

# ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO CAJÁ-MANGA UTILIZANDO METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

*Antioxidant Activity of the Cajá-Manga using responsive surface methodology*

*Actividad Antioxidante del Cajá-Manga utilizando metodologia de superficie*



Revista  
**Desafios**

Artigo Original  
Original Article  
Artículo Original

Andressa Sousa Pereira<sup>1\*</sup>, Caroline Roberta Freitas Pires<sup>1</sup>, Rodolfo Castilho Clemente<sup>1</sup>, Glêndara Aparecida de Souza Martins<sup>1</sup>, Guilherme Nobre Lima do Nascimento<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), Universidade Federal do Tocantins (UFT), Palmas, Brasil.

\*Correspondência: rograma de Pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), Universidade Federal do Tocantins (UFT), Palmas, Brasil - Av. NS 15, 109 Norte, Palmas, Tocantins, Brasil. CEP:77.010-090. e-mail [artigo@artigo.com](mailto:artigo@artigo.com).

Artigo recebido em 31/03/2018 aprovado em 28/05/2018 publicado em 30/09/2018.

## RESUMO

O cajá-manga (*Spondias dulcis*) é um fruto com elevado valor nutricional e compostos antioxidantes, estes agem na prevenção do estresse oxidativo causados por radicais livres e na redução dos riscos de doenças crônicas não transmissíveis. A determinação de compostos antioxidantes é difícil, pois diversos fatores interferem na eficiência de sua extração, levando a perda de compostos ativos. O objetivo do presente estudo consistiu na otimização do método de extração de compostos antioxidantes utilizando metodologia de superfície de resposta. As amostras foram submetidas a testes em que variam a relação: amostra: concentração do solvente, intervalo de extração, tempo de rotação e velocidade de rotação. Não houve diferença significativa nos resultados em relação ao tempo de rotação, velocidade de rotação e a interação desses com as demais variações para a determinação da atividade antioxidante; no entanto, as diferentes concentrações do solvente e intervalo de extração, e a interação concentração do solvente x intervalo de extração foi significativo e afetaram a atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** Otimização; compostos antioxidantes; superfície de resposta.

## ABSTRACT

The cajá-manga (*Spondias dulcis*) is a fruit with high nutritional value and antioxidant compounds, these act in the prevention of oxidative stress caused by free radicals and in reducing the risks of non-transmissible chronic diseases. The determination of antioxidant compounds is difficult, because several factors interfere in the efficiency of their extraction, leading to the loss of active compounds. The objective of the present study was to optimize the method of extraction of antioxidant compounds using response surface methodology. Samples were submitted to tests in which the ratio: sample: solvent concentration, extraction interval, rotation time and speed of rotation varied. There were no significant differences in the results in relation to the rotation time, rotation speed and the interaction of these with the other variations for the determination of the antioxidant activity; however, the different solvent concentrations and extraction interval, and the interaction solvent concentration x extraction range was significant, affected the antioxidant activity.

**Keywords:** Optimization; antioxidant compounds; response surface.

## RESUMEN

El cajá-manga (*Spondias dulcis*) es un fruto con alto valor nutricional y compuestos antioxidantes, estos actúan en la prevención del estrés oxidativo causados por radicales libres y en la reducción de los riesgos de enfermedades

*crônicas no transmissíveis. La determinación de compuestos antioxidantes es difícil, pues diversos factores interfieren en la eficiencia de su extracción, llevando la pérdida de compuestos activos. El objetivo del presente estudio consistió en la optimización del método de extracción de compuestos antioxidantes utilizando metodología de superficie de respuesta. Las muestras se sometieron a pruebas en las que varían la relación: muestra: concentración del disolvente, intervalo de extracción, tiempo de rotación y velocidad de rotación. No hubo diferencias significativas en los resultados en relación al tiempo de rotación, velocidad de rotación y la interacción de esos con las demás variaciones para la determinación de la actividad antioxidante; sin embargo, las diferentes concentraciones del disolvente y el intervalo de extracción, y la interacción concentración del solvente x intervalo de extracción fue significativo, afectaron la actividad antioxidante*

**Descriptor:** Optimización; compuestos antioxidantes; superficie de respuesta.

---

## INTRODUÇÃO

O cajá-manga (*Spondias dulcis*) é um fruto com elevado valor nutricional pelo destaque nas concentrações de minerais, tais como, magnésio, fósforo, ferro, zinco e algumas vitaminas tais como A, B1 e B6. Quanto a suas propriedades nutricionais apresenta elevados teores de vitamina C e carotenóides com valores de 23,1 mg/100g e 246,1 µg/100g, respectivamente (SACRAMENTO e SOUZA, 2000; LORENZI et al., 2006; DAMIANI et al., 2011).

Compostos antioxidantes estão em sua maioria presentes em alimentos de origem vegetal. São moléculas de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, substâncias hidrossolúveis ou enzimas e derivam principalmente da dieta. Reconhecidamente agem na prevenção do estresse oxidativo causados por radicais livres e na redução dos riscos de doenças crônicas não transmissíveis, além de participarem dos fatores relacionados à cor, aroma, e adstringência em diversos alimentos (SOARES, 2002; LEITE e SARNI, 2003).

A determinação de compostos antioxidantes é difícil, pois diversos fatores interferem na eficiência de sua extração, levando a perda de compostos ativos. Para a otimização dos resultados do processo de extração de antioxidantes, o método de análise por superfície de resposta (ASR), uma coletânea de técnicas matemáticas e estatísticas que têm sido

utilizadas com sucesso para desenvolver, melhorar e otimizar processos (MYERS e MONTGOMERY, 2009).

Neste sentido, o objetivo do presente estudo consistiu na otimização do método de extração de compostos antioxidantes considerando as variáveis que interferem no processo tais como tipo de solvente, concentração do solvente, tempo de extração, intervalo de extração e velocidade de agitação, bem como definir as melhores condições para determinar o percentual de sequestro de radical livre.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Matéria-prima*

Os frutos maduros de cajá-manga (*Spondias dulcis*) foram adquiridos no comércio local no município de Palmas - TO, entre os meses de maio e junho de 2016 no seu estádio de maturação comercial. Após a coleta foram direcionados ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins (UFT), onde foram selecionados considerando os critérios de qualidade relacionados à cor da casca do fruto (amarelada) e ausência de podridões perceptíveis. Em seguida, higienizados e colocados em uma solução clorada de 100 ppm por 10 minutos.

Após a sanitização cerca de 1 kg de cajá-manga foram misturados e, por quarteramento, o tamanho da amostra foi reduzido. Após a retirada da

parte não comestível do fruto, estes foram cortados manualmente em pequenos pedaços (1-2 cm) com um auxílio de uma faca inoxidável.

Em seguida acondicionados em embalagens plásticas de polietileno e armazenados em freezer a -18°C até a condução das análises. No momento das análises, os frutos foram processados em multiprocessador para o preparo do extrato utilizado na determinação de % de sequestro de radicais livres.

### ***Preparo das amostras***

Para o preparo do extrato, os frutos foram triturados, sem adição de água. Feito o extrato, foram pesados 0,5g da amostra de cajá-manga que foram diluídas com 15 ml de acetona em suas devidas concentrações permanecendo em repouso pelo tempo determinado no delineamento estatístico traçado (Tab. 1). Decorrido o intervalo de extração, os ensaios foram centrifugados obedecendo ao tempo de agitação e a velocidade de rotação (rpm) de acordo com o delineamento estatístico. Em seguida permaneceram novamente em repouso até a última centrifugação da solução. O extrato foi submetido à determinação da capacidade de sequestrar radicais livres.

### ***Planejamento experimental fatorial e análise de superfície de resposta***

Neste estudo foram observados alguns pontos considerados críticos, como, concentração do solvente, intervalo de extração, velocidade de rotação (rpm) e tempo de agitação no equipamento, na determinação da atividade antioxidante (AA) no cajá, utilizando-se um delineamento estatístico fatorial completo 24 com 4 variáveis independentes (Tab. 1). Para estimativa do erro experimental foram feitas 6 replicatas do experimento correspondendo aos pontos centrais. Para medir a possibilidade da não-linearidade

nos valores de concentração de AA em função dos quatro fatores traçados neste experimento, oito (8) pontos axiais (alfa) foram adicionados ao planejamento no centro do experimento completo. O planejamento experimental com os valores reais e codificados são apresentados na Tabela 2. A resposta (Y) ou variável dependente foi a %SRL na amostra de cajá manga. As primeiras 16 linhas da Tabela 2 são suficientes para a determinação do modelo linear e são referentes ao experimento completo 24 da linha 17 até a linha 24 do planejamento são os pontos axiais e as 6 replicatas do experimento, que são os pontos centrais, estão da linha 25 até a linha 30.

### ***Determinação da capacidade de sequestrar radicais livres***

A metodologia empregada na determinação da atividade antioxidante foi baseada na extinção da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH 60 µM), proposta por Rufino et al. (2009), com algumas adaptações em relação ao cálculo, calculando-se o percentual de sequestro do radical DPPH a partir do padrão. Foram adicionados 0,1 mL de cada extrato das amostras a 3,9 mL de solução de DPPH. Para o controle, foram adicionados 0,1 mL de metanol, juntamente ao DPPH, no lugar do extrato. As leituras foram realizadas após 120 minutos, em espectrofotômetro, a 515 nm e os resultados expressos em percentual de sequestro de radical livre (%SRL), conforme equação:

$$\%SRL = (Ac - Am) \times 100 / Ac$$

em que

Ac = absorbância do controle

Am = absorbância da amostra

### Análise estatística dos dados

Para análise estatística dos dados será utilizado o programa *Statistica 8.0*, considerando o

percentual de sequestro de radical livre como resposta das variáveis em estudo, utilizando um intervalo de confiança de 95%.

**Tabela 1.** Fatores e níveis testados (valores codificados estão entre parênteses) para o Delineamento de Composição Central com pontos axiais.

Fatores:	Ponto axial inferior (-2,0)	Nível inferior (-1)	Nível Intermediário (0)	Nível Superior (+1)	Ponto axial superior (+2,0)
Concentração do solvente	20	40	60	80	100
Intervalo de extração	0	30	60	90	120
Rotação (rpm)	1000	2000	3000	4000	5000
Tempo de Rotação	5	10	15	20	25

**Tabela 2.** Condições experimentais do delineamento estatístico de Composição Central (DCC) com pontos axiais (fatores com valores codificados).

Experimento (Sequência teórica)	Fatores (valores codificados)				Variável Dependente
	Concentração do Solvente	Intervalo de Extração	Rotação	Tempo de Rotação	% de Sequestro de Radicais Livres (DPPH)
1	-1	-1	-1	-1	1,1
2	-1	-1	-1	1	1,62
3	-1	-1	1	-1	1,72
4	-1	-1	1	1	1,85
5	-1	1	-1	-1	3,18
6	-1	1	-1	1	4,13
7	-1	1	1	-1	3,35
8	-1	1	1	1	3,25
9	1	-1	-1	-1	4,24
10	1	-1	-1	1	3,24
11	1	-1	1	-1	3,15
12	1	-1	1	1	4,54
13	1	1	-1	-1	4,67
14	1	1	-1	1	6,09
15	1	1	1	-1	6,27
16	1	1	1	1	1,31
17	-2	0	0	0	1,8
18	2	0	0	0	3,01
19	0	-2	0	0	5,03
20	0	2	0	0	2,89
21	0	0	-2	0	3,04
22	0	0	2	0	3,86
23	0	0	0	-2	3,01
24	0	0	0	2	2,98
25	0	0	0	0	2,95
26	0	0	0	0	2,87
27	0	0	0	0	3,00
28	0	0	0	0	3,97
29	0	0	0	0	3,01
30	0	0	0	0	3,03

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A capacidade de sequestrar radicais livres em relação ao radical estável 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) foi escolhida por ser uma metodologia simples, rápida e sensível, conveniente para realização de um grande número de amostras com diferentes variáveis. O potencial dos diferentes extratos da fruta do cerrado em sequestrar radicais livres foi expresso como concentração final do extrato necessária para inibir a oxidação do radical DPPH em 50%, e os resultados são descritos na Tabela 2. As substâncias antioxidantes presentes nos extratos reagem com o DPPH que é um radical estável, e converte-o em 2,2-difenil-1-picril hidrazina. O grau de descoloração indica o potencial antioxidante do extrato. Um extrato que apresenta alto potencial em sequestrar radicais livres possui baixo valor de  $IC_{50}$ . Desta forma, uma pequena quantidade de extrato é capaz de decrescer a concentração inicial do radical DPPH em 50%, ou seja, inibir a oxidação do radical em 50% (ROESLER et al., 2007).

Para as amostras analisadas, os ensaios 15, 14 e 19 apresentaram maior percentual de captura de radicais livres DPPH.

Morais et al. (2013) avaliaram, por diferentes metodologias, a atividade antioxidante de semente de *Solanum lycocarpum*, epicarpo e mesocarpo de *Caryocar brasiliense*, pendúculo de *Cipocereus minensis* e polpa de *Byrsonima verbascifolia*. No estudo as amostras foram extraídas com 40 mL de solução metanol a 50% por 1h, à temperatura ambiente, e centrifugadas a 3.000 rpm em centrífuga por 15 min e apresentaram resultados, respectivamente de  $EC_{50} = 410,00$  mg/L,  $EC_{50}$

$= 1.800,00$  mg/L,  $EC_{50} = 765,00$  mg/L,  $EC_{50} = 188,50$  mg/L e  $EC_{50} = 250,00$  mg/L, superiores aos encontrados aqui para o extrato com acetona do fruto do cajá-manga.

Verificou-se neste estudo que em nível de 95% de confiança, os parâmetros concentração do solvente e intervalo de extração foram estatisticamente significativos ( $p \leq 0,05$ ) em amostra de cajá-manga (Tab. 3).

Na análise da extração de compostos bioativos com o solvente acetona, pelo método de sequestro do radical DPPH, pode-se comprovar que, a um nível de 95% de confiança, os efeitos principais: solvente e intervalo de extração, e a interação concentração do solvente x intervalo de extração foram significativos. Oliveira e Andolfatto (2014) ao analisar a influência de fatores na AA da própolis produzida por abelhas geneticamente modificadas com o solvente etanol, verificou que os efeitos concentração e tempo de extração foram significativos, como no presente estudo.

Para verificar o quanto o modelo representa os dados experimentais, foi conduzida análise de variância (ANOVA). As razões entre o quadrado médio da regressão pelo quadrado médio do resíduo  $F_{CAL} = (QM_{REGRESSÃO}/QM_{RESÍDUO})$ , foi 11,23, superior ao valor tabelado de  $F_{14,15} = 2,5$  para o nível de 95% de confiança, indicando equações de regressão significativas ou a validade do modelo experimental. A boa repetitividade do experimento pode ser avaliada pelo baixo valor do erro puro (0,87) obtido na análise de variância da regressão do cajá-manga, como pode ser observado na Tabela 4.

**Tabela 3.** Estimativa dos efeitos, o erro puro e significância dos efeitos, (p) e t de student da atividade oxidante com acetona.

<b>*Estimativa dos efeitos da Atividade Antioxidante</b>				
Fator	Estimativa dos Efeitos	Erro puro	t(6)	P
Média	3,196375	0,134925	23,68994	0,000000
(1)Solvente (L)	2,172111	0,198704	10,93141	0,000035
Solvente (Q)	0,105754	0,179301	0,58981	0,047683
(2)Intervalo (L)	1,855008	0,205193	9,04029	0,000103
Intervalo (Q)	0,026193	0,189360	0,13832	0,004511
(3)Rotação (L)	0,300058	0,182567	1,64355	0,151375
Rotação (Q)	-0,035757	0,142077	-0,25167	0,809691
(4)Tempo (L)	0,214189	0,321438	0,66635	0,529962
Tempo (Q)	0,287096	0,430449	0,66697	0,529592
1L by 2L	0,235796	0,180578	1,30579	0,039454
1L by 3L	-0,162846	0,206419	-0,78891	0,460193
1L by 4L	0,149482	0,309629	0,48278	0,646363
2L by 3L	0,724654	0,206419	3,51060	0,612662
2L by 4L	0,018232	0,309629	0,05888	0,954958
3L by 4L	-0,525518	0,309629	-1,69725	0,140572

\*confiança de 95%. t de student; p – significância

**Tabela 4.** Análise de variância (ANOVA) para % de Sequestro de Radicais Livres em amostras de cajá-manga.

Variáveis Dependentes	Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado
% SRL	Regressão	40,92	14	2,92	11,23	2,5
	Resíduo	3,98	15	0,26		
	Falta de ajuste	3,11	9			
	Erro puro	0,87	6			
	Total	44,90	29			

O coeficiente de determinação  $R^2$  representa o poder preditivo da sua reta de regressão, ou seja, indica se o modelo é ou não adequado e quanto mais próximo de 1 for o valor de  $R^2$  maior a capacidade do modelo em prever os dados. Neste caso o valor de  $R^2$  para a % SRL foi 0,911 indicando que este modelo é adequado.

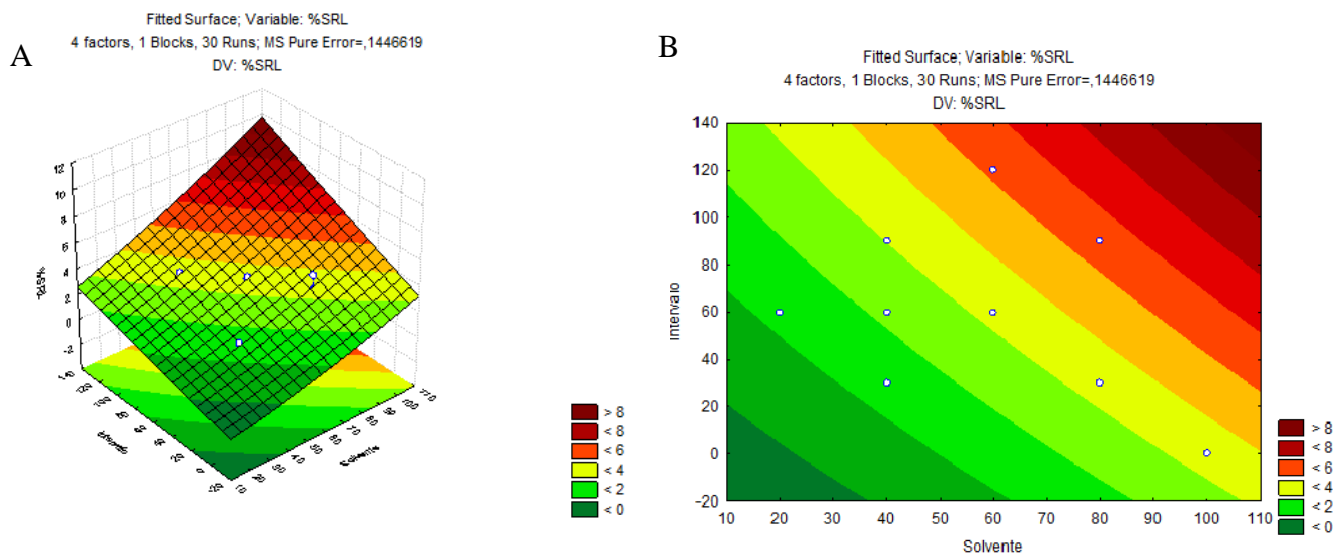
A influência dos fatores (variáveis independentes) na variável resposta foi avaliada por meio da análise de superfície de resposta. Esta análise é realizada pela combinação de dois fatores

independentes em relação à variável dependente, neste caso a capacidade de sequestro do radical DPPH. A superfície de resposta que representa a influência do intervalo de extração *versus* concentração de acetona está apresentada na Figura 1. Observando as superfícies de resposta, é possível concluir que o ponto em que a atividade antioxidante atingiu seu máximo foi com a utilização dos níveis superiores de concentração de acetona (60-80%) e tempo (90-120min).

A intenção de um planejamento experimental é detectar a importância relativa dos efeitos e verificar

a possibilidade de eliminar fatores menos importantes.

**Figura 1.** Superfícies de resposta (A) e curva de contorno (B) na determinação de % de Sequestro de Radicais Livres em amostra de cajá-manga em função da concentração do solvente acetona e do intervalo de extração.



## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir do planejamento fatorial  $2^4$  indicam que as variáveis independentes, concentração do solvente, intervalo de extração, são consideradas significativas no processo de extração de compostos bioativos, sendo que a melhor resposta obtida foi com a combinação dos níveis superiores destas variáveis.

As melhores condições de extração foram obtidas com concentrações de acetona superiores a

90% com tempo de extração superior a 90 minutos e velocidade de rotação superior a 3000 rpm.

## AGRADECIMENTO

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil.

---

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

---

## REFERÊNCIAS

DAMIANI, C.; SILVA, F.A.; AMORIM, C.C.M.; SILVA, S.T.P.; BASTOS, I.M.; ASQUIERI, E.R.; VERA, R. Néctar misto de cajá-manga com hortelã: caracterização química, microbiológica e sensorial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.13, p.299-307, 2011.

LEITE, H.P.; SARNI, R.S. Radicais livres, Antioxidantes, e Nutrição. São Paulo-SP, 2003. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 18, n. 2, p 87-94, 2003.  
LORENZI, H.; SARTORI, S.; BACHER, L.B.; LACERDA, M. **Frutas Brasileiras e Exóticas**

**Cultivadas (de consumo in natura).** Instituto de Estudos da Flora, 2006.

MORAIS, M.L.; SILVA, A. C.R.; ARAÚJO, C.R. R.; ESTEVES E.A.; DESSIMONI-PINTO2NÍZIA A. V. Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 2, p. 355-360, Junho, 2013.

MYERS, R.H.; MONTGOMERY, D.C. **Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments.** 2<sup>nd</sup>, Ed. Wiley: New York, 2002.

OLIVEIRA, S.C.; ANDOLFATTO, S. Otimização do processo de extração de compostos bioativos da própolis produzida por abelhas geneticamente modificadas. Pato Branco, PR **Trabalho de Conclusão de Curso.** Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Revista de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1, p.53-60, jan.-mar. 2007.

RUFINO, M.S.M.; FERNANDES, F.A.N.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, Columbus, v.114, n.2, p.693-695, 2009.

SACRAMENTO, C.K.; SOUZA, F.X. **Cajá (*Spondias mombin L.*).** Série Frutas Nativas, 4. Jaboticabal: Funep, 42 p. 2000.

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