Jong et al., 2005) e Dang-guei-nian-tong-tang (Jong et al., 2005) possuem extrato de mangiferina em sua composição e são utilizados na medicina chinesa tradicional. Na Índia, extrato de mangiferina é usado na medicina tradicional para combate a melancolia e debilidades nervosas (Brattacharya et al., 1972). Há relatos de outros potenciais da mangiferina como antiinflamório (Delgado & Garrido, 2001; Béltran et al., 2004; Leiro et al., 2004; Garrido et al., 2005), antitumoral (Yoshimi et al., 2001), imunoprotetor (Leiro et al., 2004; Muruganandan et al., 2005ab), antioxidante (Sanchez et al., 2000; Sato et al., 1992, Garrido et al., 2004; Mishra et al., 2005, Andreu et al., 2005 ab), antidiabético (Garcia et al., 2004),

antiviral (Guha *et al.*, 1996; Leiro *et al.*, 2003); controlador de sífilis (Garcia *et al.*, 2004), entre outros.

O objetivo deste trabalho foi investigar a presença do composto fenólico mangiferina em casca, polpa e caroço de manga "Tommy Atkins" e verificar a influência da maturação no teor desse composto.

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 - Amostras

Foram adquiridos 5 lotes de manga (*Mangifera indica* L., cv. Tommy Atkins) no CEASA de Campinas/ São Paulo, procedentes da região Nordeste do Brasil. As frutas foram adquiridas no estádio verde de maturação.

Todas as frutas foram lavadas com sabão neutro e água potável. Cada lote foi dividido em três partes, onde uma parte foi submetida à preparação das amostras para análises nas frutas ainda verdes. As outras duas partes foram armazenadas em temperatura ambiente até que as frutas atingissem a maturação "de vez" e totalmente madura, para então serem preparadas e analisadas.

Para as análises foram separados cascas, polpas e caroços. Cada amostra foi preparada com três frutas e todas as amostras foram injetadas em triplicata no cromatógrafo.

# 2.2 - Obtenção dos extratos para determinação de mangiferina através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os extratos de mangiferina foram obtidos partindo da metodologia descrita por Nysschen *et al.* (1996) com modificações. Dez gramas de amostra (polpa, casca ou caroço) com 50 ml de metanol foram homogeneizados utilizando ultra-turrax com velocidade rotacional de 2400 rev./min durante 2 minutos. O extrato foi mantido em temperatura ambiente por 4 horas. E então filtrado para posterior injeção no cromatógrafo.

## 2.3 - Cromatografia líquida de alta eficiência

A identificação da mangiferina foi feita através da comparação do tempo de retenção e do espectro de absorção do padrão comercial adquirido da Sigma-Aldrich Chem. Co. (Madrid, Spain), apresentando pureza 99% com o pico da amostra. A mangiferina foi preparada em metanol na concentração de 1 mg/3 ml e o volume da injeção foi 20 μl.

Para análise foi utilizado cromatógrafo líquido marca HP série 1050, com sistema de bombeamento isocrático; válvula injetora tipo "Rheodyne", com alça de amostragem de 20 μL e detector de arranjo de diodos (DAD) HP série 1050, acoplado a um "software HP Chemstation", que apresenta o recurso de visualização de até cinco comprimentos de ondas diferentes em uma mesma corrida. Os comprimentos de onda utilizados na detecção foram 260, 280 e 320 nm.

Para a separação cromatográfica utilizou-se uma coluna Spherisorb ODS-2 de 150 mm x 4,6 mm d. i.,  $C_{18}$  de 5  $\mu$ m, protegida por uma coluna de guarda Micropore 30mm x 4,6 mm d.i.  $C_{18}$ , de 10  $\mu$ m.

A fase móvel utilizada seguiu a descrita por Schieber *et al.* (2000) com modificações e consistiu de 0,5% (v/v) de ácido acético em água e acetonitrila (5:1, v/v), utilizando sistema de bombeamento isocrático, com taxa de vazão de 1 ml/minuto. O volume da injeção para todas as amostras foi de 10μl. Os cromatogramas foram obtidos a260, 280 e 320 nm.

## 2.4 - Avaliação de atividade antioxidante usando o método DPPH

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada usando o teste DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) de acordo com a metodologia descrita por Chen *et al.* (1996). O DPPH é um radical estável que aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula diamagnética e desta forma, é reduzido na presença de um antioxidante.

Para a avaliação da atividade antioxidante as amostras de manga preparadas em metanol na concentração de 200 mg/ml foram submetidas à reação com DPPH, onde foi misturado 4 ml da amostra em 1 ml da solução DPPH a 0,05 mM. A redução do radical do DPPH foi medida através do monitoramento contínuo do declínio da absorbância a 517 nm por 30 minutos, ao abrigo da luz, até valores estáveis de absorção. A absorbância foi convertida em porcentagem da atividade antioxidante (AA)

usando a seguinte fórmula:  $AA\% = 100 - \{[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100] / Abs_{controle}\},$  onde AA: atividade antioxidante;  $Abs_{amostra}$ : valor de leitura da amostra;  $Abs_{branco}$ : valor de leitura do branco;  $Abs_{controle}$ : valor de leitura do controle negativo.

Um controle foi feito com 4 mL de metanol e 1 mL de DPPH (controle negativo) e um branco foi realizado para o extrato (4 mL) e 1 mL de metanol. Os testes foram feitos em triplicata. A capacidade antioxidante de cada amostra foi expressa como a quantidade de amostra necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH para 50% (EC<sub>50</sub>).

Os valores das foram calculados por regressão linear e os resultados foram apresentados como média.

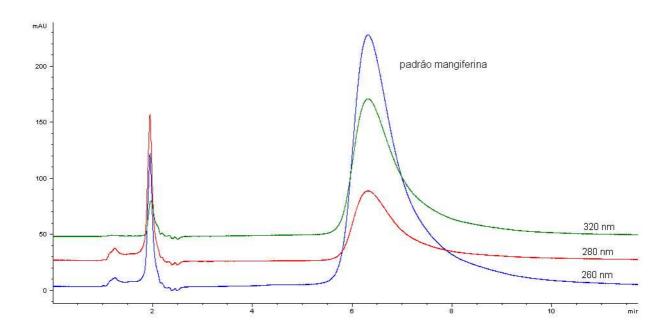
### 2.5 - Análise estatística

Foi realizada análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey utilizando-se o programa STATISTICA, STATSOFT (2000). Foram avaliadas as diferenças significativas (p<0,05) para o teor de mangiferina analisado nos diferentes estádios de maturação da manga.

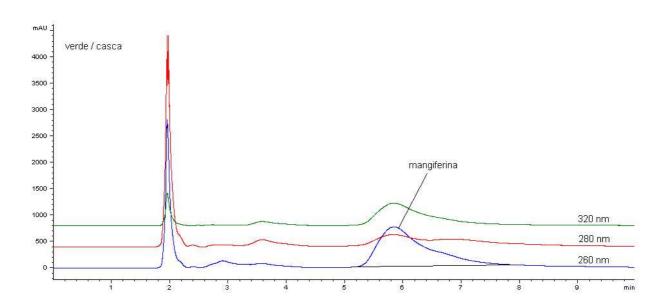
## 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 - Análise de mangiferina por CLAE

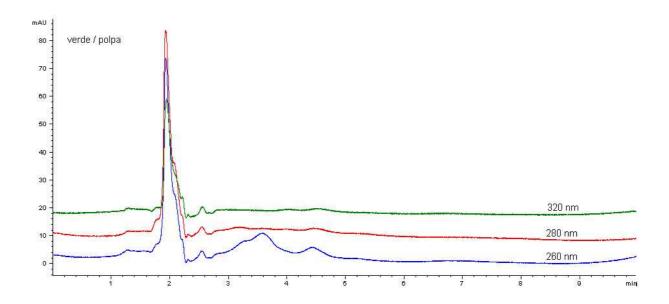
Inicialmente foi feito o monitoramento do padrão mangiferina nas mesmas condições cromatográficas utilizadas para as amostras de manga, verificando tempo de retenção e espectro de absorção, monitorando em três comprimentos de onda (260, 280 e 320 nm). O tempo de retenção do padrão mangiferina nas condições descritas foi de 6,3 minutos (Figura 2). Os cromatogramas das amostras de manga verde, da casca (Figura 3), polpa (Figura 4) e caroço (Figura 5) representam os perfis cromatográficos encontrados em todos os diferentes estádios de maturação da manga "Tommy Atkins" analisados.



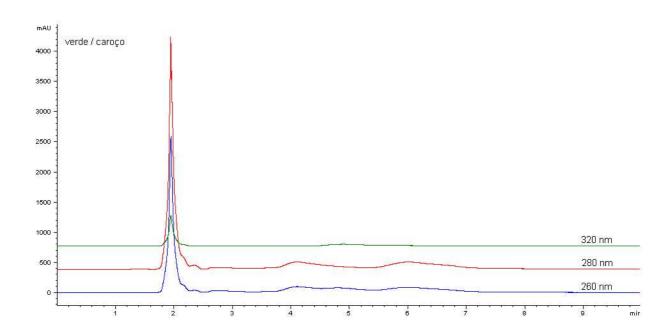
**Figura 2.** Cromatograma do padrão mangiferina. Condições cromatográficas descritas no texto.



**Figura 3.** Cromatograma da amostra de casca da manga verde. Condições cromatográficas descritas no texto.



**Figura 4.** Cromatograma da amostra de polpa da manga verde. Condições cromatográficas descritas no texto.



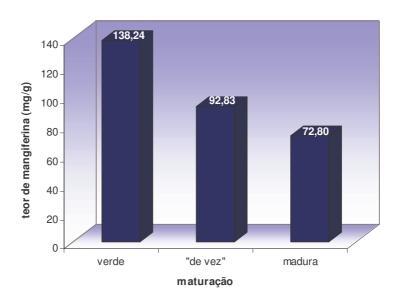
**Figura 5.** Cromatograma da amostra de caroço da manga verde. Condições cromatográficas descritas no texto.

Dentre as partes analisadas, somente na casca foi detectada a presença da mangiferina, com concentrações variando conforme o estádio de maturação, conforme descrito na Tabela 1. O teor de mangiferina apresentou redução gradativa durante a maturação da manga, com valores médios de 138,24 mg/g em frutas verdes, 92,83 mg/g e 72,80 mg/g em frutas "de vez" e maduras, respectivamente (Figura 6). Através do teste de Tukey, pode-se notar que ocorreu diferença significativa (p<0,05) entre as médias das análises nos diferentes estádios de maturação, mostrando que a maturação influenciou no teor de mangiferina em casca de manga e ainda que essa influência ocorreu de maneira negativa, pois à medida que a maturação progrediu houve diminuição desse teor, em todos os lotes analisados.

**Tabela 1.** Teor de mangiferina em casca, polpa e caroço de manga "Tommy Atkins" nos estádios de maturação verde, "de vez" e maduro.

	MANGIFERINA (mg/g) maturação das frutas					
partes da fruta	verde	"de vez"	madura			
casca <sup>a</sup>	138,24 ± 9,01a	92,83 ± 2,64 b	72,80± 3,83 c			
polpa	nd	nd	nd			
caroço	nd	nd	nd			

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> médias e estimativa de desvio padrão das análises de cinco diferentes lotes. Valores assinalados com a mesma letra na mesma linha não diferem significativamente (p<0,05), segundo o teste de Tukey; nd significa composto não detectado.



**Figura 6.** Teor de mangiferina em casca de manga "Tommy Atkins" nos diferentes estádios de maturação.

Na literatura são encontrados poucos estudos relacionando o teor de mangiferina em frutas. Schieber *et al.* (2000) estudando polifenóis em extrato bruto de

purê de manga, detectaram e quantificaram a mangiferina através de CLAE mencionando que o teor do composto em purê de manga foi de 4,4 mg/Kg.

Saeed (1976) detectou compostos fenólicos mangiferina em polpa de manga "Alphonso", "Kitchener" e "Abu Samaka". Lakshminarayana (1980) relatou que em mangas ocorre a predominância de compostos fenólicos hidrolizáveis, dentre eles a mangiferina.

Schieber *et al.* (2003) identificaram a mangiferina em casca de manga "Tommy Atkins", mostrando ser o composto fenólico predominante no material estudado, permitindo os autores concluir que extratos de casca de manga representam uma valiosa fonte desse composto.

Berardini *et al.* (2005a) demonstraram que casca de manga são potenciais fontes de flavonóis e xantona *C*-glicosídeo ao estudar 14 cultivares da fruta. Dentre as cultivares de mangas analisadas, a "Tommy Atkins" foi a mais promissora fonte uma vez que apresentou o maior conteúdo de polifenóis e também uma elevada qualidade de pectina. Em sequência, Berardini *et al.* (2005b) estudaram a composição fenólica em casca de mangas "Tommy Atkins" e detectaram um total de 1.418,8 mg/Kg de compostos fenólicos, sendo que a maior parte (1.190,9 mg/Kg) correspondeu ao teor de mangiferina. Comparando os dados de teor de mangiferina obtidos por Berardini *et al.* (2005b) e os obtidos neste trabalho, o último apresentou 10 vezes mais teor de mangiferina, considerando frutos verdes. De acordo com Berardini *et al.* (2005b) a variação pode ser atribuída a fatores como condições de solo, clima, estádio de maturação, aspecto fitossanitário e condições de armazenamento.

## 3.2 – Análise de atividade antioxidante por DPPH

O DPPH é um radical estável que aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula diamagnética e desta forma, é reduzido na presença de um antioxidante. A atividade antioxidante de caroço, polpa e casca de manga determinada usando o teste DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil), apresentada na tabela 2, mostra variação da capacidade antioxidante nas diferentes partes da fruta num mesmo estádio de maturação. Dentre as partes analisadas, a casca apresentou valores mais expressivos do que a polpa e o caroço da manga.

**Tabela 2.** Valores de AA %<sub>máxima</sub> e EC<sub>50</sub> dos extratos de polpa de manga.

	mati	AA (%) uração das fr	utas	EC50 (μg/ml) maturação das frutas		
extratos	verde	"de vez"	madura	verde	"de vez"	madura
Casca	74,95 ± 5,6	62,12 ± 2,5	60,69 ± 4,5	133,4 ± 10,0	161,0 ± 6,5	164,8 ± 12,3
Polpa <sup>a</sup>	42,41 ± 3,8	29,99 ± 1,1	25,95 ± 1,3	235,8 ± 21,3	333,4 ± 12,2	$385,4 \pm 19,3$
Caroço <sup>a</sup>	$43,21 \pm 0,8$	43,00 ± 1,5	$42,12 \pm 0,9$	231,3 ± 4,3	232,6 ± 10,6	237,42 ± 5,1
Mangiferina	·	_	·	·	_	
padrão	$93,42 \pm 0,05$	-	-	$107 \pm 0.07$	-	-

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> médias e estimativa de desvio padrão das análises de cinco diferentes lotes.

Os valores obtidos da regressão linear possuem nível de confiança de 95%. EC<sub>50</sub> é definida como a concentração da amostra suficiente necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH para 50%.

Pode-se notar que a capacidade antioxidante na manga é bem mais expressiva na casca do que nas demais partes da fruta e ainda a correlação dessa capacidade com o estádio de maturação da fruta mostrando que mangas verdes apresentam maior atividade antioxidante do que mangas maduras (Figura 7). Talvez a alta atividade antioxidante em casca de manga esteja relacionada com a mangiferina presente nessa

parte da fruta, uma vez que o padrão mostrou alta capacidade antioxidante (93,42%) e a casca de manga mostrou ser uma potencial fonte desse composto fenólico. Pode-se observar durante o processo de amadurecimento da fruta uma diminuição da atividade antioxidante na casca, concomitante à redução da concentração de mangiferina.

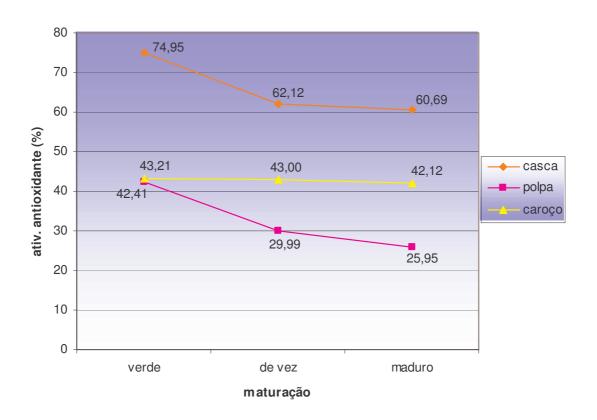


Figura 7. Atividade antioxidante em manga "Tommy Atkins".

Existem relatos destacando casca e caroço de manga como subprodutos do processamento de grande relevância, constituindo aproximadamente 15% da fruta. Cascas de manga "Totapuri" (Beerh *et al.*, 1977) e "Alphonso" (Srirangarajan *et al.*,

1977) são fontes de alta qualidade de pectina as quais são de qualidade para exploração comercial devido ao peso molecular e alto grau de esterificação. Considerando a grande quantidade disponível, o resíduo de casca de manga pode ser uma promissora fonte de pectina (Beerh *et al.*, 1977; Srirangarajan *et al.*, 1977) bem como de mangiferina (Schieber *et al.*, 2003). Os resultados apresentados neste trabalho também demonstram o potencial presente na manga, suportando que esta pode ser utilizada como antioxidante natural ou como ingrediente bioativo em alimentos.

## 4 - CONCLUSÕES

A mangiferina está presente em casca de manga "Tommy Atkins" nos estádios verde, "de vez" e maduro, não tendo sido encontrada em polpa e caroço em nenhum período da análise.

A maturação da manga influencia de forma negativa no teor de mangiferina em cascas de manga, pois cascas de mangas verdes apresentam maior teor de mangiferina do que cascas de mangas maduras.

As cascas de manga "Tommy Atkins" são potenciais fontes de mangiferina, em especial, cascas provenientes de frutas verdes.

Dados de atividade antioxidante revelaram que as cascas da manga apresentaram maior capacidade antioxidante do que polpa e caroço, com valores de 138,24; 92,83 e 72,80 mg/g, respectivamente.

Em mangas verdes, onde há maior teor de mangiferina, a atividade antioxidante (74,95%) foi mais expressiva.

## 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREU, G. L. P.; DELGADO, R.; VELHO, J. A.; CURTI, C.; VERCESI, A. E. Mangiferin, a natural occurring glucosyl xanthone, increases susceptibility of rat liver mitochondria to calcium-induced permeability transition. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 439, p.184-193, 2005a.

ANDREU, G. L. P.; DELGADO, R.; VELHO, J. A.; INADA, N. M.; CURTI, C.; VERCESI, A. E. *Mangifera indica* L. extract (Vimang) inhibits Fe<sup>2+</sup>-citrate-induced lipoperoxidation in isolated rat liver mitochondria. **Pharmacological Research**, v. 51, p. 427-435, 2005b.

ARITOMI, M.; KAWASAKI, T. A new xanthone C-glusoside, position isomer of mangiferin, from anemarrhena asphodeloides bunge. **Tetrahedron Letters**, v. 12, p. 941-944, 1969.

BEERH, O. P.; RAGHURAMAIAH B.; KRISHNAMURTHY, G. V. Utilization of mango waste: peel as a source of pectin. **Journal of Food Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 96-97, 1977.

BELTRÁN, A. E.; ALVAREZ, Y.; XAVIER, F. E.; HERMANZ, R.; RODRIGUEZ, J.; NÚÑEZ, A. J.; ALONSO, M. J.; SALAICES, M. Vascular effects of the *Mangifera indica* L. extract (Vimang). **European Journal of Pharmacology**, v. 499, p. 297-305, 2004.

BENETT, G. J.; LEE, H. H. Xanthones from Guttiferae. **Phytochemistry**, v. 28, p. 967-969, 1989.

BERARDINI, N.; FEZER, R.; CONRAD, J.; BEIFUSS, U.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol *O*- and

xanthone *C*-glycosides, anthocyanins and pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1563-1570, 2005a.

BERARDINI, N.; KNÖDLER, M.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, *in press*, 2005b.

BHATIA, V. K.; RAMANATHAN, J. D.; SESHADRI, T. R. Constitution of mangiferin. **Tetrahedron**, v. 23, p. 1363-1368, 1967.

BHATTACHARYA, S. K.; SANYAL, A. K.; GLOSAL, S. Monoamine oxidase inhibiting activity of mangiferina isolates from *Canscora decussate*. **Naturwissenschaften**, v. 59, p. 651-655, 1972.

CHEN, J. H.; SHAO, Y.; HUANG, M. T.; CHIN, C. K.; HO, C. T. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on human leukemia HL-60 cells. **Cancer Letters**, v. 108, n. 2, p. 211-214, 1996.

DAI, R.; LI, K.; LI, Q.; BI, K. Determination of mangiferin, jateorrhizine, palmatine, berberine, cinnamic acid, and cinnamaldehyde in the tradicional Chinese medicinal preparation Zi-Shen-Pill by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatographic Science**, v. 42, p. 207-210, 2004.

DELGADO R.; GARRIDO, G. *Mangifera indica* L. extract (Vimang) as a natural antioxidant wirh antinoceptive and antiinflamatory properties. **Minerva Medicinales**, v. 92, p. 98-102, 2001.

EL-SISSI, H. I.; SALEH, N. A. M. Phenolic components of *Mangifera indica* (Part II). **Planta Medica**, v. 13, p. 346-352, 1965.

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.

GARCIA, M. G.; LAIME, S. G.; LEÓN, A. A.; MONTALVO, A. R.; GARRIDO, G. G.; NUÑES-SELLÉS, A. J. Uso etnomédico de la corteza de *Mangifera indica* L. en Cuba. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 9, n. 1p. 1-5, 2004.

GARRIDO, G.; GONZÁLEZ, D.; LEMUS, Y.; GARCÍA, D.; LODEIRO, L.; QUINTERO, G.; DELPORTE, C.; NÚÑEZ-SELLÉS; DELGADO, R. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG®). **Pharmacological Research**, v. 50, p. 143-149, 2004.

GARRIDO, G.; GONZÁLEZ, D.; LEMUS, Y.; DELPORTE, C.; DELGADO, R. Protective effects of a standard extract of *Mangifera indica* L. (VIMANG®) against mouse ear edemas and its inhibition of eicosanoid production in J774 murine macrophages. **Phytomedicine**, in press, 2005.

GUHA, S.; GLOSAL, S.; CHATTOPADHYAY, U. Antitumor, immunomodulatory and anti HIV effect of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone. **Chemoterapy**, v. 42, p. 443-451, 1996.

JONG, T. T.; LEE, M. R.; CHIANG, Y. C.; CHIANG, S. T. Using LC/MS/MS to determine matrine, oxymatrine, ferulic acid, mangiferina, and glycyrrhizin in the Chinese medicinal preparations Shiau-feng-saan and Dang-guei-nian-tong-tang. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, in press, 2005.

LAKSHIMINARAYANA, S. Mango. In: NAGY, S.; SWAW, P.E. **Tropical and Subtropical Fruits**. Westport: AVI Publishing, INC. p. 157-184, 1980.

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

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

LIN, S. J.; TSENG, H. H.; WEN, K. C.; SUEN, T. T. Determination of gentiopicroside, mangiferin, palmatine, berberine, baicalin, wogonin and glycyrrhizin in the traditional Chinese medicinal preparation Sann-Joong-Kuey-Jian-Tang by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 730, n. 1, p. 17-23, 1996.

MISHRA, B.; INDIRA-PRIYADARSINI, K.; SUDHEERKUMAR, M.; UNNIKRISHHNAN, M. K.; MOHAN, H. Pulse radiolysis studies of mangiferin: A *C-glycosyl* xanthone isolated from *Mangifera indica*. **Radiation Physics and Chemistry**, in press, 2005.

MURUGANANDAN, S.; LAL, J.; GUPTA, P. K. Immunotherapeutic effects of mangiferin mediated by the inhibition of oxidative stress to actived lymphocytes, neutrophils and macrophages. **Toxicology**, v. 215, p. 57-68, 2005a.

MURUGANANDAN, S.; SRINIVASAN, K.; GUPTA, P. K. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 497-501, 2005b.

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

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

NÚÑEZ-SELLÉS A. J.; VELEZ-CASTRO, H. T.; AGUERO-AGÜERO, J. GONZALEZ-GONZALEZ, J.; NADDEO, F.; de SIMONE, F.; RASTELLI, L. Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars, and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as nutritional supplement. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 762-766, 2002.

NYSSCHEN, A. M.; WIK, B. E. V.; HEERDEN, F. R. V.; SCHUTTE, A. L. The major phenolic compounds in the leaves of *Cyclopia species* (Honeybush Tea). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 3, p. 243-246, 1996.

QUISUMBING, E. **Medicinal plants of the Philippines**. Manilla, Katha Publishing Co & JMC Press, p. 538-541, 1978.

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

SANCHEZ, G. M.; RE, L.; GIULIANI, A.; NÚÑEZ-SELLÉS, A. J.; DAVISON, G. P.; LEON-FERNANDEZ, O. S. Protective effects of mangiferin and selected antioxidants against tpa induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice. **Pharmacological Research**, v. 42, p. 565-573, 2000.

SATO, T. A. K.; TAMURA, Y.; FUIJI, T. Mechanism of antioxidant action of pueraria glycoside (PG)-1 (an isoflavonoid) and mangiferin (a xanthonoid). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, p. 721-724, 1992.

SCHIEBER, A.; ULLRICH, W.; CARLE, R. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 1, p. 161-166, 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 liquid chromatography-eletrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5006-5011, 2003.

SRIRANGARAJAN, A. N.; SHRIKHANDE, A. J. Characterization of mango peel pectin. **Journal of Food science**, v. 42, p. 279-280, 1977.

STATSOFT, INC. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc, 2300 East 14<sup>th</sup> Street, Tulsa, OK 74104, Web: http://www.statsoft.com. 2000.

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

# **6. AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao CNPq pelo auxílio financeiro.

## **CONCLUSÕES GERAIS**

- 1 A maturação causou modificações na composição química da manga "Tommy Atkins" influenciando os atributos químicos de forma positiva ou negativa, de maneira a aumentar ou diminuir o teor destes atributos, respectivamente. Com a maturação ocorreu aumento gradativo do pH, sólidos solúveis totais, gorduras, açúcares totais e açúcares redutores, enquanto ocorreu redução gradativa de acidez, fibras, cinzas e água.
- 2 O cultivar Tommy Atkins destacou-se das cultivares Haden e Palmer por apresentar maiores atividades das enzimas polifenol oxidase e peroxidase em polpa da fruta madura. Comparando as atividades das duas enzima, a peroxidase apresentou atividade consideravelmente mais elevada que a polifenol oxidase.
- 3 As enzimas polifenol oxidase e peroxidase apresentaram comportamentos diferentes durante o processo de amadurecimento de mangas "Tommy Atkins", ocorrendo redução da atividade da polifenol oxidase e aumento da atividade da peroxidase conforme o avanço do estádio de maturação.
- 4 O teor de fenólicos totais variou na polpa de manga "Tommy Atkins" nos diferentes estádios de maturação, apresentando maior teor em frutas verdes que em frutas maduras.

- 5 Através da cromatografia líquida de alta eficiência foram determinados os compostos fenólicos propil galato, metil galato, ácido ferúlico, ácido isoferúlico, catequina, epigatequina e ácido gálico.
- **6** Dentre as partes da manga analisadas (casca, polpa e caroço), a mangiferina foi encontrada apenas na casca e nos três diferentes estádios de maturação (verde, de vez e maduro). A maturação apresentou influência negativa na concentração da mangiferina na casca da manga, causando redução gradativa da concentração desse fenólico durante o processo de amadurecimento.
- 7 Dados de atividade antioxidante revelaram que a capacidade antioxidante está relacionada com o teor de fenólicos. Dentre as partes analisadas nos diferentes estádios de maturação, a casca da manga verde apresentou maior capacidade antioxidante do que a polpa e o caroço, podendo estar relacionado ao alto teor de mangiferina encontrado nessa parte da fruta.