



GUSTAVO ARAUJO PEREIRA

**ESTUDO DOS PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN*
VITRO DA BANANA (*MUSA* sp.)**

CAMPINAS
2015



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

GUSTAVO ARAUJO PEREIRA

**ESTUDO DOS PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN*
VITRO DA BANANA (*MUSA* sp.)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Gláucia Maria Pastore

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação defendida pelo aluno Gustavo Araujo Pereira, e orientada pela Prof.^a Dr.^a Gláucia Maria Pastore.

Assinatura da orientadora

CAMPINAS
2015

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Márcia Regina Garbelini Sevillano - CRB 8/3647

P414e Pereira, Gustavo Araujo, 1991-
Estudo dos parâmetros de extração de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante in vitro da banana (*Musa sp.*) / Gustavo Araujo Pereira. – Campinas, SP : [s.n.], 2015.

Orientador: Gláucia Maria Pastore.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Casca de banana. 2. Otimização. 3. Subprodutos. 4. Flavonóides. 5. ORAC.
I. Pastore, Gláucia Maria. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Study of extraction parameters of phenolic compounds and evaluation of in vitro antioxidant activity of banana (*Musa sp.*)

Palavras-chave em inglês:

Banana peel

Optimization

Byproducts

Flavonoids

ORAC

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Mestre em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Gláucia Maria Pastore [Orientador]

Roberta Roesler

Mário Roberto Maróstica Júnior

Data de defesa: 16-03-2015

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida em ____/____/____ por Gustavo Araujo Pereira e aprovado pela comissão julgadora em ____/____/____.

Prof.^a Dr.^a Glaucia Maria Pastore (DCA/FEA/UNICAMP) - Orientadora
MEMBRO

Prof. Dr. Gustavo Molina (UFVJM)
MEMBRO

Prof. Dr. Mário Roberto Maróstica Junior (DEPAN/FEA/UNICAMP)
MEMBRO

Prof.^a Dr.^a Hélia Hamuri Sato (DCA/FEA/UNICAMP)
SUPLENTE

Dr.^a Roberta Roesler (NATURA INOV. TEC. PROD. LTDA)
SUPLENTE

RESUMO GERAL

O objetivo do presente trabalho foi estudar a influência dos parâmetros de extração sólido-líquido e de enzimas fenoloxidasas (peroxidase) na recuperação de compostos fenólicos a partir do pó da casca de banana liofilizada (CBL), bem como quantificar o conteúdo de compostos fenólicos totais (FT), flavonoides totais (CF) e a atividade antioxidante da CBL e do pó da polpa de banana liofilizada (PBL). A banana utilizada foi da variedade Prata no estágio 6 de maturação (casca totalmente amarela).

Primeiramente, o estudo foi iniciado com a seleção dos parâmetros de extração (temperatura, agitação, solvente e relação sólido-líquido) por meio de um Delineamento Fracionado 2^{4-1} e, em seguida, o método de Superfície de Resposta foi empregado para otimizar os principais fatores do processo de extração (relação sólido-líquido e solvente). A casca da banana apresentou elevada atividade da enzima peroxidase (POD), o que provocou a oxidação dos compostos fenólicos e a redução da capacidade antioxidante do extrato. As melhores condições para a extração de compostos fenólicos a partir da casca de banana foram: relação sólido-solvente de 2,5 g/100 mL (1:40), solvente etanol 54% (v/v etanol:água) e homogeneização com auxílio de Ultra Turrax por 30s a 11.000 rpm. O conteúdo de FT obtido com esse sistema de extração foi de 2,44 g EAG/100 g CBL.

A casca de banana apresentou conteúdo de FT (2,44 g EAG/100 g CBL), CF (2,32 g EC/100 g CBL) e atividade antioxidante mensurada pelos métodos de DPPH (380,84 μmol EQT/g CBL; IC_{50} = 71,74 $\mu\text{g/mL}$), TEAC (325,84 μmol EQT/g CBL) e ORAC_{FL} ($\text{ORAC}_{\text{Total}}$ = 994,33 μmol EQT/g CBL) maiores do que a polpa de banana (FT = 0,25 g EAG/100 g PBL; CF = 0,21 g EC/100g PBL; DPPHIC_{50} = 690,97 $\mu\text{g/mL}$; TEAC = 11,05 μmol EQT/g PBL; $\text{ORAC}_{\text{Total}}$ = 80,16 μmol EQT/g PBL).

A banana é uma das frutas mais produzidas no mundo, e devido ao seu elevado consumo e abundância pode ser considerada uma importante fonte de compostos antioxidantes. Finalmente, por meio deste estudo foi possível verificar que a polpa e a casca de banana apresentam compostos fenólicos antioxidantes. Mais estudos devem ser realizados para verificar a influência do consumo desse fruto tropical na saúde do corpo humano e também pesquisas abordando o uso da casca na indústria de alimentos e no desenvolvimento de novos produtos.

ABSTRACT

The objective of the present work was to study the influence of solid-liquid extraction parameters and phenoloxidases enzymes in the recovery of phenolic compounds from freeze-dried banana peel powder (BPP), as well as to quantify the total phenolic content (TPC), flavonoid content (FC) and antioxidant activity of BPP and freeze-dried banana pulp powder (BPU). The banana Prata variety was utilized in 6th stage of ripening (fully yellow peel).

First of all, the study started with the selection of the extraction parameters (temperature, agitation, solvent and solid-liquid ration) through fractionary design (2^{4-1}). Subsequently, the Response Surface Methodology (RSM) was employed to optimize the main parameters of the extraction process (solid-liquid ration and solvent). The banana peel showed high peroxidase activity (POD), which led the oxidation of phenolic compounds and the decrease of antioxidant activity of the extract. The best conditions for the extraction of phenolic compound from BPP were solid-liquid ration of 2.5 g/100 mL (1:40), solvent ethanol 54% (v/v ethanol:water) and homogenization using Politron at 11.000 rpm for 30 s. The total phenolic content obtained with this extraction system was 2.44 g GAE/100 g BPP.

The banana peel showed TPC (2.44 g GAE/100 g BPP), FC (2.32 g CE/100 g BPP), and antioxidant activity measured by DPPH (380.84 $\mu\text{mol TE/g BPP}$; $\text{IC}_{50} = 71.74 \mu\text{g/mL}$), TEAC (325.84 $\mu\text{mol TE/g BPP}$) and ORAC_{FL} ($\text{ORAC Total} = 994.33 \mu\text{mol TE/g BPP}$) methods higher than banana pulp (TPC = 0.25 g GAE/100 g BPU; FC = 0.21 g CE/100 g BPU; $\text{DPPHIC}_{50} = 690.97 \mu\text{g/mL}$; TEAC = 11.05 $\mu\text{mol TE/g BPU}$; $\text{ORAC Total} = 80.16 \mu\text{mol TE/g BPU}$).

The banana is one of the most produced and consumed fruit in the entire world and can be considered as an important source of natural antioxidants. In this sense, this study was to possibly find that banana pulp and peel have phenolic compounds with antioxidants properties. More studies should be performed to verify the relationship between banana consumption and human health. Furthermore, research addressing the use of the banana peel by food and pharmaceutical and medical industries.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	vii
ABSTRACT	ix
AGRADECIMENTOS	xvii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xix
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA	5
1. Banana (<i>Musa</i> sp.): informações gerais	5
1.1. Nomenclatura	6
1.2. A bananicultura no Brasil	7
1.3. Qualidade nutricional e funcional	14
2. Processamento da banana	16
2.1. Casca de banana	17
3. Compostos fenólicos	24
3.1. Definições gerais	24
3.2. Compostos fenólicos: consumo e benefícios	26
3.3. Extração de compostos fenólicos	30
4. Referências	35
CAPÍTULO 2	47

INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO E DE ENZIMAS FENOLOXIDASES NA RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS A PARTIR DA CASCA DE BANANA (*MUSA* sp.) 47

1. Introdução	51
2. Material e Métodos.....	54
3. Resultados e Discussões.....	60
4. Conclusão	86
5. Referências	87

CAPÍTULO 3 93

QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DA POLPA E CASCA DE BANANA (*MUSA* sp.)..... 93

1. Introdução	97
2. Material e Métodos.....	99
3. Resultados e Discussões.....	106
4. Conclusão	119
5. Referências	120

CONCLUSÃO GERAL..... 127

PERSPECTIVAS FUTURAS..... 129

“Leve na sua memória para o resto de sua vida, as coisas boas que surgiram no meio das dificuldades. Elas serão uma prova de sua capacidade em vencer as provas e lhe darão confiança na presença divina, que nos auxilia em qualquer situação, em qualquer tempo, diante de qualquer obstáculo.”

Chico Xavier

Dedico

Aos meus pais José Pereira Neto e Sedna G. de Araujo Pereira e à minha irmã Raffaella Araujo Pereira, pela compreensão, amor e apoio em todos os momentos dessa jornada.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força concedida em todos os momentos dessa jornada, que esteja em nossos corações.

Agradeço à minha família pelo companheirismo e amor, principalmente aos meus pais José Pereira Neto e Sedna G. de Araujo Pereira e minha irmã Raffaella Araujo Pereira.

À Professora Gláucia Maria Pastore, pela oportunidade oferecida, em especial, pela orientação, pelos conhecimentos compartilhados e por acreditar no desenvolvimento deste trabalho.

Aos membros da banca, pelas sugestões e correções valiosas.

À Universidade Estadual de Campinas, pela oportunidade.

Aos meus amigos de caminhada que tornaram os dias no laboratório mais agradáveis e divertidos, Henrique (Rique), Verônica Pavan (Veh), Molina, Nadir (Nadirzinho), Maysa (Maysinha), Iramaia (Angel), Jane (Miau), Renta Sancho (Reh), Ana Stela, Juliana Bueno, Bruno (Malaca), Leo, Cristiano (Cris), Ana Paula, Ana Simiqueli, Dora e Debora.

Às meninas do Laboratório de Compostos Bioativos, pelos ensinamentos sobre moda feminina e relacionamentos passados, Veh, Maysinha, Reh, Jane, Angel e Ana Stela. Não quero ver nenhum coração peludo!

Ao Nadir, pelas conversas agradáveis, brincadeiras e conselhos valiosos. Uma pessoa que preenche de alegria o nosso ambiente de trabalho!

À Angel, pelos conhecimentos compartilhados, pela paciência e pelas conversas agradáveis e boas risadas.

Ao meu grande amigo Gustavo Molina, pelos ensinamentos e apoio constante no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu eterno amigo Henrique Silvano Arruda, pelos momentos de descontrações, pelos conhecimentos compartilhados, pela amizade verdadeira e pelas inúmeras conversas agradáveis, o seu futuro é brilhante. Obrigado amigo!

À minha inestimável amiga Verônica Pavan, pelos momentos de descontrações, risadas e estudos. Uma pessoa maravilhosa que merece todo sucesso do mundo!

À minha amiga Ana Stela, pelas suas histórias bizarras e pelas risadas. Por favor, escreva um livro!

À Jane, pelos ensinamentos e pelas inúmeras e boas risadas. Uma pessoa de caráter e que transborda simpatia e paz.

À Maysa, pelas risadas, pelos conhecimentos compartilhados e pelo café forte após o almoço que acordava até falecido.

À Renata, pelos ensinamentos, pelos conselhos, pelas risadas e pelos passeios em locais ilustres da UNICAMP, com certeza muita história para contar.

Aos meus amigos da moradia estudantil, pelos momentos agradáveis e boas risadas, João Victor, Reginaldo (Japa), Gustavo (*Einstein*) e Bruno (Malaca).

Aos alunos de Iniciação Científica, Filipe, Francisco e Luciane, com eles certamente mais apreendi do que ensinei, porque só pode ensinar aquele que está disposto à apreender.

À todas as amizades adquiridas ao longo do curso, guardo eternamente em meu coração.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida durante à realização do curso. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

[E:A] = porcentagem de etanol na solução hidroalcoólica.

AG = agitação.

ANOVA = Análise de Variância.

CBL = pó da casca de banana liofilizada.

CF = conteúdo de flavonoides totais.

DCCR = Delineamento Composto Central Rotacional.

DPPH = 2,2-difenil-1-picrilhidrazina.

DPPH_{IC50} = concentração final do extrato em µg/mL requerida para decrescer ou inibir 50 % da concentração inicial do DPPH[•].

EAG = equivalentes de ácido gálico.

E_{AU} = extração assistida por ultrassom.

EQT = equivalentes Trolox.

E_{SL} = extração sólido-líquido.

FDA = *American Food and Drug Administration*.

FT = compostos fenólicos totais.

GRAS = *Generally Recognized as Safe*.

ORAC_{FL} = capacidade de absorção de radical oxigênio.

PBL = pó da polpa de banana liofilizada.

PIN = polpa *in natura*.

POD = peroxidase.

PODact = atividade da enzima peroxidase.

PPO = polifenoloxidase.

R-SS = relação sólido-solvente.

TAC = capacidade antioxidante total.

TE = temperatura.

TEAC = capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

INTRODUÇÃO GERAL

A banana (*Musa* sp.) é um dos frutos tropicais mais consumidos no mundo por populações de alta e baixa renda em virtude do alto valor nutritivo e do baixo custo (PO, 2007). A produção mundial de bananas no ano de 2012 atingiu 101,9 milhões de toneladas e os cinco principais países produtores foram Índia, China, Filipinas, Equador e Brasil (FAOSTAT, 2014). O Brasil é o quinto maior produtor mundial de bananas e produziu no ano de 2013 mais de 7,1 milhões de toneladas (IBGE, 2014). A banana ocupa a segunda posição na produção mundial de frutas, sendo considerada, em termos de quantidade e qualidade nutricional, uma das fontes alimentares mais importantes do mundo, atrás apenas do arroz, trigo e milho (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009). A banana atrai consumidores pelas suas propriedades nutricionais e aspectos sensoriais, além da praticidade de consumo, podendo ser consumida *in natura* ou processada (NASCIMENTO JUNIOR et al., 2008).

Além do consumo *in natura*, existem no mercado diversos produtos obtidos da manufatura da banana. No Brasil, ocorre aproximadamente o processamento de 2,5 - 3,0% da produção anual de bananas (FOLEGATTI; MATSUURA, 2004). Embora o processamento da banana apresente benefícios relacionados à conservação e variedade de produtos, existe um ponto desfavorável relacionado aos resíduos gerados (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009). A casca de banana representa de 30 a 40% do peso total da fruta e seu descarte inadequado provoca grande impacto ambiental (GONZÁLEZ-MONTELO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b). Levando em consideração a produção anual média e a quantidade de banana processada no Brasil, cerca de 84.000 toneladas por ano de casca são descartadas pela indústria de alimentos (COMIM et al., 2010). No entanto, esse número pode ser ainda maior quando se contabiliza a quantidade de fruta que entra no mercado *in natura* e gera resíduos nas residências e fábricas de produtos artesanais.

O consumo de frutas aumentou nos últimos anos devido a maior demanda por alimentos saudáveis (WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011). O estresse oxidativo, definido como o desbalanço entre a produção de espécies reativas e o sistema de defesa antioxidante *in vivo*, apresenta um papel muito importante em diferentes condições patológicas. Neste contexto, tem sido sugerido que uma dieta rica em antioxidantes está inversamente relacionada ao desenvolvimento de diversas doenças. Desta maneira, a busca por compostos antioxidantes em alimentos naturais aumentou nas últimas duas décadas, principalmente em frutas frequentemente consumidas, como a banana e a maçã (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013). Com o constante crescimento da população mundial e a necessidade de novas fontes de compostos funcionais, o interesse na recuperação de compostos fenólicos e antioxidantes a partir de subprodutos agroindustriais também aumentou nos últimos anos (GALANAKIS, 2012).

Os compostos fenólicos ou (poli) fenóis são os metabólitos secundários mais amplamente distribuídos no reino vegetal, sendo que aproximadamente 2% de todo o carbono fotossintetizado pelas plantas é convertido em flavonoides e seus compostos relacionados (LATTANZIO et al., 2008). Os (poli) fenóis são comumente encontrados tanto na parte comestível quanto não-comestível de plantas e apresentam um papel importante na qualidade de frutas devido à sua contribuição no paladar (amargor e adstringência), cor e propriedades funcionais (CHEYNIER, 2005; GHARRAS, 2009). Além dos fatores sensoriais e tecnológicos, os (poli) fenóis têm merecido grande destaque na comunidade em geral, devido principalmente às propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e anti-histamínica (LUIZA; JORGE, 2014). Estudos epidemiológicos tendem a confirmar o efeito do consumo de (poli) fenóis contra doenças cardiovasculares, câncer e disfunções neurológicas (WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011). Outro importante aspecto é o uso dos compostos fenólicos na tecnologia de alimentos como conservantes, devido às suas propriedades antioxidantes (BALASUNDRAM; SUNDRAN; SAMMAN, 2006).

Portanto, a ingestão de antioxidantes naturais é uma parte importante do mecanismo de defesa do corpo (LANDETE et al., 2012). Por estas razões, um grande esforço tem sido realizado para quantificar e caracterizar os compostos fenólicos antioxidantes em diferentes tecidos de plantas (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011). Além disso, tendo em vista as diferentes propriedades funcionais e tecnológicas dos (poli) fenóis, muitas pesquisas têm focado na obtenção de compostos fenólicos a partir de plantas, sendo que os subprodutos da agroindústria também representam fontes importantes de compostos fenólicos antioxidantes (AYALA-ZAVALA et al., 2011).

De acordo com o exposto, o presente trabalho teve por objetivo estudar a influência dos parâmetros de extração sólido-líquido (temperatura, agitação, solvente e relação sólido-solvente) e de enzimas fenoloxidasas na obtenção de um extrato etanólico rico em compostos fenólicos a partir da casca de banana cv. Prata madura, bem como quantificar os fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante (DPPH, TEAC e ORAC_{FL}) dos extratos da casca e polpa de banana cv. Prata madura. Desta maneira, obter compostos fenólicos antioxidantes a partir de uma matriz de baixo custo, utilizando um procedimento de extração simples e eficiente. Além disso, o estudo de compostos antioxidantes em frutas tropicais e seus subprodutos fornecem informações importantes acerca das possíveis propriedades funcionais dessas matrizes, além de fornecer suporte científico para o desenvolvimento de produtos alimentícios.

CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA

1. Banana (*Musa sp.*): informações gerais

Consumida e apreciada em diversas regiões do mundo, a banana (Figura 1) apresenta grande importância socioeconômica nos países emergentes, contribuindo tanto para a geração de renda quanto para a fixação de mão de obra na zona rural. De acordo com a classificação botânica, as bananeiras produtoras de frutos comestíveis pertencem à família *Musaceae* e ao gênero *Musa* (MORTON, 1987).



Figura 1: *Musa sp.* (A "Bananeira", B "Frutos imaturos", C "Frutos Maduros").

A banana, originária do continente asiático, é extensivamente cultivada nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, exigindo temperaturas entre 20 e

35°C, elevada umidade relativa (> 80%) e precipitações bem distribuídas (100 a 180 mm/mês) para o desenvolvimento da planta e a produção de frutas (DONATO et al., 2006). Embora esses fatores climáticos limitem a área de produção, o Brasil apresenta condições favoráveis ao cultivo da bananeira em quase todo seu território (SILVA et al., 2006).

A banana é uma fruta climatérica, de sabor doce, aroma agradável e protegida por uma casca (espessura entre 3,7 e 3,8 mm) que apresenta coloração amarela quando a fruta está totalmente madura. A casca pode ser facilmente removida e a praticidade de consumo da banana é única, o que contribui para o seu sucesso no mercado (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009). Quando madura, a polpa da banana apresenta pH entre 4,2 e 4,7, elevado teor de sólidos solúveis (22 - 24°Brix) e uma acidez titulável total que varia de 0,32 a 0,66% de ácido málico por 100 g de polpa. A variedade, o local de cultivo e o manejo influenciam nas características físico-químicas e sensoriais do fruto (NASCIMENTO JUNIOR et al., 2008).

1.1. Nomenclatura

Na evolução das bananeiras de frutos comestíveis estão, principalmente, as espécies diplóides selvagens *M. acuminata* Colla (AA) e *M. balbisiana* Colla (BB), de modo que cada cultivar pode conter combinações variadas de genoma completo dessas espécies. Esses genomas são denominados pelas letras A (*M. acuminata*) e B (*M. balbisiana*), cujas combinações resultam grupos diplóides (AA, BB e AB), triplóides (AAA, AAB e ABB) e tetraplóides (AAAA, AAAB, AABB, ABBB) (STOVER; SIMMONDS, 1987; ROBINSON, 2010).

Em cada grupo genômico encontram-se variedades com características semelhantes, por exemplo: Cavendish, grupo genômico AAA (Nanica, Nanicão e Grand Naine); Prata, grupo genômico AAB (Prata, Prata Anã e Pacovan). As frutas do grupo genômico AA ou AAA apresentam sabor doce intenso, enquanto as do grupo AAB uma acidez mais acentuada. Existem também bananas do tipo AAB

consumidas tipicamente após o cozimento ou fritura (plátanos) (PEREIRA; MARASCHIN, 2014).

Comercialmente, o termo “banana” refere-se às frutas de polpa macia e doce, que podem ser consumidas cruas. No entanto, existem outras variedades menos doces, com maior teor de amido e que são consumidas após o cozimento e/ou processamento, essas cultivares são conhecidas como plátanos (*plantains*). A classificação das bananas de mesa (banana) ou de cozinhar (plátano) é o resultado do cruzamento natural entre *M. acuminata* e *M. balbisiana* (PO, 2007).

Desde a época de *Carl Von Linné* (1707 - 1778) os diferentes tipos de bananas receberam a sua designação segundo a nomenclatura binomial, no entanto, os nomes científicos com a convenção binária provocaram confusão quanto à botânica das frutas devido às bananas comestíveis apresentarem uma origem complicada, envolvendo hibridação, mutação e a seleção pelo homem (VALMAYOR et al., 2000).

A partir da década de 1940 um sistema alternativo de nomenclatura baseado no genoma foi desenvolvido para o gênero *Musa* sp. (SIMMONDS; SHEPHERD, 1955). Sendo assim, por exemplo, a variedade descrita como *Musa cavendishii* cv. Nanica é referenciada de acordo com o sistema em uso como *Musa* sp. (Grupo AAA, Subgrupo Cavendish) cv. Nanica (DANIELLS, 2003).

Existe no mercado nacional e internacional um grande número de espécies ou híbridos do gênero *Musa*. Os híbridos triploides de bananas apresentam uma maior área cultivada ao redor do mundo, enquanto os diplóides e tetraploides são mais raros e utilizados como plantas experimentais (DANIELLS, 2003).

1.2. A bananicultura no Brasil

A produção de bananas pode ser separada em dois grupos diferentes: *i*) pequenas propriedades agrícolas ao qual a produção é principalmente destinada ao próprio consumo e mercado doméstico e *ii*) grandes plantações e empresas

que atendem a demanda do mercado nacional e internacional (PADAM et al., 2012).

O cultivo da bananeira em mais de 130 países demonstra a importância econômica dessa cultura (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009; BELLO-PEREZ et al., 2012). A produção mundial de banana no ano de 2012 atingiu 101,9 milhões de toneladas (Mt) e os cinco principais países produtores foram Índia (24,9 Mt), China (10,6 Mt), Filipinas (9,2 Mt), Equador (7,0 Mt) e Brasil (6,8 Mt) (FAOSTAT, 2014). A Índia é o maior produtor mundial de bananas, mas em média apenas 0,04% da produção anual é destinada ao mercado de exportações, devido ao elevado consumo interno da fruta neste país (PADAM et al., 2012).

No Brasil, a evolução da bananicultura brasileira ocorreu a partir do ano de 1970 em virtude dos investimentos nas pesquisas sobre manejo e pós-colheita pelo Sistema Embrapa de pesquisa e da implantação do projeto de irrigação do semiárido brasileiro (LICHTEMBERG; LICHTEMBERG, 2011).

Atualmente, o Brasil é o quinto maior produtor mundial de bananas (FAOSTAT, 2014). Segundo o Anuário da Agricultura Brasileira (2012) o país produziu em 2011 aproximadamente 7,090 milhões de toneladas de banana, apresentando um pequeno aumento em relação ao ano de 2010 (6,978 milhões de t), como pode ser observado na Tabela 1. No ano de 2013 a produção de bananas no Brasil teve um aumento de 3,9% em relação ao ano de 2012 e com uma maior produtividade devido a menor área plantada, isto demonstra um investimento nas tecnologias de cultivo e manejo (IBGE, 2014).

A produção brasileira de banana está distribuída por todo o território nacional, sendo a região Nordeste a maior produtora, seguida pelo Sudeste, Sul, Norte e Centro-Oeste. O Estado de São Paulo apresentou a maior produção de bananas do país, seguido da Bahia, Santa Catarina, Minas Gerais e Pará (Tabela 1).

No Estado de São Paulo o cultivo da bananeira sempre esteve concentrado nas regiões litorâneas, principalmente no Vale do Ribeira. A notória adaptação da fruteira nesta região está relacionada às condições climáticas ideais,

entretanto a produção enfrenta problemas fitossanitários. Atualmente o Estado investe o cultivo no Planalto Paulista especificamente na região centro-oeste, devido ao controle natural da principal doença, a Sigatoka negra (AGRIANUAL, 2012).

Tabela 1: Produção brasileira de banana

Descrição	Ano			
	2010	2011	2012	2013
Brasil (t)	6.978.312	7.090.619	6.866.609	7.134.609
Área Colhida (ha)	480.087	492.113	482.499	480.840
Região Geográfica (t)				
Nordeste	2.646.002	2.701.432	-	-
Sudeste	2.261.470	2.239.364	-	-
Sul	1.031.666	1.032.242	-	-
Norte	781.310	868.918	-	-
Centro Oeste	257.864	248.663	-	-
Principais Estados Produtores (t)				
São Paulo	1.271.500	1.225.193	-	-
Bahia	1.079.050	1.152.892	-	-
Santa Catarina	672.892	675.704	-	-
Minas Gerais	654.444	642.746	-	-
Pará	514.922	531.927	-	-

t toneladas, ha hectares.

Fonte: AGRIANUAL (2012) e IBGE (2014).

A maior parte da produção nacional da fruta é destinada ao consumo interno por ser bastante apreciada pelos consumidores. O consumo anual *per capita* da banana no Brasil atinge em média 25 kg, sendo apontada como a segunda fruta na preferência do consumidor brasileiro depois da laranja (MATSUURA; COSTA; FOLEGATTI, 2004; MENDONÇA et al., 2013).

As variedades mais difundidas no Brasil são a Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola, do grupo AAB, utilizadas unicamente para o mercado interno e, Nanica, Nanicão e Grande Naine, do grupo AAA, usadas principalmente para exportação (BORGES & SOUZA, 2004; DONATO et al., 2006).

No início, a bananicultura brasileira contava com duas variedades do grupo genômico AAB, a Branca e a Pacova. Por meio de mutação natural, introdução de novas cultivares no país e dos programas de melhoramento genético foi possível obter variedades mais resistentes aos principais problemas fitossanitários e com maior produtividade (LICHTENBERG; LICHTENBERG, 2011). As atividades de melhoramento genético da bananeira no Brasil tiveram início na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical em 1983, com a introdução de germoplasma nacional e coleta em nível internacional, formando assim o Banco de Germoplasma de Banana (SOUZA et al., 2008). Devido a importantes características agrônômicas dos diplóides, tais como resistência a doenças e maior produtividade de frutos, os programas de melhoramento genético da bananeira utilizam diplóides como base para o desenvolvimento de novos híbridos comerciais (PEREIRA et al., 2012).

Em relação à exportação de bananas, o volume embarcado no ano de 2011 (110.053 t) teve queda de 21,14% quando comparado ao ano de 2010 (139.553 t), em valores representa a diminuição de aproximadamente US\$ 6 milhões no mercado interno (IBRAF, 2013). Enquanto isso, o Equador ocupa a primeira colocação, devido à presença de multinacionais especializadas na produção e na comercialização de bananas. Essas empresas aperfeiçoaram a cadeia produtiva e detêm mais de 90% de toda a exportação mundial de bananas. O Equador, Costa Rica e Colômbia são os maiores exportadores de bananas e representam cerca de 80% das exportações mundiais (LICHTENBERG; PEREIRA, 2010; BELLO-PEREZ et al., 2012).

Embora o Brasil produza 8% da produção mundial de bananas, o país é responsável por apenas 1% das exportações mundiais do produto (LICHTENBERG; LICHTENBERG, 2011). Este baixo índice está relacionado

principalmente a dois fatores: *i*) a produção brasileira de bananas é quase totalmente destinada ao mercado interno, com isso o país não desenvolveu boas práticas de manejo e conservação pós-colheita exigidas para transporte ao mercado externo; *ii*) as cultivares do subgrupo Prata representam mais de 60% da área cultivada no país e a preferência do mercado internacional é pelas variedades do subgrupo Cavendish. As cultivares do subgrupo Cavendish (Nanina, Nanicao, Gros Michel) representam 47% da produção mundial de bananas, o que demonstra a preferência do consumidor por essas variedades (SOTO, 2011). Desde 1998, o Estado de Santa Catarina lidera a exportação brasileira de bananas, seguido pelos Estados do Rio Grande do Norte e São Paulo (LICHTEMBERG; LICHTEMBERG, 2011; MENDONÇA et al., 2013).

A variedade Prata apresenta características interessantes para exportação pouco exploradas pelos produtores brasileiros. A maioria das variedades de banana sofrem transformações bioquímicas desfavoráveis quando armazenadas em baixas temperaturas (< 12°C), como o escurecimento do tecido vascular. No entanto, a variedade Prata é mais resistente às mudanças climáticas e aos maus tratos em pós-colheita (DER AGOPIAN et al., 2011). A principal limitação para a entrada da cultivar Prata no mercado internacional pode ser ausência de *marketing* (AGRIANUAL, 2012).

O baixo volume de exportação também está diretamente relacionado às elevadas perdas na produção, provenientes da falta de técnicas adequadas para o cultivo, problemas fitossanitários e danos mecânicos na pós-colheita, além dos fatores climáticos. Para suplantarem estas limitações a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical tem trabalhado no desenvolvimento de novas variedades e nos programas de capacitação profissional no cultivo da banana (AGRIANUAL, 2012).

Existe um grande número de variedades de bananeira no Brasil, contudo poucas apresentam potencial agrônomo para serem usadas comercialmente, devido à baixa produtividade, porte elevado e suscetibilidade a pragas e doenças (DONATO et al., 2006).

O manejo integrado dos cultivos também auxilia no aumento da produção (LÉDO et al., 2008). As práticas culturais disponíveis para o cultivo da bananeira nas diversas regiões do Brasil, desde antes do cultivo até a colheita, têm permitido a obtenção de elevadas produtividades em plantações de diferentes variedades e em diferentes condições edafoclimáticas do país (LICHTEMBERG; LICHTEMBERG, 2011).

Apesar dos esforços para melhorar os aspectos fitossanitários e de manejo, o setor enfrenta perdas de até 40% na pós-colheita dos frutos devido ao manuseio inadequado (LICHTEMBERG; VILAS BOAS; DIAS, 2008). Os danos mecânicos, as doenças da pós-colheita e o armazenamento não refrigerado são as causas mais importantes de perdas. Esses fatores promovem alterações na taxa de respiração e transpiração do fruto, aumento da produção de etileno e da síntese e degradação de pigmentos, na ativação de enzimas, na firmeza do fruto e no aumento da perda de água (ALVES, 1997).

A falta de cuidados na pós-colheita é responsável pela desvalorização da banana no mercado interno e pela perda de oportunidades de exportação da fruta brasileira. O aumento da demanda por frutos de qualidade a partir da década de 90 promoveu uma melhora no manejo dos frutos nos principais estados exportadores de bananas, porém, existe um grande avanço a ser realizado para melhorar os procedimentos de pós-colheita e a qualidade dos frutos (LICHTEMBERG; LICHTEMBERG, 2011).

No processo de amadurecimento da banana ocorre a redução do teor de amido, armazenado durante o desenvolvimento do fruto, e o acúmulo de açúcares como frutose, glicose e sacarose, além da produção de aromas característicos da fruta e a modificação da textura de firme para macia (MOTA; LAJOLO; CORDENUNSI, 1997). Todas estas transformações bioquímicas podem ser controladas para aumentar a vida útil do fruto após a colheita (BELLO-PEREZ et al., 2012). A colheita representa uma etapa importante no processo de comercialização e na manutenção da qualidade dos frutos. Para exportação os cachos de bananas são colhidos verdes (60-80% maduros) e quando o destino é o

mercado interno os frutos podem ser colhidos totalmente maduros, dependendo da distância entre agricultor e mercado consumidor. No Brasil, a prática mais comum é colher os frutos verdes, pois facilita o transporte e o controle do amadurecimento, principalmente devido ao armazenamento climatizado e ao tratamento com gás etileno (ANYASI; JIDEANI; MCHAU, 2013).

O melhoramento e/ou manutenção da cadeia produtiva da banana implica na exploração de diferentes variedades e no uso do melhoramento genético para obter cultivares mais resistentes, produtivas e aceitas pelo consumidor. A implantação de novos cultivos resistentes diminui o uso de defensivos agrícolas e o custo da produção. Além disso, reduz o impacto ambiental e promove a valorização do produto no mercado (FEHLAUER et al., 2010).

A elevada demanda por frutas tropicais no mercado internacional coloca o Brasil dentre os países promissores a dominar o comércio mundial, para tanto, o fornecimento de bananas com qualidade condizente às exigências do consumidor está relacionado à necessidade de maiores investimentos em toda a cadeia produtiva da bananicultura (ALENCAR et al., 2013).

Outra alternativa para conquistar uma fatia maior do mercado internacional é o cultivo de bananas orgânicas, que é caracterizada pela ausência de fertilizantes e pesticidas sintéticos. Soma-se a isso, o fato de algumas frutas orgânicas apresentarem maior quantidade de compostos antioxidantes, como vitaminas e compostos fenólicos, do que os frutos convencionais (FALLER; FIALHO, 2010). A América Latina é o único exportador de bananas orgânicas e no ano de 2009 foi exportado mais de 24,2 milhões de toneladas, o que representa aproximadamente 3% do total de exportações de banana convencional. O Equador é o maior exportador de bananas orgânicas (SOTO, 2011). Apesar da grande área cultivada com banana no Brasil não existem dados disponíveis quanto à área destinada ao manejo orgânico (BORGES et al., 2014).

1.3. Qualidade nutricional e funcional

O consumo de frutas aumentou nos últimos anos devido à maior demanda por alimentos saudáveis (WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011). A banana ocupa a segunda posição na produção mundial de frutas, sendo considerada uma das fontes alimentares mais importantes do mundo, atrás apenas do arroz, trigo e milho (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009). A banana atrai consumidores pelas suas propriedades nutricionais e aspectos sensoriais, além da praticidade de consumo, podendo ser consumida *in natura* ou processada (NASCIMENTO JUNIOR et al., 2008). O aroma atrativo e agradável da banana madura está relacionado à presença de substâncias voláteis, tais como ésteres, álcoois, aldeídos e cetonas (NASCIMENTO JUNIOR et al., 2008; VERMEIR et al., 2009).

A banana é uma importante fonte de mono- e oligossacarídeos, ácido ascórbico e sais minerais, tais como potássio (K), fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), sódio (Na), ferro (Fe) e manganês (Mn). Esse fruto tropical também contém em sua composição, vitaminas do complexo B (principalmente vitamina B6, piridoxina), carotenoides precursores de vitamina A e fitoesteróis (β -sitosterol, campesterol e estigmasterol) (WALL, 2006; DER AGOPIAN et al., 2008; AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009; ANYASI; JIDEANI; MCHAU, 2013; VILELA et al., 2014). Além disso, a banana apresenta catecolaminas, flavonoides (flavan-3-ols e flavonóis) e ácidos fenólicos livres e conjugados à parece celular que são compostos antioxidantes largamente estudados devido às suas propriedades funcionais (SUN et al., 2002; KANAZAWA; SAKAKIBARA, 2000; LAKO et al., 2007; RUSSELL et al., 2009).

A banana madura contém carboidratos de fácil digestão (22,84 g/100 g de fruta fresca), baixo teor de gorduras totais (0,33 g/100 g), além de potássio (358,0 mg/100 g) e vitamina C (8,7 mg/100 g). Esta fruta tropical pode ser consumida por pessoas de qualquer faixa etária, estando presente nas refeições de crianças e idosos (PO, 2007). A banana ainda é considerada como um alimento saudável e seguro para crianças com cerca de seis meses de vida, uma vez que fornece

nutrientes importantes e não provoca desconfortos intestinais como cólica ou diarreia (PEREIRA; MARASCHIN, 2014). Em certas regiões, o purê de banana é o primeiro alimento sólido fornecido às crianças. Como pode ser observado, a banana é utilizada em dietas especiais que exigem alimentos de fácil digestão (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009).

Na Índia, por exemplo, a banana é tradicionalmente utilizada para auxiliar na prevenção ou tratamento de um grande número de doenças, como depressão (relacionado ao conteúdo de triptofano e a síntese de serotonina), anemia (conteúdo de ferro) e controle da pressão sanguínea (elevado conteúdo de potássio). Os frutos também são utilizados contra constipação (normaliza as funções intestinais), ressaca (aumento do nível de açúcar no sangue), azia e úlceras (efeito antiácido) (KUMAR et al., 2012; PEREIRA; MARASCHIN, 2014).

Todas essas propriedades nutricionais e sensoriais estimulam o consumo da banana em diversas regiões do mundo. Embora a banana apresente um baixo conteúdo de compostos antioxidantes e fenóis totais (90 mg/100 g de fruta fresca) (SUN et al., 2002), o elevado consumo faz com que esse fruto seja considerado uma importante fonte natural de compostos funcionais (PO, 2007). Uma dieta rica em bananas pode aumentar a concentração de melatonina sérica e o nível de antioxidantes no sangue, podendo ser eficaz na proteção do organismo contra o estresse oxidativo (VIJAYAKUMAR; PRESANNAKUMAR; VIJAYALAKSHMI, 2008; SAE-TEAW et al., 2013). Além disso, o consumo de bananas pode prevenir o desencadeamento de câncer de colón, diarreia, desordens intestinais e melhorar o trânsito gastrointestinal (ARORA; SHARMA, 1990; ANYASI; JIDEANI; MCHAU, 2013).

Desta maneira, a banana é uma importante fonte de nutrientes e de compostos funcionais para milhões de pessoas, pertencentes às diferentes classes sociais em todo o mundo (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009).

2. Processamento da banana

A banana é consumida principalmente na forma *in natura*, por populações de alta e baixa renda, em virtude do alto valor nutritivo e do baixo custo. A ausência de suco na polpa, de sementes duras e a disponibilidade no mercado brasileiro ao longo do ano contribuem significativamente para o seu alto consumo (LICHTEMBERG; VILAS BOAS; DIAS, 2008).

O consumidor atual procura nas gôndolas dos mercados diversidade de produtos. O processamento e/ou a introdução da banana na formulação de produtos tem por finalidade fornecer ao consumidor uma maior variedade de alimentos a partir desta fruta e também aumentar a vida útil da banana (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009).

No Brasil, ocorre aproximadamente o processamento de 2,5 - 3,0% da produção anual de bananas, sendo que mais de 70% dos produtos obtidos são exportados para o Japão, Estados Unidos e Europa. Diversos produtos podem ser obtidos a partir da banana: polpa ou purê, néctar, fruta em calda, produtos desidratados (banana liofilizada, flocos e fruta na forma de passa), fermentado de fruta, vinagre, cerveja, aguardente, licor e doces diversos, incluindo geleias e doce de massa (MOTA, 2005; ANYASI; JIDEANI; MCHAU, 2013). Dentre eles, o principal produto derivado da banana é o purê, que corresponde a 55% do total de produtos industrializados no país (FOLEGATTI; MATSUURA, 2004). Além disso, a banana ainda pode ser utilizada como ingrediente em formulações de tortas, bolos, biscoitos, cereais matinais, barras de frutas e cereais, alimentos infantis e dietéticos, iogurtes, sorvetes, dentre outros (MOHAPATRA et al., 2010).

A banana utilizada para a industrialização não é especialmente produzida para esta finalidade, geralmente, corresponde às bananas não introduzidas no mercado de frutas *in natura*, o que pode ocorrer pelo excedente de oferta ou pela qualidade da fruta não atender aos padrões do mercado. Frutos com defeitos que não comprometam a qualidade da polpa também podem ser utilizados no processamento (FOLEGATTI; MATSUURA, 2004).

A banana é uma fruta extremamente perecível e apresenta uma vida de prateleira relativamente curta, que pode variar de 6 a 10 dias em condições tropicais. A sensibilidade dos frutos maduros associado ao manuseio incorreto durante os procedimentos de pós-colheita promove perdas de até 40% durante o percurso da fazenda para o consumidor (ANYASI; JIDEANI; MCHAU, 2013). Para algumas variedades de banana, o armazenamento em condições de refrigeração (< 12°C) provoca alterações nos aspectos sensoriais, como o aparecimento de manchas escuras na casca (LICHTEMBERG; MALBURG; HINZ, 2001; DER AGOPIAN et al., 2009).

A industrialização da banana pode representar uma forma de minimizar perdas pós-colheita por meio do aumento da vida de prateleira. Além de facilitar o transporte e fornecer ao consumidor uma grande variedade de produtos. No entanto, existe um ponto desfavorável relacionado aos resíduos gerados durante o processamento dessa fruta tropical, a casca de banana (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009).

2.1. Casca de banana

Geralmente, a polpa da banana é utilizada para o consumo humano e a casca é descartada ou utilizada como fertilizante orgânico e na alimentação animal (BELLO-PEREZ et al., 2012; PEREIRA; MARASCHIN, 2014). O descarte da casca ocorre nas residências, restaurantes, fábricas de produtos artesanais e principalmente nas empresas de grande porte. A casca de banana representa de 30 a 40% do peso total da fruta, dependendo da variedade e do grau de maturação, e o descarte inapropriado e a falta de reaproveitamento deste subproduto provoca grande impacto ambiental (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010). Levando em consideração a produção anual média e a quantidade de banana processada, cerca de 84.000 toneladas por ano de casca são descartadas pela indústria de alimentos no Brasil (COMIM et al., 2010). No entanto, esse número pode ser ainda maior quando se contabiliza a quantidade de

fruta que entra no mercado *in natura* e gera resíduos nas residências e fábricas de produtos artesanais. Desta maneira, os resíduos podem ser classificados em duas classes: *i*) industrial e *ii*) doméstico (MIRABELLA; CASTELLANI; SALA, 2014).

A matéria orgânica líquida ou sólida proveniente do processamento de alimentos *in natura* é usualmente intitulada como resíduo, sendo qualquer substância ou objeto indesejável removido do processo. No entanto, no descarte de resíduos da agroindústria deve-se levar em consideração o potencial de reutilização desses dentro do setor industrial. Desta maneira, os especialistas na área utilizam o termo “subprodutos” para notificar que os resíduos agroindustriais poderão ser utilizados na extração de compostos funcionais e/ou no desenvolvimento de novos produtos, dentre outras aplicações (GALANAKIS, 2012).

Os subprodutos do processamento de frutas e hortaliças podem conter importantes substâncias com elevado valor para serem reutilizadas. Através do uso de tecnologias adequadas o subproduto pode ser convertido em produtos comerciais e/ou utilizado como insumo em processos secundários, além de ingrediente na formulação de novos produtos (LAUFENBERG; KUNZ; NYSTROEM, 2003).

A falta de conhecimento dos compostos presentes em um alimento ou subproduto promove o mau aproveitamento, o que gera o desperdício de toneladas de recursos alimentares (GONDIM et al., 2005). Portanto, a aplicação de um resíduo depende principalmente de sua composição química (EMAGA et al., 2007; GALANAKIS, 2013).

Composição centesimal

A casca de banana pode ser considerada uma fonte importante de nutrientes, devido ao conteúdo de carboidratos, lipídeos, proteína, fibra bruta e sais minerais (Tabela 2). Um pequeno conteúdo de compostos antinutricionais foram quantificados na casca, como cianeto de hidrogênio (1,33 mg/g; resultado

expresso em base seca, BS), oxalato (0,51 mg/g BS), fitatos (0,28 mg/g BS) e saponinas (24 mg/g BS), o que não compromete o uso desse subproduto na alimentação (ANHWANGE, 2008).

Tabela 2: Composição da casca de banana madura

Parâmetro	Valores (%)	Elemento	(mg/100 g fruta fresca)
Umidade	78,4*	<i>K</i>	1062 - 1387
Matéria seca	14,08*	<i>P</i>	29,9 - 78,8
Lipídeos	11,6*	<i>Mg</i>	10,7 - 81,5
Proteínas	7,87*	<i>Na</i>	6,3 - 16,2
Fibra bruta	7,68*	<i>Ca</i>	0,1 - 6,8
Carboidratos	56,51*	<i>Mn</i>	0,1 - 9,6
Minerais	13,44*	<i>Fe</i>	0,2 - 2,5
		<i>Zn</i>	0,3 - 1,5

*Valores expressos em base seca.

Adaptado de Essien, Akpan & Essien (2005); Emaga et al. (2007); Karthikeyan & Sivakumar (2010); Sulaiman et al. (2011). Para maiores informações sobre a composição da casca de banana consultar Emaga et al. (2007).

O teor de sais minerais na casca de banana varia de acordo com a variedade analisada e o local de cultivo (GONDIM et al., 2005; SULAIMAN et al., 2011). A casca é fonte de sais minerais, como potássio, fósforo, magnésio e sódio. O potássio (K) é o elemento em maior quantidade (Tabela 2) e seu conteúdo pode ser até quatro vezes maior na casca do que na polpa da banana (EMAGA et al., 2007; AQUINO et al., 2014).

A casca de banana madura apresenta elevados teores de fibra dietética insolúvel, composta por celulose, hemicelulose e lignina (36,23%), e solúvel (18,91%), sendo 10,71% de pectina. Enquanto isso, a fração insolúvel representa de 65 - 85% do conteúdo de fibras totais (55,46%), dependendo da variedade analisada (LEE et al., 2010). O teor de amido é baixo devido ao processo de conversão em mono- e dissacarídeos (frutose, glicose e sacarose) durante o amadurecimento do fruto. A casca ainda contém aminoácidos essenciais (leucina,

valina, fenilalanina e treonina), ácidos graxos poli-insaturados (linoléico e α -linolênico) e saturados (palmítico e esteárico) (EMAGA et al., 2007; OBEROI; SANDHU; VADLANI, 2012).

Formas de reaproveitamento da casca

A composição centesimal da casca de banana madura permite o desenvolvimento e aplicação de tecnologias para a obtenção de uma diversidade de produtos. O grande potencial da casca como matéria-prima em diversos setores da indústria alimentícia tem ganhado a atenção dos pesquisadores (EMAGA et al., 2007; PADAM et al., 2012).

Os resíduos da indústria de alimentos representam uma importante fonte de biomassa e de nutrientes. No passado, os subprodutos eram descartados incorretamente ou utilizados sem nenhum tratamento na alimentação animal ou como fertilizantes. Atualmente, novos métodos e políticas para a manipulação e tratamento de resíduos foram introduzidos, devido à crescente conscientização da população mundial pela preservação do meio ambiente e ainda por motivos econômicos (LAUFENBERG; KUNZ; NYSTROEM, 2003). Conseqüentemente, um grande esforço tem sido realizado para obter por meio dos subprodutos compostos de elevado valor comercial, tais como pectina, fibras e compostos fenólicos, e também produtos, por exemplo, a farinha da casca de banana (REBELLO et al., 2014).

Uma das formas mais antigas de reaproveitamento da casca de banana é na alimentação animal. O baixo conteúdo de taninos, em elevadas quantidades pode diminuir a disponibilidade de proteínas, e a elevada quantidade de fibras permitiram o uso desse subproduto como fonte de energia para bovinos e suínos (EMAGA et al., 2011). A casca também foi utilizada como adsorvente na remoção de íons metálicos em rios e águas residuais da indústria (MEMON et al., 2008; CASTRO et al., 2011) e na fabricação de briquetes, uma fonte concentrada e comprimida de material energético (WILAIPON, 2009).

O uso de bioprocessos para a obtenção de produtos é uma das principais formas de reaproveitamento da casca de banana (PADAM et al., 2012). A casca de banana madura foi utilizada para a produção de metano (CLARKE et al., 2008), etanol (OBEROI et al., 2011), ácido cítrico (KARTHIKEYAN; SIVAKUMAR, 2010), biossurfactantes (CHOOKLIN; MANEERAT; SAIMMAI, 2014) e biomassa rica em proteínas (YABAYA; ADO, 2008). Esse subproduto também foi utilizado como substrato para a produção de enzimas, como pectinases (*Aspergillus niger* MTCC 281), lacases (*Aspergillus fumigatus* VkJ2.4.5), xilanases (*Trichoderma harzianum* 1073 D3) e enzimas com atividade lignocelulolítica (*Inonotus sp.* SP2) (SEYIS; AKSOZ, 2005; VIVEKANAND et al., 2011; GARCÉS et al., 2012; BARMAN et al., 2014).

A casca é um subproduto rico em carboidratos e outros componentes básicos para o crescimento microbiano (Tabela 2) e pode ser utilizada como meio de cultura para o crescimento de micro-organismos (*Aspergillus fumigatus* e *Mucor hiemalis*) (ESSIEN; AKPAN; ESSIEN, 2005). A casca da banana representa um potencial substrato para a conversão enzimática da celulose, hemicelulose e da pectina em monossacarídeos (glicose, galactose, xilose e ácido galacturônico) com pouco gasto energético e facilidade no *downstream processing*. A hidrólise da casca de banana para a produção de açúcares é uma etapa muito importante na produção de etanol e ácidos orgânicos via fermentação (OBEROI; SANDHU; VADLANI, 2012). Além disso, o uso de um hidrolisado de casca de banana aumentou a produção de glutathione por *Candida utilis* SZU 07-01 (CHEN et al., 2011).

Outra forma de reaproveitamento é a elaboração de produtos alimentícios. A farinha da casca de banana madura apresenta elevados teores de açúcares e fibras e pode ser utilizada na formulação de diversos produtos (ALKARKHI et al., 2011). Essa farinha ainda apresenta elevado conteúdo de fenóis totais (29,2 mg equivalente ácido gálico/100 g) e atividade antioxidante (435,5 µM equivalente trolox/g, ensaio ORAC) (REBELLO et al., 2014). A casca de banana também é uma excelente fonte de pectina (EMAGA et al., 2008b), ao qual pode ser utilizada

na indústria de alimentos como agente gelificante (EMAGA et al., 2008a; QIU et al., 2010). Uma geleia funcional foi obtida a partir do pó da casca de banana liofilizada (LEE et al., 2010) e o uso da casca de banana *in natura* como ingrediente melhorou o perfil de ácidos graxos de iogurtes probióticos (DO ESPÍRITO SANTO et al., 2012).

O extrato aquoso da casca de banana pode ser utilizado como conservante em carne de frango processada e em outros derivados cárneos, pois diminui a peroxidação lipídica durante o armazenamento, apresentando eficiência de conservação semelhante ao antioxidante sintético *BHT* (hidroxitolueno butilado) (BISWAS et al., 2014; DEVATKAL; KUMBOJ; PAUL, 2014). O extrato etanólico liofilizado da casca de banana também apresentou habilidade como antioxidante em prevenir a oxidação do óleo de peixe (Salmão) durante 30 dias de armazenamento (ANAL; JAISANTI; NOOMHORM, 2014).

Finalmente, diversos estudos têm revelado que a casca de banana apresenta nutrientes (Tabela 2) e compostos funcionais importantes para a indústria de alimentos e para a saúde do ser humano (Figura 2). Esse subproduto contém compostos antioxidantes, tais como carotenoides (SUBAGIO; MORITA, 1997), antocianinas (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010) catecolaminas (KANAZAWA; SAKAKIBARA, 2000), flavonoides (flavan-3-ols e flavonóis) e taninos condensados (procianidinas e prodelfinidinas) (REBELLO et al., 2014; SOMEYA; YOSHIKI; OKUBO, 2002; TSAMO et al., 2015).

Poucos trabalhos relatam o efeito da parte não-comestível da banana (casca) na saúde. O extrato desse subproduto foi utilizado como antidepressivo (TEE; HASSAN, 2011) e no tratamento da hiperplasia benigna da próstata em camundongos (AKAMINE; KOYAMA; YAZAWA, 2009). No Brasil, a casca de banana é conhecida pelos seus usos na medicina popular como cicatrizante de feridas, principalmente provenientes de queimaduras. A casca de banana madura pode ser utilizada para fazer uma cataplasma em feridas para diminuir a dor e o inchaço, bem como para diminuir a irritação da picada de mosquitos (PEREIRA; MARASCHIN, 2014).

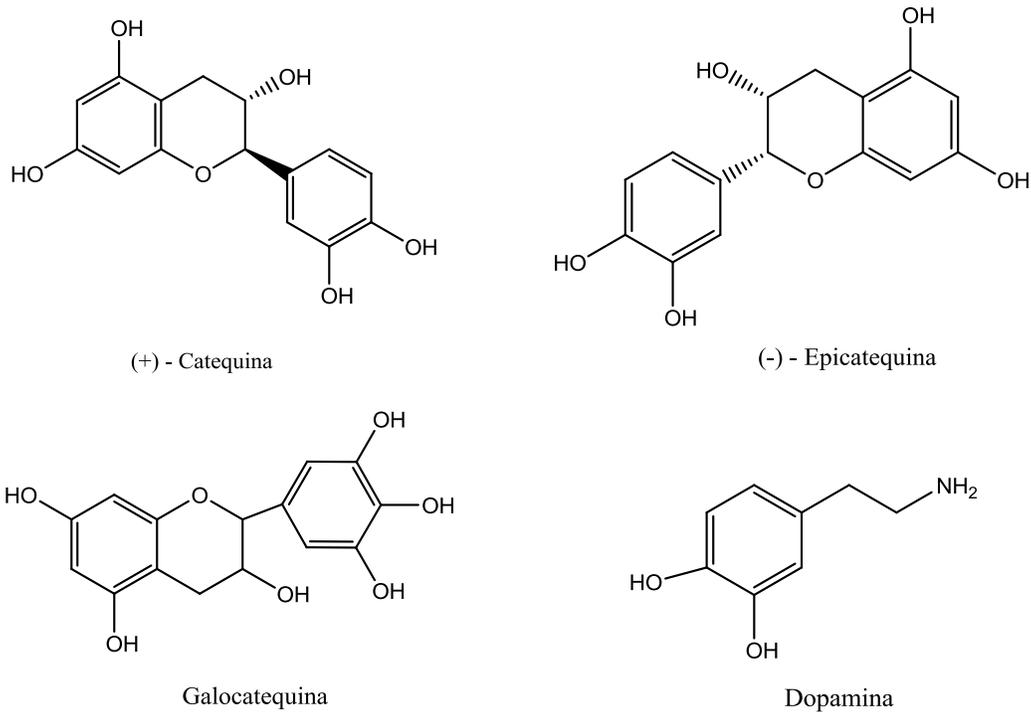


Figura 2: Estrutura química dos principais flavonoides e catecolaminas encontrados na casca da banana (KANAZAWA; SAKAKIBARA, 2000; SOMEYA; YOSHIKI; OKUBO, 2002; REBELLO et al., 2014).

O uso de resíduos do processamento de frutas pela indústria cresce sistematicamente, destacando seu uso em processos biotecnológicos e como material de partida para a extração de compostos bioativos. Neste enfoque, a utilização de subprodutos provenientes da indústria de alimentos, em particular o uso da casca de banana, para a obtenção de compostos funcionais apresenta diversas vantagens, principalmente pelas matérias primas apresentarem baixo custo e serem abundantes durante todo o ano. Além disso, o reaproveitamento dos subprodutos agroindustriais está associado à redução do impacto ambiental e do custo do tratamento de efluentes (MIRABELLA; CASTELLANI; SALA, 2014).

3. Compostos fenólicos

3.1. Definições gerais

Dentre os milhares de compostos produzidos pelas plantas, uma parte está relacionado ao metabolismo primário, como carboidratos, lipídeos e proteínas, necessários ao funcionamento do organismo, e outra parte ao metabolismo secundário, tais como terpenos, compostos fenólicos e alcaloides. As plantas, organismos autotróficos, possuem um metabolismo secundário que as permitem produzir e acumular compostos de natureza química diversa. Estes metabólitos secundários apresentam uma distribuição restrita no reino vegetal, ou seja, estando relacionado à um gênero de plantas, família ou até mesmo à algumas espécies. Nas plantas, os metabólitos secundários têm funções ecológicas específicas, atuando como agentes de defesa contra herbívoros, micro-organismos patogênicos e plantas invasoras, polinizadores, atraindo insetos polinizadores ou dispersores de sementes, e ainda como agentes de proteção contra a radiação ultravioleta (*UV*) e substâncias oxidantes, dentre outras propriedades (LATTANZIO et al., 2008; RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014).

Os compostos fenólicos ou (poli) fenóis são os metabólicos secundários mais amplamente distribuídos no reino vegetal, sendo que aproximadamente 2% de todo o carbono fotossintetizado pelas plantas é convertido em flavonoides e seus compostos relacionados (LATTANZIO et al., 2008). Quimicamente, os (poli) fenóis podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático contendo um ou mais substituintes hidroxilas (ANDRÉS-LACUEVA et al., 2009). A estrutura dos compostos fenólicos pode variar de moléculas simples (ácidos fenólicos) até polímeros de elevada massa molecular (proantocianidinas), e milhares de diferentes compostos têm sido identificados com uma grande diversidade de estruturas (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Devido a essa diversidade estrutural, os compostos fenólicos usualmente podem ser classificados em duas diferentes classes: *i*) flavonoides e *ii*) não-

flavonoides (LANDETE, 2012). Os flavonoides apresentam uma estrutura comum que consiste em 2 anéis aromáticos (A e B) ligados por um anel heterocíclico oxigenado (anel C) e essa classe pode ser dividida em 6 subclasses: flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas e flavan-3-ols (catequinas e proantocianidinas) (MANACH et al., 2004). Dentro da classe dos não-flavonoides existe uma diversidade de compostos com características semelhantes, tais como, ácidos fenólicos, estilbenos, ligninas, taninos, dentre outros. Além disso, os (poli) fenóis podem estar associados à carboidratos (simples ou complexos), lipídeos, ácidos orgânicos, aminas e componentes da parede celular, como a celulose, hemicelulose e lignina (HAMINIUK et al., 2012).

Dentre os compostos citados, os flavonoides, ácidos fenólicos e taninos, apresentados na Figura 3, são considerados os principais compostos fenólicos presentes em frutas e hortaliças (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Os (poli) fenóis são comumente encontrados tanto na parte comestível quanto não-comestível de plantas e apresentam um papel importante na qualidade de frutas devido a sua contribuição no paladar (amargor e adstringência), cor e propriedades funcionais (CHEYNIER, 2005; GHARRAS, 2009). A classe e o conteúdo de compostos fenólicos em frutas dependem de fatores bióticos e abióticos, tais como o ataque de insetos e patógenos, radiação *UV* e ferimentos. O grau de maturação, variedade, armazenamento e processamento também influenciam no teor de compostos fenólicos (BRAVO, 1998).

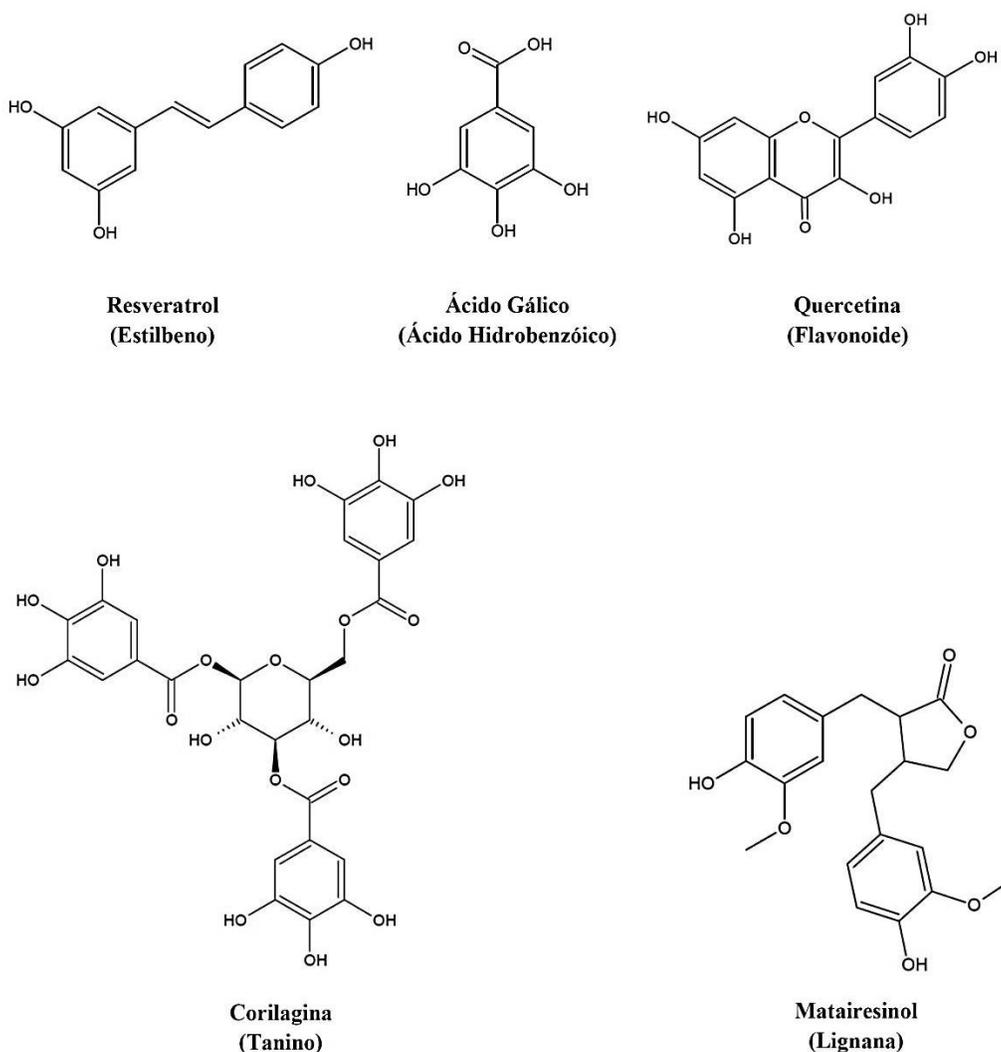


Figura 3: Estruturas e exemplos de algumas classes de compostos fenólicos (APAK et al., 2007).

3.2. Compostos fenólicos: consumo e benefícios

Informações acerca da ingestão diária de (poli) fenóis em diferentes populações são escassas na literatura (MANACH et al., 2004). Para determinar o consumo de (poli) fenóis em populações são essenciais informações detalhadas sobre o seu conteúdo nos alimentos. No entanto, estas informações não são facilmente obtidas devido à diversidade de estruturas químicas e à variação no

conteúdo de compostos fenólicos em determinado alimento, além do mais, existe a falta de padronização dos métodos de quantificação (NEVEU et al., 2010). Alguns trabalhos relatam que o consumo de (poli) fenóis pode ser maior do que 1 g/dia em diferentes países, tais como Estados Unidos e Espanha (LANDETE, 2012).

As principais fontes de (poli) fenóis são as frutas, vegetais e bebidas, por exemplo, vinhos, chás e suco de frutas. Frutas, como maçã, pêra, cereja e diversas *berries* contêm mais que 200-300 mg de (poli) fenóis por 100 g de fruta fresca. Um copo de vinho tinto ou uma xícara de chá verde ou café contêm cerca de 100 mg de compostos fenólicos. Cereais, chocolate e legumes também contribuem para o consumo de (poli) fenóis. Como pode ser notado, uma dieta livre de (poli) fenóis dificilmente pode ser encontrada nas diferentes regiões do mundo e devido à presença integral destes compostos na dieta humana muitos estudos tem focado na compreensão das propriedades funcionais e no modo de ação dos (poli) fenóis no corpo humano (PERRON; BRUMAGHIM, 2009; LANDETE, 2012).

Além dos fatores sensoriais e tecnológicos, os (poli) fenóis tem merecido grande destaque na comunidade em geral, devido principalmente às suas propriedades antioxidantes. O termo antioxidante pode ser brevemente definido como substâncias que podem prevenir ou reduzir os danos oxidativos de biomoléculas provocado por espécies reativas. As espécies reativas, tais como radicais livres (ex.: ânion superóxido, hidroxil, peroxil e alcoxil) e não- radicais (ex.: peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso) são produzidas normalmente durante o metabolismo de células aeróbicas. A interação entre essas moléculas energeticamente instáveis com lipídeos, proteínas e ácidos nucléicos promove danos em diferentes células/tecidos que podem estar associados ao desenvolvimento de doenças crônicas e degenerativas. A produção de espécies reativas no organismo é controlada por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ser de origem endógena (ex.: glutathione peroxidase, superóxido

dismutase) ou obtidos por meio da dieta (ex.: vitamina C, compostos fenólicos e carotenoides) (LIM; LIM; TEE, 2007; LUZIA; JORGE, 2014).

Os (poli) fenóis antioxidantes podem atuar de diferentes maneiras, incluindo a supressão ou o sequestro de espécies reativas de oxigênio e/ou nitrogênio (ROS/RNS), quelação de metais de transição, inibição de enzimas envolvidas no estresse oxidativo e regulação e/ou proteção dos sistemas de defesa endógenos (APAK et al., 2007; PERRON; BRUMAGHIM, 2009; LUZIA; JORGE, 2014). Os (poli) fenóis também apresentam outras propriedades, por exemplo, atividade anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral e anti-histamínica. Além disso, alguns compostos fenólicos atuam como prebióticos, favorecendo o crescimento de bactérias do gênero de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, e vasodilatadores, o que auxilia no controle da pressão sanguínea. Desta maneira, uma dieta rica em compostos fenólicos tem sido associada à diminuição do risco de certas doenças, incluindo doenças cardiovasculares e vários tipos de câncer (WEICHSELBAUM; BUTTRISS, 2010; LANDETE, 2012).

Durante as últimas duas décadas têm aumentado o número de estudos reportando os efeitos do consumo de (poli) fenóis na saúde do ser humano. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o consumo diário de fontes naturais de compostos antioxidantes auxilia na prevenção de câncer do trato gastrointestinal, doenças cardiovasculares e diminui a incidência de diabetes. Diversos estudos *in vitro* também mostraram que os compostos fenólicos inibem a proliferação de células cancerígenas e a oxidação de LDL (mecanismo associado à prevenção de aterosclerose), protegem os neurônios, melhoram a secreção de insulina e estimulam a vasodilatação, dentre outros (HAMINIUK et al., 2012; LANDETE, 2012; WEICHSELBAUM; BUTTRISS, 2010).

Atualmente, existe um grande interesse por parte da comunidade científica acerca das modificações estruturais provocadas nas moléculas de (poli) fenóis durante o processo de digestão. Diferentes fatores podem influenciar a biodisponibilidade dos (poli) fenóis, tais como matriz vegetal (presença de outros compostos), metabolismo, enzimas digestivas e microbiota intestinal. O

conhecimento sobre o metabolismo dos compostos fenólicos no corpo humano pode permitir entender melhor o mecanismo de ação destes antioxidantes na prevenção de doenças crônicas e degenerativas e também confirmar os benefícios observados em experimentos *in vitro* e *in vivo* (animais) (BOHN, 2014; HAMINIUK et al., 2012; LANDETE, 2012; SCHAUSS, 2013; SELMA; ESPÍN; TOMÁS-BARBERÁN, 2009; WEICHSELBAUM; BUTTRISS, 2010). Desta forma, os (poli) fenóis apresentam um potencial promissor como agente profilático e terapêutico, no entanto, ainda não foi bem elucidado como esses compostos atingem determinadas regiões do corpo em uma forma biologicamente ativa, e em concentração suficiente, para exercer um efeito benéfico (SCHAUSS, 2013).

Além dos benefícios à saúde, outro importante aspecto é o uso dos compostos fenólicos na tecnologia de alimentos como conservantes devido às suas propriedades antioxidantes. Estudos têm demonstrando que extratos ricos em (poli) fenóis obtidos de matrizes vegetais, tais como alecrim, chá verde, semente de manga, trigo e semente de uva são eficientes na inibição da peroxidação lipídica em óleos vegetais e de peixes. Esses extratos apresentaram atividade antioxidante e eficiência de proteção maior do que os antioxidantes sintéticos *BHT* (hidroxitolueno butilado) e *BHA* (Hidroxianisol butilado) em diferentes sistemas (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Neste enfoque, extratos de frutas, ervas, vegetais, cereais e outros materiais de planta ricos em (poli) fenóis têm despertado o interesse da indústria de alimentos devido às suas propriedades em retardar a degradação oxidativa de lipídeos e, conseqüentemente, melhorar a qualidade e o valor nutricional do produto (GHARRAS, 2009). Alguns extratos de plantas fontes de (poli) fenóis (ex.: chá, *berries*, uva e ervas) foram utilizados como ingredientes em bebidas (fortificação ou enriquecimento), no processo de fabricação de queijos para modificar as propriedades físicas e em produtos cárneos com a finalidade de aumentar a vida de prateleira por meio da inibição da oxidação de lipídeos e proteínas (GANHÃO; MORCUENDE; ESTÉVEZ, 2010; HAN et al., 2011).

Tendo em vista as diferentes propriedades funcionais e tecnológicas dos (poli) fenóis, muitas pesquisas têm focado na obtenção de compostos fenólicos a partir de plantas ou de subprodutos da agroindústria, que também representam fontes importantes de compostos fenólicos antioxidantes (AYALA-ZAVALA et al., 2011).

3.3. Extração de compostos fenólicos

A extração, do Latim “*extractus*” que significa retirar algo para fora, é a primeira etapa de qualquer estudo com plantas medicinais, apresentando um papel fundamental sobre o resultado final. O procedimento de extração pode ser utilizado na *i*) quantificação e caracterização de compostos bioativos presentes em materiais vegetais; ou *ii*) recuperação de determinado composto alvo para aplicação na ciência. Na extração/recuperação de compostos fenólicos a partir de matrizes vegetais é importante selecionar a técnica e os parâmetros de extração apropriados (AZMIR et al., 2013).

Brevemente, a extração de (poli) fenóis a partir de matrizes vegetais é influenciada pela natureza química do composto alvo (moléculas simples até polímeros de elevada massa molecular), método de extração empregado e tamanho das partículas. Consequentemente, o extrato obtido representa uma mistura de diferentes classes de compostos fenólicos solúveis no solvente utilizado. Além disso, a presença de substâncias interferentes (carboidratos, proteínas, etc.) também afeta a eficiência de extração. A solubilidade dos (poli) fenóis é governada pelo tipo de solvente (polaridade), grau de polimerização e interação dos compostos fenólicos com outros constituintes do alimento, o que pode levar a formação de complexos insolúveis. Desta maneira, não existe um procedimento capaz de extrair todos os (poli) fenóis presentes em um material vegetal (NACZK; SHAHIDI, 2004, 2006).

As diferentes técnicas utilizadas na extração de compostos fenólicos podem ser classificadas em métodos convencionais (clássicos) e não-

convencionais (modernos) (WIJNGAARD et al., 2012). As técnicas convencionais (ex.: Soxhlet, maceração, hidrodestilação) apresentam algumas limitações, como o uso de uma grande quantidade de solventes, longo tempo de extração e degradação de compostos termolábeis. Desta maneira, os métodos não-convencionais (ex.: ultrassom, micro-ondas e extração supercrítica) têm sido desenvolvidos nos últimos anos com a finalidade de obter procedimentos mais seguros e de menor impacto ambiental. No entanto, os métodos clássicos ainda são extensivamente utilizados devido à simplicidade e baixo custo de operação (AZMIR et al., 2013; IGNAT; VOLF; POPA, 2011; KHODDAMI; WILKES; ROBERTS, 2013; WANG; WELLER, 2006).

Em termos gerais, a eficiência da extração de (poli) fenóis pode ser afetada por diversos parâmetros do processo. Muitos autores reportaram que as variáveis temperatura, tipo de solvente, agitação, tempo de contato, relação sólido-solvente (R-SS), tamanho da partícula e pH do sistema podem influenciar de maneira significativa o rendimento de extração do composto alvo (TAKEUCHI et al., 2009). As características químicas do composto alvo também devem ser levadas em consideração na escolha da técnica e dos parâmetros de extração (KHODDAMI; WILKES; ROBERTS, 2013).

O efeito positivo ou negativo de cada parâmetro no fenômeno de transferência de massa é específico para cada material de partida (matriz vegetal), devido às diferenças nas propriedades físico-químicas e morfológicas dos vegetais. Sendo assim, um protocolo universal de extração não é aceitável e um processo de extração deve ser desenvolvido e otimizado para cada fonte de compostos fenólicos (GALANAKIS; TORNBERG; GEKAS, 2010). Com base nesses conhecimentos, diversos pesquisadores tem voltado sua atenção em estudar o efeito dos parâmetros de extração na obtenção de extratos ricos em compostos fenólicos a partir de matrizes vegetais (TAKEUCHI et al., 2009).

O efeito do tamanho de partícula, relação sólido-solvente (R-SS) e temperatura foram avaliados sobre a extração etanólica de compostos antioxidantes (ácido carnósico, ursólico e oleanólico) a partir da erva-cidreira

(*Melissa officinalis* L.). As melhores condições de operação foram diâmetro das partículas de 0,20-0,25 mm, temperatura de 20°C e R-SS de 1:4 (v/p; etanol/erva-cidreira). O estudo demonstrou que o etanol foi um solvente eficiente na extração de compostos antioxidantes, principalmente do ácido fenólico carnósico (HERODEŽ et al., 2003). Uma solução hidroalcoólica (v/v; etanol:água) com diferentes proporções de água (10-60%) foi utilizada para extrair compostos fenólicos totais do bagaço de uva. A adição de água melhorou a taxa de extração, no entanto, proporções acima de 50% provocaram uma diminuição no conteúdo de fenóis totais e o aumento da extração de outros compostos interferentes (SPIGNO; TRAMELLI; DE FAVERI, 2007). Em um estudo de extração de (poli)fenóis a partir das folhas do mamoeiro (*Carica papaya*) foi verificado que a variação de temperatura, tempo, relação sólido-solvente e solvente influenciaram no rendimento e concentração de compostos fenólicos. A água foi o solvente mais eficiente, quando comparada aos solventes acetona, metanol e etanol, e as melhores condições de extração foram: R-SS de 7,5 g/100 mL, 70°C por 20 min em banho de agitação (VUONG et al., 2013).

Como pode ser observado, a viabilidade econômica de um processo de extração envolve a busca por uma combinação de condições que maximize a eficiência da operação e reduza os custos. O método clássico de otimização consiste em variar um parâmetro (temperatura, R-SS, agitação, solvente, etc.) por vez (*one-at-a-time*), mantendo as demais variáveis constantes. Esta estratégia é simples e os efeitos individuais podem ser obtidos. No entanto, requer um grande número de experimentos e, conseqüentemente, promove o aumento do tempo e custo final. Enquanto isso, a metodologia do planejamento fatorial, associada à Análise de Superfície de Resposta, fornece informações seguras sobre o processo e permite avaliar o efeito de interações entre os parâmetros estudados. Além disso, é possível verificar efeitos sinérgicos e antagônicos e otimizar mais de uma resposta ao mesmo tempo, o que reduz o número de experimentos (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

Na literatura há uma grande quantidade de estudos que utilizaram a metodologia de superfície de resposta para otimizar a extração de compostos fenólicos a partir de matrizes vegetais, por exemplo, maçã (ALBERTI et al., 2014), trigo (LIYANAPATHIRANA; SHAHIDI, 2005), casca de manga (PRASAD et al., 2011), folhas de *Inga edulis* (SILVA; ROGEZ; LARONDELLE, 2007) e casca de romã (AMYRGIALAKI et al., 2014), dentre outros. Desta maneira, um método de extração deve ser desenvolvido e otimizado para cada matriz analisada.

Por fim, a extração de compostos fenólicos a partir de frutas e seus subprodutos tem merecido destaque no setor acadêmico e industrial. Com os avanços na tecnologia de equipamentos e o uso de métodos estatísticos pode ser possível maximizar o processo de extração. O desenvolvimento e/ou adaptação de métodos de extração modernos e sustentáveis representa um importante fator na obtenção de compostos bioativos (CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012; COMIM et al., 2010).

A extração e/ou quantificação e caracterização dos compostos fenólicos a partir da casca de banana foi reportada por alguns autores (SOMEYA; YOSHIKI; OKUDO, 2002; GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010a, GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b; FALLER; FIALHO, 2010; SULAIMAN et al., 2011; BABBAR et al., 2011; REBELLO et al., 2014; TSAMO et al., 2015) e resultados promissores foram encontrados. Nestes trabalhos, as extrações foram realizadas principalmente com solventes orgânicos. No entanto, o uso de solventes orgânicos na produção de alimentos é estritamente regulamentado, por exemplo, o caso do metanol, que embora seja o solvente mais utilizado, não é considerado como seguro para aplicação em alimentos (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b). Por outro lado, o etanol é classificado pela FDA (*American Food and Drug Administration*) com o status de *Generally recognized as safe* - GRAS para aplicação em alimentos (NACZK; SHAHIDI, 2006; CHEMAT, VIAN; CRAVOTTO, 2012), e ainda é capaz de solubilizar compostos fenólicos livres (REBELLO et al., 2014).

Neste enfoque, este trabalho visou o estudo da extração de compostos fenólicos a partir de um resíduo agroindustrial, a casca de banana, a fim de obter um extrato etanólico rico em compostos fenólicos antioxidantes e ao mesmo tempo seguro para aplicação em alimentos, bem como quantificar os fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante (DPPH, TEAC e $ORAC_{FL}$) dos extratos da casca e polpa de banana cv. Prata madura. Desta maneira, obter compostos fenólicos antioxidantes a partir de uma matriz de baixo custo, utilizando um procedimento de extração simples e eficiente. Além disso, o estudo de compostos antioxidantes em frutas tropicais e seus subprodutos fornecem informações importantes acerca das possíveis propriedades funcionais dessas matrizes, além de fornecer suporte científico para o desenvolvimento de produtos alimentícios.

4. Referências

- AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FPN Consultoria & Comércio, 2012. p.177-188.
- AKAMINE, K.; KOYAMA, T.; YAZAWA, K. Banana peel extract suppressed prostate gland enlargement in testosterone-treated mice. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 73, n. 9, p. 1911–1914, 2009.
- ALBERTI, A. et al. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151–158, 2014.
- ALENCAR, E. R. DE et al. Postharvest quality of ozonized “nanicão” cv. bananas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 44, n. 1, p. 107–114, 2013.
- ALKARKHI, A. F. M. et al. Comparing physicochemical properties of banana pulp and peel flours prepared from green and ripe fruits. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 312–318, 2011.
- ALVES, E. J. (Org.). **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: Embrapa-SPI, 1997. 585p
- AMYRGIALAKI, E. et al. Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 216–222, 2014.
- ANAL, A. K.; JAISANTI, S.; NOOMHORM, A. Enhanced yield of phenolic extracts from banana peels (*Musa acuminata* Colla AAA) and cinnamon barks (*Cinnamomum varum*) and their antioxidative potentials in fish oil. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2632–2639, 2014.
- ANDRÉS-LACUEVA, C. et al. Chapter 2: Phenolic Compounds: Chemistry and Occurrence in Fruits and Vegetables. In: DE LA ROSA, L.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. (Ed.). **Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry, Nutritional Value, and Stability**. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing, 2010. p. 53-88.
- ANHWANGE, B.A. Chemical composition of *Musa sapientum* (Banana) peels. **Journal of Food Technology**, v. 6, n. 6, p. 263-266, 2008.

ANYASI, T. A.; JIDEANI, A. I. O.; MCHAU, G. R. A. Functional properties and postharvest utilization of commercial and noncommercial banana cultivars. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 5, p. 509–522, 2013.

APAK, R. et al. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. **Molecules**, v. 12, n. 7, p. 1496–1547, 2007.

AQUINO, C. F. et al. Teores de minerais em polpas e cascas de frutos de cultivares de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 7, p. 546–553, 2014.

ARORA, A.; SHARMA, M. P. Use of banana in non-ulcer dyspepsia. **The Lancet**, v. 335, n. 8689, p. 612–613, 1990.

AUORE, G.; PARFAIT, B.; FAHRASMANE, L. Bananas, raw materials for making processed food products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 2, p. 78–91, 2009.

AYALA-ZAVALA, J. F. et al. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1866–1874, 2011.

AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.

BARMAN, S. et al. Pectinase production by *Aspergillus niger* using banana (*Musa balbisiana*) peel as substrate and its effect on clarification of banana juice. **Journal of Food Science and Technology**. 2014.

BELLO-PEREZ, L.A. et al. Chapter 8: Banana. In: SIDDIQ, M. (Ed.). **Tropical and Subtropical Fruits: Postharvest Physiology, Processing and Packaging**. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2012. p. 135-157.

BISWAS, A. K. et al. Influence of novel bioactive compounds from selected fruit by-products and plant materials on the quality and storability of microwave-assisted cooked poultry meat wafer during ambient temperature storage. **LWT - Food Science and Technology**, 2014.

BOHN, T. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. **Nutrition Reviews**, v. 72, n. 7, p. 429–452, 2014.

BORGES, A.L. et al. **Sistema orgânico de produção para a cultura da banana**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 16 ago. 2014.

BORGES, A.L.; SOUZA, L.S. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279 p.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317–333, 1998.

CASTRO, R. S. D. et al. banana peel applied to the solid phase extraction of copper and lead from river water: Preconcentration of metal ions with a fruit waste. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 50, n. 6, p. 3446–3451, 2011.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products: concept and principles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 7, p. 8615–8627, 2012.

CHEN, X.-D. et al. Efficient production of glutathione using hydrolyzate of banana peel as novel substrate. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 7, p. 1566–1572, 2011.

CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 223–229, 2005.

CHOOKLIN, C. S.; MANEERAT, S.; SAIMMAI, A. Utilization of banana peel as a novel substrate for biosurfactant production by *Halobacteriaceae archaeon* AS65. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 173, n. 2, p. 624–45, 2014.

CLARKE, W. P. et al. Digestion of waste bananas to generate energy in Australia. **Waste Management**, v. 28, n. 3, p. 527–33, 2008.

COMIM, S. R. R. et al. Supercritical fluid extraction from dried banana peel (*Musa* spp., genomic group AAB): Extraction yield, mathematical modeling, economical analysis and phase equilibria. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 54, n. 1, p. 30–37, 2010.

DANIELLS, J.W. Bananas and Plantains. In: TRUGO, L.; FINGLAS, P.M. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. UK: Elsevier Science, 2003. p. 372-378.

DER AGOPIAN, R. G. et al. Identification of fructooligosaccharides in different banana cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 9, p. 3305–3310, 2008.

DER AGOPIAN, R. G. et al. Synthesis of fructooligosaccharides in banana “prata” and its relation to invertase activity and sucrose accumulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 22, p. 10765–10771, 2009.

DER AGOPIAN, R. G. et al. Low temperature induced changes in activity and protein levels of the enzymes associated to conversion of starch to sucrose in banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, n. 2, p. 133–140, 2011.

DEVATKAL, S. K.; KUMBOJ, R.; PAUL, D. Comparative antioxidant effect of *BHT* and water extracts of banana and sapodilla peels in raw poultry meat. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 2, p. 387–391, 2014.

DO ESPÍRITO SANTO, A. P. et al. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, n. 3, p. 135–144, 2012.

DONATO, S. L. R. et al. Comportamento de variedades e híbridos de bananeira (*Musa* spp.), em dois ciclos de produção no sudoeste da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 139–144, 2006.

EMAGA, T. H. et al. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 590–600, 2007.

EMAGA, T. H. et al. Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa* AAA) under different conditions using an experimental design. **Food Chemistry**, v. 108, n. 2, p. 463–471, 2008a.

EMAGA, T. H. et al. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4346–4354, 2008b.

EMAGA, T. H. et al. Ripening influences banana and plantain peels composition and energy content. **Tropical Animal Health and Production**, v. 43, n. 1, p. 171–177, 2011.

ESSIEN, J. P.; AKPAN, E. J.; ESSIEN, E. P. Studies on mould growth and biomass production using waste banana peel. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 13, p. 1451–1456, 2005.

FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 6, p. 561–568, 2010.

FAOSTAT. **Produção Mundial de Banana**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 22 Fev. 2014.

FEHLAUER, T. J. et al. Caracterização da produção de genótipos de banana introduzidos na região de Bonito - MS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 938–943, 2010.

FOLEGATTI, M.I.S; MATSUURA, F.C.A.U. **Banana: processamento**. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2004. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/Livro_Banana_Cap_13ID-PA3643xufd.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2014.

GALANAKIS, C. M. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 26, n. 2, p. 68–87, 2012.

GALANAKIS, C. M. Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: A viewpoint of opportunities and challenges. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 4, p. 575–579, 2013.

GALANAKIS, C. M.; TORNBERG, E.; GEKAS, V. Recovery and preservation of phenols from olive waste in ethanolic extracts. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 85, n. 8, p. 1148–1155, 2010.

GANHÃO, R.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. **Meat science**, v. 85, n. 3, p. 402–409, 2010.

GARCÉS, L. et al. An alternative, banana peel-based medium used to investigate the catalytic properties of peroxidase from a fungus, *Inonotus* sp SP2, recently isolated in southern Chile. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 17, n. 5, p. 972–980, 2012.

GHARRAS, H. EL. Polyphenols: food sources, properties and applications - a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 2512–2518, 2009.

GONDIM, J. A. M. et al. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 825–827, 2005.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1030–1039, 2010.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Phenolic compounds in fruits - an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 10, p. 2023–2044, 2012.

HAN, J. et al. Polyphenolic compounds as functional ingredients in cheese. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1589–1594, 2011.

HERODEŽ, Š. S. et al. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves. **Food Chemistry**, v. 80, n. 2, p. 275–282, 2003.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.com.br>>. Acesso em: 23 Fev. 2014.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 2011.

IBRAF. **Estatísticas**. Disponível em: < <http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em: 18 Fev. 2014.

KANAZAWA, K.; SAKAKIBARA, H. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 844–848, 2000.

KARTHIKEYAN, A.; SIVAKUMAR, N. Citric acid production by *Koji* fermentation using banana peel as a novel substrate. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5552–5556, 2010.

KHODDAMI, A.; WILKES, M. A; ROBERTS, T. H. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. **Molecules**, v. 18, n. 2, p. 2328–2375, 2013.

KUMAR, K.P.S.; BHOWMIK, D.; DURAIVEL, S.; UMADEVI, M. Traditional and medicinal uses of banana. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v.1, n.3, p.51-63. 2012.

LAKO, J. et al. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of *Fijian* fruit, vegetables and other readily available foods. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1727–1741, 2007.

LANDETE, J. M. Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 10, p. 936–948, 2012.

LATTANZIO, V.; KROON, P.A.; QUIDEAU, S.; TREUTTER, D. Chapter 1: Plant Phenolics – Secondary Metabolites with Diverse Functions. In: DAAYF, F.; LATTANZIO, V. (Ed.). **Recent Advances in Polyphenol Research**. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing, 2008. p. 1-35.

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

LÉDO, A. DA S. et al. Avaliação de genótipos de bananeira na região do baixo São Francisco, Sergipe. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 691–695, 2008.

LEE, E.-H. et al. Development of banana peel jelly and its antioxidant and textural properties. **Food Science and Biotechnology**, v. 19, n. 2, p. 449–455, 2010.

LICHTEMBERG, L. A.; LICHTEMBERG, P. S. F. Avanços na bananicultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. spe1, p. 29–36, 2011.

LICHTEMBERG, L. A.; MALBURG, J. L.; HINZ, R. H. Suscetibilidade varietal de frutos de bananeira ao frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 568–572, 2001.

LICHTEMBERG, L. A.; PEREIRA, M.C.N. Colheita e pós-colheita. In: GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R. (Ed.). **A cultura da bananeira na região Norte do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. p. 289-310.

LICHTEMBERG, L.A.; VILAS BOAS, E.V.B.; DIAS, M.S.C. Colheita e pós-colheita da banana. In: RODRIGUES, M.G.V.; DIAS, M.S.C.; PACHECO, D.D. **Bananicultura irrigada: inovações tecnológicas**. Belo Horizonte: Revista Informe Agropecuário, 2008. p. 92-110.

LIM, Y. Y.; LIM, T. T.; TEE, J. J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 1003–1008, 2007.

LIYANAPATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 47–56, 2005.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Study of antioxidant activity of non-conventional Brazilian fruits. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 6, p. 1167–1172, 2014.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727–747, 2004.

MATSUURA, F. C. A. U.; COSTA, J. I. P. DA; FOLEGATTI, M. I. S. Marketing de banana: preferências do consumidor quanto aos atributos de qualidade dos frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 48–52, 2004.

MEMON, J. R. et al. Characterization of banana peel by scanning electron microscopy and FT-IR spectroscopy and its use for cadmium removal. **Colloids and Surfaces. B: Biointerfaces**, v. 66, n. 2, p. 260–265, 2008.

MENDONÇA, K. H. et al. Avaliação de genótipos de bananeira em Goiânia, estado de Goiás. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 44, n. 3, p. 652–660, 2013.

MIRABELLA, N.; CASTELLANI, V.; SALA, S. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 65, p. 28–41, 2014.

MOHAPATRA, D. et al. Post-harvest processing of banana: opportunities and challenges. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 3, p. 327–339, 2010.

MORTON, J. Banana. In: MORTON, J. **Fruits of warm climates**. Miami: FL, 1987. p. 29–46.

MOTA, R. V. D. Avaliação da qualidade de banana passa elaborada a partir de seis cultivares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 560–563, 2005.

MOTA, R. V. D.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Composição em carboidratos de alguns cultivares de banana (*Musa spp.*) durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 2, p. 94–97, 1997.

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

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 5, p. 1523–1542, 28 2006.

NASCIMENTO JUNIOR, B. B. et al. Diferenças entre bananas de cultivares Prata e Nanicao ao longo do amadurecimento: características físico-químicas e compostos voláteis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 649–658, 2008.

NEVEU, V. et al. Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. **Database : The Journal of Biological Databases and Curation**, v. 2010, p. 1-9, 2010.

OBEROI, H. S. et al. Ethanol production from banana peels using statistically optimized simultaneous saccharification and fermentation process. **Waste Management**, v. 31, n. 7, p. 1576–1584, 2011.

OBEROI, H. S.; SANDHU, S. K.; VADLANI, P. V. Statistical optimization of hydrolysis process for banana peels using cellulolytic and pectinolytic enzymes. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 2, p. 257–265, 2012.

PADAM, B. S. et al. Banana by-products: an under-utilized renewable food biomass with great potential. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 12, p. 3527-3545, 2012.

PEREIRA, A.; MARASCHIN, M. Banana (*Musa spp*) from peel to pulp: Ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for Human health. **Journal of Ethnopharmacology**, v.160, n. 3, p. 149-163, 2014.

PEREIRA, V. M. et al. Genetic diversity between improved banana diploids using canonical variables and the Ward-MLM method. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 10, p. 1480–1488, 2012.

PERRON, N. R.; BRUMAGHIM, J. L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 53, n. 2, p. 75–100, 2009.

PO, L.G. Chapter 36 – Major Tropical Fruits and Products: Banana, Mango, and Pineapple. In: HUI, Y.H. (Ed.). **Handbook of Food Products Manufacturing**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2007. p. 815-845.

PRASAD, K. N. et al. Response surface optimisation for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of underutilised *Mangifera pajang* Kosterm. peels. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 1121–1127, 2011.

QIU, L. et al. Investigation of combined effects of independent variables on extraction of pectin from banana peel using response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 2, p. 326–331, 2010.

REBELLO, L. P. G. et al. Flour of banana (*Musa AAA*) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. **Food Research International**, v. 55, p. 397–403, 2014.

ROBINSON, J.C.; SAÚCO, V.G. **Bananas and Plantains**. 2. ed. Wallingford: CAB International, 2010. 299 p.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A F . **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos: Uma Estratégia Sequencial de Planejamentos**. 1ª ed. Campinas: Casa do Pão –Editora, 2005. 326 p.

RODRIGUEZ-MATEOS, A. et al. Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. **Archives of Toxicology**, v. 88, n. 10, p. 1803–1853, 2014.

RUSSELL, W. R. et al. Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 100–104, 2009.

SAE-TEAW, M. et al. Serum melatonin levels and antioxidant capacities after consumption of pineapple, orange, or banana by healthy male volunteers. **Journal of Pineal Research**, v. 55, n. 1, p. 58–64, 2013.

SCHAUSS, A. G. Chapter 28 – Polyphenols and Inflammation. *In*: WATSON, R.R.; PREEDY, V.R. (Ed.). **Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases**. San Diego: Academic Press, 2013. p. 379-392.

SELMA, M. V; ESPÍN, J. C.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 15, p. 6485–6501, 2009.

SEYIS, I.; AKSOZ, N. Xylanase production from *Trichoderma harzianum* 1073 D3 with alternative carbon and nitrogen sources. **Food Technology and Biotechnology**, v. 43, n. 1, p. 37-40, 2005.

SILVA, E.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v. 55, n. 3, p. 381–387, 2007.

SILVA, S. DE O. E et al. Avaliação de clones de banana Cavendish. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, p. 832–837, 2006.

SIMMONDS, N. W.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **Journal of the Linnean Society of London, Botany**, v. 55, n. 359, p. 302–312, 1955.

SOMEYA, S.; YOSHIKI, Y.; OKUBO, K. Antioxidant compounds from bananas (*Musa Cavendish*). **Food Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 351–354, 2002.

SOTO, M. Situación y avances tecnologicos en la producción bananera mundial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. spe1, p. 13–28, 2011.

SOUZA, C. M. P. DE et al. Avaliação da dissimilaridade genética em genótipos de bananeira (*Musa* spp.) via marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 419–424, 2008.

SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; DE FAVERI, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 1, p. 200–208, 2007.

STOVER, R.H.; SIMMONDS, N.W. **Bananas**. 3^a. ed. London: Longman, 1987. p. 97–103.

SUBAGIO, A.; MORITA, N. Changes in carotenoids and their fatty acid esters in banana peel during ripening. **Food Science and Technology International, Tokyo**, v. 3, n. 3, p. 264–268, 1997.

SULAIMAN, S. F. et al. Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 1, p. 1–10, 2011.

SUN, J. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 25, p. 7449–7454, 2002.

TAKEUCHI, T.M.; PEREIRA, C.G.; BRAGA, M.E.M.; MARÓSTICA JR, M.R.; LEAL, P.F.; MEIRELES, A.A. Low-pressure Solvent Extraction (Solid-liquid extraction, Microwave Assisted, and Ultrasound Assisted) from Condimentary Plants. In: MEIRELES, A.A. (Ed). **Extraction Bioactive Compounds for Food Products: Theory and Applications**. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2009. p. 137–218.

TEE, T. P.; HASSAN, H. Antidepressant-like activity of banana peel extract in mice. **American Medical Journal**, v. 2, n. 2, p. 59–64, 2011.

TSAMO, C. V. P. et al. Phenolic profiling in the pulp and peel of nine plantain cultivars (*Musa* sp.). **Food chemistry**, v. 167, p. 197–204, 2015.

VALMAYOR, R.V.; JAMALUDDIN, S.H.; SILAYOI, S.K.; DANH, L.D.; PASCUA, O.C.; ESPINO, R.R.C. **Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia**. Los Baños: INIBAP, 2000. 48 p.

VERMEIR, S. et al. Instrumental based flavour characterisation of banana fruit. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 10, p. 1647–1653, 2009.

VIJAYAKUMAR, S.; PRESANNAKUMAR, G.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Antioxidant activity of banana flavonoids. **Fitoterapia**, v. 79, n. 4, p. 279–82, 2008.

VILELA, C. et al. Lipophilic phytochemicals from banana fruits of several *Musa* species. **Food chemistry**, v. 162, p. 247–52, 2014.

VIVEKANAND, V. et al. Banana peel: a potential substrate for laccase production by *Aspergillus fumigatus* VkJ2.4.5 in solid-state fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 165, n. 1, p. 204–220, 2011.

VUONG, Q. V. et al. Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. **Journal of Herbal Medicine**, v. 3, n. 3, p. 104–111, 2013.

WALL, M. M. Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 5, p. 434–445, 2006.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 6, p. 300–312, 2006.

WEICHSELBAUM, E.; BUTTRISS, J. L. Polyphenols in the diet. **Nutrition Bulletin**, v. 35, n. 2, p. 157–164, 2010.

WIJNGAARD, H. et al. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 505–513, 2012.

WILAIPON, P. The effects of briquetting pressure on banana-peel briquette and the banana waste in northern thailand. **American Journal of Applied Sciences**, v. 6, n. 1, p. 167–171, 2009.

YABAYA, A.; ADO, S. A. Mycelial protein production by *aspergillus niger* using banana peels. **Science World Journal**, v.3, n.4, p.9-12, 2008.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO E DE ENZIMAS FENOLOXIDASES NA RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS A PARTIR DA CASCA DE BANANA (*MUSA* sp.)

Artigo a ser submetido ao periódico *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Gustavo Araujo Pereira^{1*}, Gustavo Molina², Henrique Silvano Arruda¹ e Glauca Maria Pastore¹

¹ Laboratório de Bioaromas e Compostos Bioativos, Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

gapereira.email@gmail.com.

² Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFJM.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO E DE ENZIMAS FENOLOXIDASES NA RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS A PARTIR DA CASCA DE BANANA (*MUSA* sp.)

Resumo: Diversos compostos funcionais têm sido obtidos a partir de subprodutos/resíduos da agroindústria, como os compostos fenólicos. O crescente interesse nessas substâncias está relacionado às suas propriedades antioxidantes e à associação entre o seu consumo regular e à prevenção de diversas doenças. No entanto, existem muitos fatores que podem influenciar na extração de fenóis a partir de subprodutos, por exemplo, os parâmetros de extração temperatura, agitação, relação sólido-líquido (R-SS) e solvente ([E:A]) e a atividade de enzimas fenoloxidasas. Desta maneira, o presente trabalho teve por objetivo estudar a influência dos parâmetros de extração sólido-líquido e de enzimas fenoloxidasas na obtenção de um extrato etanólico rico em compostos fenólicos a partir do pó da casca de banana liofilizada (CBL), bem como obter as condições ótimas de extração. As variáveis [E:A] e temperatura foram as que apresentaram maior efeito estatisticamente significativo sobre o processo de extração. Neste sentido, altas temperaturas associadas a uma elevada [E:A] promoveram a degradação dos fenóis durante os 60 min de extração. A casca de banana apresentou elevada atividade da enzima peroxidase, o que provocou a oxidação dos compostos fenólicos e a redução da capacidade antioxidante do extrato (TAC). De acordo com a superfície de resposta, as melhores condições para a extração de compostos fenólicos a partir da CBL foram: R-SS de 2,5 g/100 mL (1:40), [E:A] de 54% etanol e homogeneização em Ultra Turrax durante 30s a 11.000 rpm. O conteúdo de FT obtido com esse sistema de extração foi de 2,44 g EAG/100 g CBL. Finalmente, extratos etanólicos ricos em compostos fenólicos podem ser obtidos a partir da casca de banana. O procedimento de extração desenvolvido e otimizado foi capaz de extrair de maneira eficiente e rápida os FT na CBL, com apenas 1 min de extração e utilizando um solvente seguro.

Palavras-chave: flavonoides, otimização, peroxidase, resíduos, subprodutos.

1. Introdução

A banana (*Musa* sp.) é uma fruta tropical cultivada e consumida em diversas regiões do mundo. Atualmente, o Brasil é o quinto maior produtor mundial de bananas e produziu em torno de 7,1 milhões de toneladas no ano de 2013 (FAOSTAT, 2014). Durante o processamento da banana para a produção de doces e néctar, ocorre o descarte de uma grande quantidade de casca de banana. Esse subproduto representa de 30 - 40% do peso total da fruta e seu descarte inadequado provoca grande impacto ambiental (EMAGA et al., 2007; GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b).

Diversos estudos têm revelado que a casca de banana apresenta nutrientes e compostos funcionais importantes para a indústria de alimentos e para a saúde do ser humano. Este subproduto é rico em fibras dietéticas, proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados e potássio (EMAGA et al., 2007). Além disso, contém compostos antioxidantes, tais como carotenoides (SUBAGIO; MORITA, 1997), antocianinas (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010a), catecolaminas (KANAZAWA; SAKAKIBARA, 2000) e compostos fenólicos (REBELLO et al., 2014).

Muitos autores apresentam diferentes formas de aplicações práticas desse subproduto, por exemplo, para a produção de etanol (OBEROI et al., 2011), ácido cítrico (KARTHIKEYAN; SIVAKUMAR, 2010) e biomassa (ESSIEN; AKPAN; ESSIEN, 2005), para alimentação animal (EMAGA et al., 2011) e como adsorvente na purificação de água (CASTRO et al., 2011), entre outros (PADAM et al., 2012). As pesquisas abordando os compostos presentes e as possíveis formas de reaproveitamento da casca de banana aumentaram nos últimos anos, o que demonstra o crescente interesse dos pesquisadores acerca desse subproduto (PADAM et al., 2012).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários amplamente encontrados em frutas e frequentemente representados por dois grandes grupos de substâncias, os flavonoides e os não-flavonoides. Esses compostos podem ser encontrados na natureza na forma de moléculas simples até polímeros de elevada

massa molecular. O crescente interesse nessas substâncias está relacionado às suas propriedades antioxidantes e na associação entre seu consumo regular e à prevenção de diversas doenças (HAMINIUK et al., 2012).

Os compostos fenólicos com atividade antioxidante têm sido encontrados em diversos subprodutos agroindustriais e, geralmente, a casca das frutas tem apresentado conteúdo maior de fenóis do que a parte comestível (SOMEYA, YOSHIKI; OKUDO, 2002; BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). A extração e/ou quantificação e caracterização dos compostos fenólicos a partir da casca de banana foi reportada por alguns autores (SOMEYA; YOSHIKI; OKUDO, 2002; GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010a, GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b; FALLER; FIALHO, 2010; SULAIMAN et al., 2011; BABBAR et al., 2011; REBELLO et al., 2014; TSAMO et al., 2015) e resultados promissores foram encontrados. Nestes trabalhos, as extrações foram realizadas principalmente com solventes orgânicos. No entanto, o uso de solventes orgânicos na produção de alimentos é estritamente regulamentado, por exemplo, o metanol, embora seja o solvente mais utilizado, não é considerado como seguro para aplicação em alimentos (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b).

Analisando os dados da literatura, nosso grupo de pesquisa visualizou a necessidade de estudar e otimizar um método de extração sólido-líquido, com o uso de solvente seguro, para obter um extrato rico em compostos fenólicos a partir da casca de banana. O etanol foi o solvente escolhido devido suas propriedades como solvente verde e por ser classificado pela FDA (*American Food and Drug Administration*) com o status de *Generally recognized as safe* – GRAS para aplicação em alimentos (NACZK; SHAHIDI, 2006; CHEMAT, VIAN; CRAVOTTO, 2012), e ainda por ser capaz de solubilizar os compostos de interesse, os compostos fenólicos solúveis (REBELLO et al., 2014).

Certas complicações surgem quando se trabalha com a extração de compostos bioativos a partir de subprodutos, devido à sua elevada atividade enzimática (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010a). Desta

maneira, também foi avaliado neste trabalho a influência de enzimas fenoloxidasas na extração de compostos fenólicos a partir da casca de banana.

Em termos gerais, a eficiência de extração de um composto, a partir de matrizes vegetais, está relacionado à diversos parâmetros do processo. O efeito positivo ou negativo de cada variável no fenômeno de transferência de massa é específico para cada material de partida, devido às diferenças nas propriedades físico-químicas e morfológicas dos vegetais. Um protocolo universal de extração não é aceitável, sendo assim, um processo específico deve ser desenvolvido e otimizado para cada fonte de compostos fenólicos (TAKEUCHI et al., 2009; GALANAKIS; TORNBERG; GEKAS, 2010).

A viabilidade econômica de um processo de extração envolve a busca por uma combinação de condições que maximize a eficiência da operação e reduza os custos. O método clássico de otimização consiste em variar um parâmetro por vez (*one-at-a-time*), mantendo as demais variáveis constantes. Esta estratégia é simples e os efeitos individuais podem ser obtidos. No entanto, requer um grande número de experimentos e, conseqüentemente, promove o aumento do tempo e custo final. A metodologia do planejamento fatorial, associada à análise de superfície de resposta, fornece informações seguras sobre o processo e permite avaliar o efeito de interações entre os parâmetros estudados. Além disso, é possível verificar efeitos sinérgicos e antagônicos e otimizar mais de uma resposta ao mesmo tempo, o que reduz o número de experimentos (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

Neste enfoque, o presente trabalho teve por objetivo estudar a influência dos parâmetros de extração sólido-líquido (TE , AG , $[E:A]$ e $R-SS$) e de enzimas fenoloxidasas na obtenção de um extrato etanólico rico em compostos fenólicos a partir do pó da casca de banana liofilizada cv. Prata, além de obter as condições ótimas de extração com o uso da metodologia do planejamento fatorial associada à análise de superfície de resposta. Desta maneira, obter compostos fenólicos antioxidantes a partir de uma matriz de baixo custo, utilizando um método de extração simples e eficiente.

2. Material e Métodos

2.1. Reagentes químicos

Ácido gálico (pureza >99%), *2,2-Diphenil-1-picrylhydrazyl* (DPPH) e *(±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid* (Trolox) foram fornecidos pela *Sigma-Aldrich* (São Paulo, Brasil). Água ultrapura (18 MΩ/cm) foi utilizada (*Millipore, model CT Q3UV, USA*). Todos os outros reagentes químicos ou solventes foram de excelente grau analítico. Todos os produtos foram armazenados nas condições ideais segundo instruções dos fabricantes.

2.2. Matéria-prima (*Musa spp.*, Grupo AAB, Subgrupo Prata, cv. Prata)

As pencas de bananas verdes, variedade Prata, foram obtidas no CEASA (Centro de Abastecimento - Campinas, SP) antes do tratamento de amadurecimento com o gás etileno. As bananas foram lavadas e desinfetadas com uma solução de cloro (50 mg/L) por 15 min. O estágio de amadurecimento dos frutos foi controlado no Laboratório de Bioaromas e Compostos Bioativos, Universidade Estadual de Campinas (São Paulo, Brasil) a temperatura ambiente (25 - 30°C) até que o estágio 6 na escala de cor de *Von Loesecke* fosse alcançado (GOMES; VIEIRA; LETA, 2013).

O estágio de amadurecimento dos frutos foi caracterizado pela coloração da casca e polpa (*Konica Minolta Spectrophotometer, model CM -5, Japan*) e pelos parâmetros físico-químicos de sólidos solúveis totais (ST), pH e acidez titulável total (ATT) (GOMES; VIEIRA; LETA, 2013). A luminosidade (L*) e as coordenadas de cromaticidade a* e b* para a casca de banana foram de 64,6 ± 3,0; 7,7 ± 2,0 e 51,3 ± 5,0, respectivamente. A cor da polpa da banana foi caracterizada por uma luminosidade de 74,6 ± 1,0, a* de 3,2 ± 0,4 e b* de 27,1 ± 1,1. ST, pH e ATT da polpa foram de 22,4 ± 0,6 °Brix; 4,7 ± 0,2 e 660,4 ± 8,0 mg de ácido málico/100 g, respectivamente.

Quando as bananas atingiram o grau de maturação desejado (Figura 1), a casca foi manualmente separada (relação casca:polpa, p/p, $38,0 \pm 5,44\%$), congelada rapidamente com auxílio de gelo seco e liofilizada a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 250 Pa (*Terroni, model LS 3000, Brazil*), com a finalidade de diminuir a atividade de enzimas durante o armazenamento. O teor de umidade encontrado para a casca foi de $85,7 \pm 1,64\%$. Então, a casca de banana liofilizada foi moída em moinho de facas (*Marconi, model MA340, Brazil*) até a obtenção de um pó fino, em seguida as partículas foram caracterizadas por classificação de tamanho em uma peneiradora vertical vibratória (*Bertel, model electromagnetic, Brazil*) a fim de verificar o tamanho médio das partículas obtidas. Partículas com tamanhos de $+16$ a -80 mesh foram selecionadas ($3,4\% > 1\text{ mm}$; $17,6\%$ entre $720\text{ }\mu$ e 1 mm ; $41,5\%$ entre $300\text{ }\mu$ e $720\text{ }\mu$; $20,5\%$ entre $180\text{ }\mu$ e $300\text{ }\mu$ e $17\% < 180\text{ }\mu$). O pó da casca de banana liofilizada (CBL) ($\rho = 0,18\text{ g/cm}^3$) foi acondicionado em recipiente plástico e armazenado a -80°C (*Sanyo Electric Co., model MDF-C8V1, Japan*) até a realização das extrações.



Figura 1: Preparação de amostra. A) Banana madura; B) casca da banana congelada e C) pó da casca de banana liofilizada (CBL).

2.3. Procedimento de extração

O método de extração convencional sólido-líquido foi utilizado para a obtenção de um extrato rico em compostos fenólicos a partir da CBL. O solvente escolhido foi o etanol, devido a sua classificação como “solvente verde”

(CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012). Um diagrama de fluxo resumido do processo de extração está representado na Figura 2.

Resumidamente, a CBL ($5,0 \pm 2,5$ g) foi misturada com 100 mL de uma solução hidroalcoólica (etanol:água v/v, $50 \pm 30\%$ etanol) por 30s em Ultra Turrax (11.000 rpm). Em seguida o homogenato foi levado em um banho de agitação (*New Brunswick Scientific Classic Series, model C76, USA*) por 60 min em diferentes condições de agitação (200 ± 100 rpm) e temperatura ($55 \pm 20^\circ\text{C}$). As extrações foram conduzidas em frasco Erlenmeyer adaptado para evitar o efeito vórtice, obtendo uma melhor mistura do sistema durante a extração.

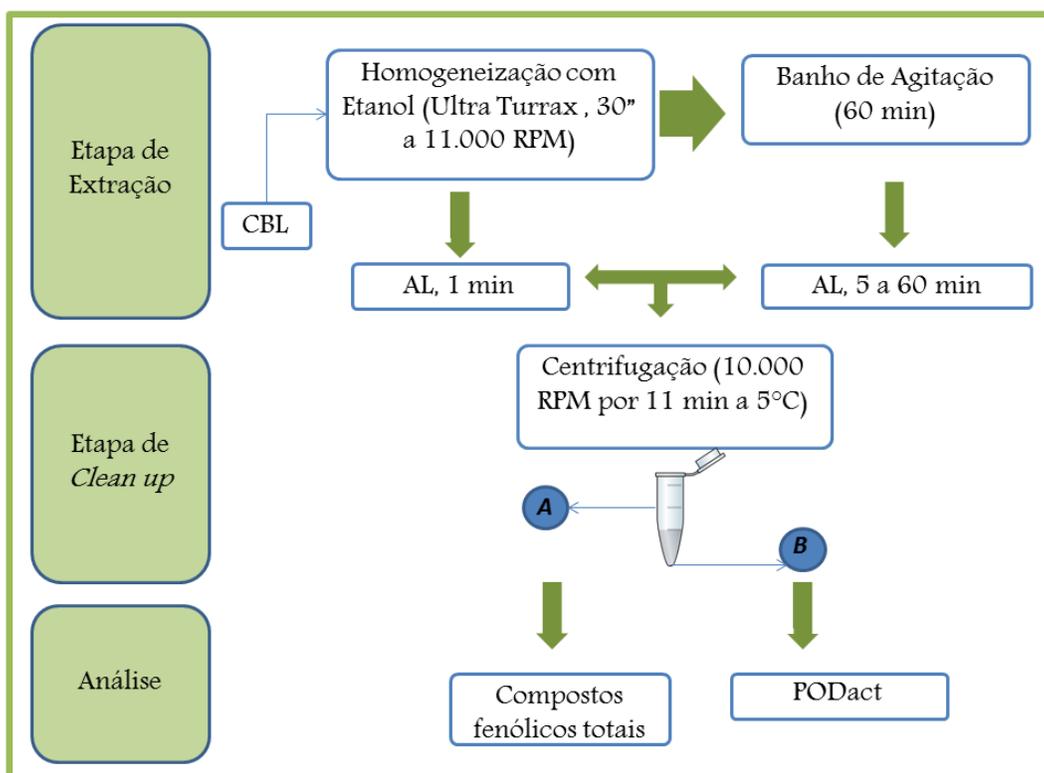


Figura 2 Diagrama de fluxo da extração sólido-líquido dos compostos fenólicos. AL, alíquota, CBL, pó da casca de banana liofilizada. A: sobrenadante e B: sedimento. O tempo de 1 min equivale ao tempo total para mistura e homogeneização do sistema sólido-líquido.

Para monitorar as respostas durante o procedimento de extração foram coletadas alíquotas de aproximadamente 1,5 mL nos intervalos de 1 min (Ultra

Turrax), 5, 10, 15, 20, 40 e 60 min (banho de agitação), perfazendo uma hora de extração (Figura 2). As alíquotas coletadas foram transferidas para microtubos, em seguida centrifugadas a 10.000 rpm por 11 min a 5°C (*Hettich Zentrifugen, model Rotanta 460R, Germany*). O sobrenadante obtido foi utilizado para a análise de fenóis totais (FT) e a atividade da enzima peroxidase (PODact) foi mensurada no sedimento da centrifugação de cada alíquota.

2.4. Planejamento experimental

2.4.1. Seleção de variáveis e otimização do procedimento de extração

Uma estratégia sequencial de planejamentos fatoriais foi realizada para determinar a influência de quatro parâmetros na extração de FT e encontrar as condições ótimas de operação, como proposto por Rodrigues & lemma (2005).

Inicialmente, foi realizado uma seleção entre quatro variáveis empregando um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} mais 3 pontos centrais, totalizando 11 ensaios. As variáveis estudadas e os níveis foram definidos de acordo com Takeuchi et al. (2009) e González-Montelongo, Lobo & González (2010a,b). A Tabela 1 apresenta as variáveis e os níveis avaliados no fatorial fracionado, sendo que as variáveis independentes [E:A], TE, AG e R-SS foram avaliadas em três níveis (-1, 0, +1) e as respostas de interesse foram o conteúdo de compostos fenólicos totais e a atividade da enzima peroxidase.

Tabela 1: Variáveis e níveis avaliados no delineamento fatorial fracionado 2^{4-1} para extração de compostos fenólicos de casca de banana

X	Unidade	Variáveis	Nível (-1)	0	Nível (+1)
x_1	%	[E:A]	20	50	80
x_2	°C	TE	35	55	75
x_3	rpm	AG	100	200	300
x_4	g/100 mL	RS-S	2,5	5,0	7,5

[E:A] Porcentagem de etanol na solução hidroalcoólica (v:v; etanol:água), TE Temperatura, AG Agitação e R-SS Relação sólido-solvente (g de amostra/ 100 mL de solução hidroalcoólica).

Após a seleção das variáveis, foi realizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2^2 , com 4 pontos axiais e 3 pontos centrais, resultando em 11 experimentos. O objetivo principal foi definir as condições ótimas para o processo. O ponto central e a faixa de estudo dos parâmetros utilizados no DCCR, apresentados na Tabela 2, foram escolhidos de acordo com resultados preliminares obtidos no experimento fatorial fracionado 2^{4-1} .

Tabela 2: Variáveis e níveis avaliados no delineamento composto central rotacional 2^2 para extração de compostos fenólicos de casca de banana

Variáveis	Níveis				
	-1,41	-1	0	+1	+1,41
[E:A] (%)	20	27	45	63	70
R-SS (g/100 mL)	2,5	3,2	5,0	6,8	7,5

2.4.2. Análise estatística

Os resultados foram analisados com auxílio do software STATISTICA 8.0 (*StatSoft, USA*). Um nível de significância de 10% ($p < 0,1$) foi considerado para o delineamento fracionado e 5% ($p < 0,05$) para o DCCR.

2.5. Procedimentos analíticos

2.5.1. Compostos fenólicos totais (*Folin Ciocalteu Micro-Assay*)

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizado pelo método de Folin Ciocalteu como descrito por Cicco et al. (2009), com algumas modificações (AINSWORTH; GILLESPIE, 2006; CICCIO; LATTAZZO, 2011). Em tubos de 10 mL foram adicionados 100 μ L de amostra previamente diluída, 100 μ L do reagente Folin Ciocalteu 50% (v/v) e 800 μ L da solução de carbonato de sódio 5% (p/v). Após a mistura permanecer por 20 min a temperatura de 40°C, os tubos foram rapidamente resfriados e a absorbância foi medida a 760 nm (*Beckman UV/VIS, model DU-640, USA*). Metanol 50% foi utilizado para o preparo das

soluções padrões e para diluir os extratos. Ácido gálico foi utilizado como padrão espectrofotométrico (Faixa Linear: 10-80 µg/mL; $y = 0,115x + 0,229$; $R^2 = 0,9903$) e o resultado final foi expresso como equivalentes de ácido gálico (g EAG/100 g CBL). Os resultados estão apresentados como média \pm desvio padrão da triplicata.

2.5.2. Atividade da enzima peroxidase (POD)

O sedimento obtido no item 2.3 foi homogeneizado com tampão fosfato de sódio 0,2M pH 8,0 contendo 2% PEG (polietilenoglicol). O homogenato foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 min a 5°C (*Hettich Zentrifugen, model Rotanta 460R, Germany*) e o sobrenadante obtido foi utilizado para determinar a atividade da enzima.

A atividade da POD foi determinada pela reação da mistura contendo 100 µL do extrato enzimático, 1.200 µL de tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH 6,0), 1.500 µL de guaiacol 1% e 400 µL de peróxido de hidrogênio 0,1%. A reação foi monitorada durante 5 min a 470 nm (*Beckman UV/VIS, model DU-640, USA*). A atividade foi calculada a partir da taxa de aumento de absorbância por minuto ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$). Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como um aumento de 0,001 unidades de absorbância por minuto. O resultado final foi expresso em U/mg de CBL (CLEMENTE, 1998).

2.5.3. Capacidade de sequestrar o radical DPPH' (2,2-Diphenil-1-picrylhydrazyl)

A capacidade antioxidante total (TAC) do extrato foi medido pelo teste de DPPH de acordo com Roesler et al. (2006), com algumas adaptações. Em uma microplaca transparente de 96-compartimentos foram colocados 250 µL da solução de DPPH (0,004%, m/v) e 50 µL do extrato previamente diluído. A placa contendo a mistura foi incubada por 30 min na ausência de luz. O controle da reação (reagente DPPH) foi preparado de acordo com o procedimento acima, sem a adição do extrato e metanol P.A. foi utilizado para corrigir a linha de base. A

solução de DPPH foi preparada diariamente, estocada em frascos escuros e armazenados a 4°C até o uso. A porcentagem de diminuição em absorbância foi determinada a 517 nm utilizando um leitor de microplaca (*NOVOstar, model BMG Labtech, Germany*) e a capacidade de sequestrar radicais livres foi calculada de acordo com a equação (1):

Equação (1):
$$\%Inibição = \frac{(ADPPH - AExtrato)}{ADPPH} \times 100$$

onde, ADPPH é a absorbância da solução de DPPH e AExtrato da amostra.

O reagente Trolox foi utilizado como padrão para construção da curva analítica (10 - 250 µM) e os resultados foram expressos como µmol de equivalentes Trolox (µmol EQT/g CBL). A TAC foi medida nos extratos obtidos nos pontos centrais do delineamento fracionado para verificar a relação entre atividade antioxidante e conteúdo de FT ao longo do tempo de extração.

3. Resultados e Discussões

3.1. Seleção de variáveis: fatorial fracionado 2⁴⁻¹

3.1.1. Compostos fenólicos totais (FT)

As variáveis e os níveis para o fatorial fracionado (2⁴⁻¹) foram definidos de acordo com Takeuchi et al. (2009) e González-Montelongo, Lobo & González (2010 a,b). A Tabela 3 apresenta a matriz do delineamento fatorial fracionado e o conteúdo de compostos fenólicos totais durante os tempos de 1 a 60 min de extração.

A análise dos pontos centrais (PC, ensaios 9, 10 e 11) torna-se de grande importância para um maior conhecimento do comportamento do processo de

extração. Observando os resultados obtidos nestas condições é possível perceber que houve uma pequena variação nos valores de FT, indicando que a extração apresenta boa repetitividade.

Tabela 3: Matriz do delineamento fatorial fracionado (2^{4-1}) e compostos fenólicos totais nos tempos de 1 a 60 min de extração

Ensaio	[E:A]	TE	AG	R-SS	Fenóis Totais (g EAG/100 g CBL)						
					1 min	5 min	10 min	15 min	20 min	40 min	60 min
1	-1	-1	-1	-1	1,00	0,86	0,77	0,72	0,64	0,60	0,55
2	1	-1	-1	1	0,82	0,76	0,69	0,61	0,57	0,50	0,53
3	-1	1	-1	1	1,00	1,09	1,19	1,24	1,26	1,32	1,34
4	1	1	-1	-1	0,92	1,09	1,13	1,10	1,17	1,10	1,15
5	-1	-1	1	1	0,92	0,92	0,86	0,80	0,77	0,64	0,57
6	1	-1	1	-1	0,58	0,92	0,87	0,80	0,79	0,74	0,70
7	-1	1	1	-1	0,95	0,98	0,99	0,91	0,93	0,94	1,12
8	1	1	1	1	0,70	0,99	1,02	1,02	1,04	1,04	1,11
9	0	0	0	0	<u>2,54</u>	2,12	1,82	1,72	1,63	1,40	1,51
10	0	0	0	0	<u>2,53</u>	2,14	1,84	1,60	1,58	1,39	1,11
11	0	0	0	0	<u>2,53</u>	2,08	1,72	1,57	1,38	1,20	1,15

[E:A] Porcentagem de etanol na solução hidroalcoólica (v:v; etanol:água), TE Temperatura, AG Agitação, R-SS Relação sólido-solvente (g de amostra/100 mL de solução hidroalcoólica) e compostos fenólicos totais nos tempos de 1 a 60 min de extração. Os valores reais dos níveis de cada variável estão descritos na Tabela 1.

Como pode ser observado na Tabela 3, o conteúdo de FT apresentou um decréscimo durante a extração para os ensaios com temperatura de 35 ou 55°C (1, 2, 5, 6 e nos PC), devido à oxidação dos fenóis por enzimas fenoloxidasas. Enquanto isso, nos ensaios com temperatura de 75°C (3, 4, 7 e 8) foi observado uma tendência de aumento, certamente pela inibição da enzima peroxidase (POD; ver item 3.1.2.). A diminuição ou o aumento no conteúdo de compostos fenólicos

ao longo do tempo de extração pode estar relacionado com os fatores do processo, por exemplo, variação de temperatura (35, 55 ou 75°C; ver item 3.1.1.2.), e ainda com as propriedades químicas e bioquímicas da matriz vegetal, tais como a presença de substâncias interferentes e de enzimas oxidativas (peroxidase e polifenoloxidase) (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010 a,b).

Nos ensaios realizados com temperatura no maior nível (+1; 75°C), o conteúdo de FT aumentou durante o tempo de extração, alcançando o valor máximo depois de 20-40 min, na ordem de 1,00 a 1,30 g EAG/100 g CBL. No entanto, os maiores resultados foram observados nos pontos centrais depois de 1 min de extração, atingindo aproximadamente 2,50 g EAG/100 g CBL, valor 2-3 vezes maior que nos demais ensaios. Deste modo, a avaliação estatística dos resultados foi realizada para os tempos de 1, 20 e 40 min.

Uma vez que os melhores resultados do delineamento fracionado foram obtidos nos pontos centrais, a análise de efeitos principais foi realizada com a checagem de curvatura para evitar a exclusão de parâmetros estatisticamente significativos (RODRIGUES; IEMMA, 2005). Para a análise de experimentos de seleção de variáveis também é recomendado o uso de um nível de significância de 10% ($p < 0,1$). A avaliação estatística dos resultados está apresentada na Tabela 4.

A Tabela 4 apresenta os efeitos das variáveis sobre a resposta (FT), bem como os *t*- e *p*-valores. Os parâmetros em negrito apresentam efeitos principais estatisticamente significativos para os compostos fenólicos totais ($p < 0,1$). Uma breve análise da Tabela 4 permite observar que apenas as variáveis [E:A] e TE foram estatisticamente significativas para os tempos de 1, 20 e 40 min, respectivamente.

Tabela 4: Estimativa dos efeitos dos parâmetros analisados depois de 1, 20 e 40 min de extração para FT.

Fatores	Tempo (min)	Efeito*	EP	t (5)	p-valor
Média	1	0,86	0,02	40,04	<0,0001
	20	0,90	0,06	15,75	<0,0001
	40	0,86	0,06	15,47	<0,0001
Curvatura	1	3,34	0,08	40,48	<0,0001
	20	1,26	0,22	5,80	0,0021
	40	0,94	0,21	4,41	0,0069
[E:A]	1	-0,21	0,04	-4,93	0,0044
	20	-0,01	0,11	-0,09	0,9345
	40	-0,03	0,11	-0,26	0,8045
TE*	1	-	-	-	-
	20	0,41	0,11	3,56	0,0162
	40	0,48	0,11	4,31	0,0076
AG*	1	-	-	-	-
	20	-0,03	0,11	-0,23	0,8275
	40	-0,04	0,11	-0,39	0,7105
R-SS	1	0,00	0,04	-0,08	0,9417
	20	0,03	0,11	0,26	0,8075
	40	0,03	0,11	0,27	0,7956

$t_{\text{tab}}(0,1;5) = 2,02$. EP Erro padrão, Parâmetros em negrito são estatisticamente significativos para a resposta. *As variáveis TE e AG não apresentam efeito em 1 min de extração (Figura 2).

3.1.1.1. Efeito da [E:A]

Os compostos fenólicos encontram-se na natureza na forma de estruturas simples a altamente polimerizadas e podem interagir com outros componentes das plantas. A diferença estrutural e a formação de complexos dificulta o desenvolvimento de um processo capaz de extrair todos os compostos fenólicos presentes na matriz vegetal. A escolha do solvente a ser utilizado depende principalmente das características do composto alvo (soluto) e das interações entre soluto-solvente (NACZK; SHAHIDI, 2006; MARKOM et al., 2007).

De acordo com a Tabela 4, a [E:A] apresentou efeito negativo e estatisticamente significativo ($p < 0,10$) apenas para o tempo de extração de 1 min,

sendo que a passagem dos níveis inferiores para os níveis superiores do solvente levou a redução de 0,21 g EAG/100 g CBL na média do teor de fenóis totais. Diversos autores reportaram que a eficiência na extração de compostos fenólicos com o uso de etanol pode ser melhorada pela adição de diferentes proporções de água (BOURZEIX; REVILLA, 1991; PINELO et al., 2005a,b; YILMAZ; TOLEDO, 2006). Resultados semelhantes podem ser observados na Tabela 3 no tempo de 1 min de extração para os diferentes ensaios.

3.1.1.2. Efeito da temperatura (TE)

O uso de temperaturas elevadas pode aumentar o conteúdo de fenóis no extrato etanólico devido à diminuição da viscosidade do solvente e aceleração do movimento das moléculas (mobilidade molecular), o que promove uma maior solubilização dos compostos e um aumento do coeficiente de difusão (AJILA et al., 2011). No entanto, estudos demonstraram que o uso de elevadas temperaturas para a extração de compostos fenólicos a partir de matrizes vegetais podem desencadear processos de decomposição e epimerização dos fenóis, reduzindo o teor destes compostos no produto final (PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006).

Conforme a Tabela 4 verifica-se que a temperatura apresentou efeito positivo sobre a extração de fenóis, ou seja, houve um aumento do conteúdo de fenóis (0,41 - 0,48 g EAG/100 g CBL) quando a temperatura passou do nível -1 (35°C) para o nível +1 (75°C). Este parâmetro foi estatisticamente significativo ao nível de confiança de 90% ($p < 0,10$) a partir dos 5 min de extração. Este efeito positivo da temperatura na extração de compostos fenólicos a partir da CBL também pode estar relacionado à inativação da enzima peroxidase (ver tópico 3.1.2.). Vuong et al. (2013) verificaram que o uso de elevadas temperaturas (70°C) promoveu um aumento do conteúdo de compostos fenólicos totais no extrato aquoso das folhas de *Carica papaya*.

Diversos estudos apresentam resultados positivos em relação ao uso de elevadas temperaturas na extração de compostos fenólicos (GONZÁLEZ-

MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b; VUONG et al., 2013) e, ainda, outros dados com efeito negativo (CACACE; MAZZA, 2003; SPIGNO; TRAMELLI; DE FAVERI, 2007). Essa divergência pode estar relacionada às diferentes classes de fenóis presentes em cada matriz estudada (PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006). Considerando os dados da literatura e às análises dos dados coletados, foi decidido manter a temperatura no nível mais alto nos demais delineamentos (DCCR 2²) a fim de inibir a enzima POD e ainda verificar a influência (sensibilidade dos compostos presentes) de altas temperaturas na extração de fenóis a partir da CBL.

3.1.1.3. Outros efeitos (R-SS, AG, tamanho de partículas e tempo)

R-SS

Na Tabela 4, verifica-se que a variável R-SS apresentou um efeito positivo, porém não foi impactante sobre o processo e não foi estatisticamente significativo ($p < 0,1$). Os resultados de FT durante a extração (Tabela 3) também demonstraram que o aumento da quantidade de amostra (2,5 para 7,5 g de CBL) no sistema não promoveu aumento da extração dos compostos fenólicos. De fato, o uso de proporções maiores de solvente (-1; 2,5 g/100 mL) promove um elevado gradiente de concentração e, conseqüentemente, aumento do coeficiente de difusão. No entanto, considerando que o consumo de solvente exerce impacto direto nos custos do processo, a variável R-SS deve ser cuidadosamente estudada (PINELLO et al., 2005a,b; PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006).

AG

A agitação apresentou um pequeno efeito negativo (Tabela 4) sobre a extração de compostos fenólicos e não foi estatisticamente significativo ($p < 0,1$). De acordo com ATIEMO-OBENG, PENNEY, & ARMENANTE (2004), a agitação promove uma melhor suspensão das partículas sólidas e a dissolução de substâncias em um sistema de extração sólido-líquido, assegurando que toda a

superfície da partícula sólida esteja em contato com o solvente e, conseqüentemente, um aumento na taxa de transferência de massa. Ademais, um sistema em agitação apresenta um aquecimento uniforme e uma maior interação entre solvente-sólido. Nesse sentido, a agitação foi fixada em 200 rpm nos demais delineamentos (DCCR), que corresponde a condição empregada nos pontos centrais.

Tamanho das partículas

A redução do tamanho das partículas (CBL) promove aumento na área superficial disponível para a transferência de massa e, conseqüentemente, o conteúdo de fenóis totais no extrato (SPIGNO; TRAMELLI; DE FAVERI, 2007). Neste trabalho, partículas com tamanhos de + 16 a - 80 mesh foram selecionadas (3,4% > 1 mm; 17,6% entre 720 μ e 1 mm; 41,5% entre 300 μ e 720 μ ; 20,5% entre 180 μ e 300 μ e 17% < 180 μ), ou seja, **partículas < 1mm**. Como pode ser observado na Tabela 3, um elevado teor de fenóis foi obtido com apenas 1 min de extração, o que está relacionado ao uso de pequenas partículas do sólido e da combinação dos demais parâmetros de extração.

Tempo

O aumento do tempo de contato entre solvente e o material sólido pode levar a uma progressiva liberação dos fenóis no meio. Embora na extração de compostos termossensíveis seja preferível o uso de baixas temperaturas e longos tempos de extração, um elevado período de extração pode promover pequeno aumento no conteúdo de fenóis obtidos, e como resultado, um processo economicamente inviável. Além disso, pode ocorrer a degradação dos compostos de interesse e a formação e/ou extração de outras substâncias (LAFKA; SINANOGLU; LAZOS, 2007). Em vista disso, o tempo total de extração foi fixado em 60 min, ao qual pode ser considerado um tempo relativamente curto de extração (SPIGNO; TRAMELLI; DE FAVERI, 2007). Nos ensaios 3, 4, 7 e 8

(Tabela 3) pode ser observado que o aumento do tempo de extração de 40 para 60 min promoveu um aumento médio de 10% no conteúdo de fenóis totais.

No presente estudo, o tempo não foi considerado como uma variável independente ou dependente. A resposta (FT) foi avaliada em função do tempo e, desta forma, os fatores que influenciam o processo e as alterações no teor de FT foram estudados de uma maneira mais ampla. Quando o tempo é considerado uma variável independente, assim como temperatura, agitação, etc., a extração é avaliada em tempos fixos e as alterações no conteúdo de FT ao longo do tempo (ver item 3.1.2) não são observadas, o que pode resultar em um tempo final de extração pouco apropriado.

3.1.2. Influência da POD endógena sobre a extração de fenóis

Certas complicações surgem quando se trabalha com a extração de compostos bioativos a partir de subprodutos, devido à sua elevada atividade enzimática (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010a). Diversos estudos reportaram a extração de compostos fenólicos a partir de matrizes vegetais em diferentes condições de operação, no entanto, poucos se atentaram para o processo de oxidação enzimática destes compostos durante o procedimento de preparo de amostra e extração do composto alvo (TAKEUCHI et al., 2009). Nestes casos, muitas vezes os resultados podem ser interpretados de maneira equivocada, discriminando um tratamento (ensaio) que apresentou resultados insatisfatórios de extração quando na realidade a oxidação enzimática dos fenóis pode estar diretamente relacionada com a resposta negativa.

As enzimas fenoloxidasas geralmente são total ou parcialmente inativadas por diversos métodos físicos e químicos (MACDONALD; SCHASCHKE, 2000; PARKIN, 2008). Essa classe de enzimas não foi inativada durante o preparo da CBL porque um dos pontos de observação deste trabalho foi apresentar o efeito das enzimas fenoloxidasas sobre a extração de fenóis a partir de matrizes vegetais. A POD é largamente utilizada como índice de branqueamento em

tratamentos térmicos devido a sua resistência a condições adversas de temperatura. Quando a atividade da POD endógena é destruída, todas as outras enzimas fenoloxidasas devem ser (PARKIN, 2008). Desta forma, a atividade da enzima peroxidase (PODact) foi utilizado como padrão de referência.

A influência da enzima POD sobre o processo de extração de compostos fenólicos a partir da CBL está demonstrada na Figura 3. A casca da banana apresentou elevada atividade da enzima peroxidase, o que provocou a oxidação dos compostos fenólicos e a redução da capacidade antioxidante do extrato (TAC).

De acordo com a Figura 3A, o coeficiente de correlação de Pearson positivo (0,9924) demonstrou que a TAC da CBL pode ser considerada como resultado da presença dos compostos fenólicos. Este fato pode ser comprovado pela redução do conteúdo de FT, devido à elevada atividade da enzima POD (Figura 3B), que, conseqüentemente, provocou uma diminuição diretamente proporcional do TAC durante os 60 min de extração. Desta maneira, a capacidade antioxidante da casca de banana pode estar diretamente relacionada ao conteúdo de fenóis presentes neste subproduto, tornando-se um fator importante de análise para o conhecimento e potencial valorização desse material.

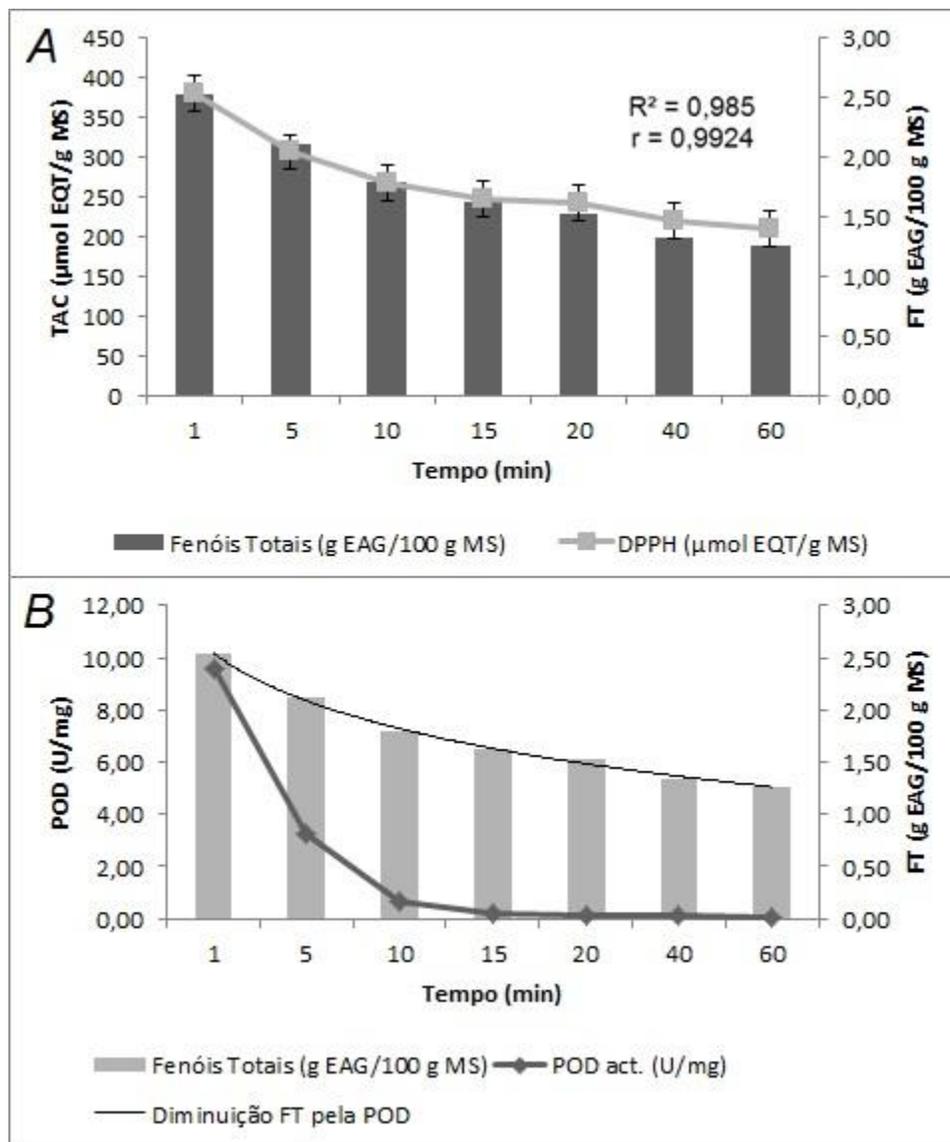


Figura 3: Redução dos FT durante a extração provocada pela enzima POD. A) Correlação entre o teor de fenóis totais e a capacidade do extrato em sequestrar o radical DPPH nos diferentes tempos para a média dos ensaios centrais; B) Atividade da enzima POD e conteúdo de FT durante a extração para a média dos ensaios centrais.

3.1.2.1. Influência dos parâmetros de extração sobre a POD

A avaliação da atividade da POD (PODact) ao longo do processo de extração teve por finalidade correlacionar os dados de FT com PODact e encontrar uma condição ideal que inative ou diminua a atividade dessa enzima. A

Tabela 5 apresenta a matriz do delineamento fatorial fracionado e a atividade da enzima POD durante os tempos de 1 a 60 min de extração.

Tabela 5: Matriz do delineamento fatorial fracionado (2^{4-1}) e atividade da POD nos tempos de 1 a 60 min de extração.

Ensaio	[E:A]	TE	AG	R-SS	PODact (U/mg)						
					1 min	5 min	10 min	15 min	20 min	40 min	60 min
1	-1	-1	-1	-1	7,95	7,58	4,89	4,05	3,22	2,23	1,22
2	1	-1	-1	1	23,17	16,41	13,22	10,75	12,57	8,53	7,77
3	-1	1	-1	1	17,39	14,66	4,67	<u>0,33</u>	<u>0,26</u>	0,00	0,00
4	1	1	-1	-1	8,14	<u>0,05</u>	<u>0,00</u>	0,00	0,00	0,00	0,00
5	-1	-1	1	1	17,08	16,64	17,44	14,81	14,15	8,56	5,82
6	1	-1	1	-1	5,29	5,34	4,76	1,84	3,27	2,92	1,89
7	-1	1	1	-1	9,05	<u>0,15</u>	<u>0,00</u>	0,00	0,00	0,00	0,00
8	1	1	1	1	17,33	<u>0,04</u>	<u>0,00</u>	0,00	0,00	0,00	0,00
9	0	0	0	0	10,68	3,50	0,77	0,28	0,13	0,06	0,04
10	0	0	0	0	9,18	3,34	0,51	0,17	0,14	0,05	0,05
11	0	0	0	0	8,85	3,01	0,66	0,18	0,07	0,16	0,01

[E:A] Porcentagem de etanol na solução hidroalcoólica (v:v; etanol:água), TE Temperatura, AG Agitação, R-SS Relação sólido-solvente (g de amostra/100mL de solução hidroalcoólica) e compostos fenólicos totais nos tempos de 1 a 60 min de extração. POD = 0,00, não apresentou atividade pelo método utilizado. Os valores reais dos níveis de cada variável estão descritos na Tabela 1.

Em todos os ensaios observa-se elevados valores de PODact depois de 1 min (Tabela 5). De acordo com Cano, Marín & Fúster (1990), a solubilidade da enzima POD pode ser afetada por danos mecânicos. Durante o preparo de amostra, a casca da banana foi congelada, liofilizada e moída, o que pode facilitar a extração e aumentar a atividade da POD. Os compostos fenólicos estão localizados nos vacúolos e são separados das enzimas oxidativas em uma fruta

intacta. O rompimento da estrutura durante os processos de desidratação e secagem promove a liberação de mais compostos fenólicos juntamente com enzimas oxidativas e hidrolíticas que podem degradar os compostos fenólicos (SULAIMAN et al., 2011).

Conforme a Tabela 5, em 5 min de extração pode ser verificado que ocorreu a inativação enzimática nos ensaios 4, 7 e 8 (temperatura no nível +1) e para o ensaio 3, a inativação ocorreu nos 15 min de extração devido a relação sólido-líquido estar no maior nível (7,5 g) e a concentração do solvente no menor nível (20% v:v). A avaliação estatística dos resultados foi realizada para os tempos de 5, 10 e 15 min (Tabela 6).

Tabela 6: Estimativa dos efeitos dos parâmetros analisados nos tempos de 5, 10 e 15 min de extração para POD.

Fatores	Tempo (min)	Efeito	EP	t (5)	p-valor
Média	5	7,61	1,03	7,39	0,0007
	10	5,62	1,04	5,42	0,0029
	15	3,97	1,14	3,49	0,0174
Curvatura	5	-8,65	3,94	-2,19	0,0797
	10	-9,95	3,97	-2,51	0,0541
	15	-7,53	4,36	-1,73	0,1445
[E:A]	5	-4,30	2,06	-2,09	0,0913
	10	-2,25	2,07	-1,09	0,3269
	15	-1,65	2,27	-0,73	0,5009
TE	5	-7,77	2,06	-3,77	0,0130
	10	-8,91	2,07	-4,30	0,0078
	15	-7,78	2,27	-3,42	0,0188
AG	5	-4,14	2,06	-2,01	0,1009
	10	-0,14	2,07	-0,07	0,9471
	15	0,38	2,27	0,17	0,8741
R-SS	5	8,66	2,06	4,20	0,0085
	10	6,42	2,07	3,10	0,0270
	15	5,00	2,27	2,20	0,0793

$t_{\text{tab}}(0,1;5) = 2,02$. EP Erro padrão, Parâmetros em negrito são estatisticamente significativos para a resposta.

A Tabela 6 apresenta os efeitos das variáveis sobre a resposta (PODact), bem como os *t* e *p*-valores. Os parâmetros em negrito apresentam efeitos estatisticamente significativos para atividade da enzima ($p < 0,1$). Uma rápida análise da Tabela 6 permite observar que as variáveis [E:A], TE e R-SS apresentaram efeito estatisticamente significativos ($p < 0,1$).

A temperatura foi a variável que apresentou maior efeito negativo sobre a PODact. A passagem do menor nível para o maior nível de temperatura levou a diminuição de aproximadamente 9,0 U/mg CBL na média geral da atividade enzimática e a inativação da enzima nos ensaios com temperatura de 75°C. Assim como a temperatura, a [E:A] apresentou efeito negativo de 4,3 U/mg CBL. Neste experimento, observa-se um aumento na atividade POD de 8,66 U/mg CBL quando a variável R-SS passou do nível -1 para o nível +1, ou seja, de 2,5 g/100 mL para 7,5 g/100 mL, respectivamente.

MacDonald & Schaschke (2000) avaliaram o efeito do tratamento térmico combinado com alta pressão sobre a atividade da enzima POD presente na polpa da banana. A combinação desses fatores apresentou um grande efeito negativo sobre a atividade da enzima (0,9% de PODact remanescente após 15 min de tratamento). Segundo os autores, a perda de atividade catalítica da enzima está relacionada principalmente ao aumento de temperatura (70°C). Além disso, o aumento na temperatura de extração de 25°C para 55°C não foi suficiente para inativar a PPO nos extratos aquosos da casca de banana (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010a).

De acordo com González-Montelongo, Lobo & González (2010a), a enzima polifenoloxidase (PPO) pode diminuir a recuperação de compostos fenólicos a partir da CBL, quando água é utilizada como solvente para extração. Contudo, com metanol, etanol e acetona, a PPO pode ser inativada. No presente trabalho, a enzima POD não foi inativada com o uso de etanol 80% (v/v), mas o solvente promoveu uma redução de 4,3 U/mg CBL na média de atividade enzimática.

Em suma, existem diversos fatores que influenciam na extração de compostos fenólicos a partir da CBL, como os parâmetros do processo TE, AG, R-SS e [E:A] e a atividade de enzimas fenoloxidase. A partir dos dados obtidos no planejamento fatorial 2^{4-1} foram selecionadas as variáveis que influenciam no processo para realizar um DCCR 2^2 (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

3.2. Otimização utilizando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR)

A partir da seleção de variáveis a temperatura foi fixada no maior nível (75°C) e a agitação em 200 rpm, como discutido anteriormente (ver itens 3.1.1.2 - 3.1.1.3). O efeito negativo do parâmetro [E:A] associado aos valores de FT observados no ponto central (Tabela 3), sugere que a melhor [E:A] encontra-se abaixo de 80%. Desta forma, os níveis de estudo foram deslocados para níveis inferiores, de 20% a 70%, com a finalidade de diminuir custos e ainda assim garantir a eficiência ao longo da extração dos compostos de interesse (FT). Embora a R-SS não tenha apresentado efeito estatisticamente significativo (Tabela 4), esta variável foi selecionada a fim de verificar sua interação com a [E:A], além de permitir o estudo de seu efeito sobre as respostas, mantendo as variáveis temperatura e agitação fixadas nos níveis apresentados acima.

Assim, as variáveis [E:A] e R-SS foram otimizadas utilizando um Delineamento Composto Central Rotacional 2^2 , com 4 pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 11 experimentos (RODRIGUES; IEMMA, 2005). As demais variáveis, temperatura e agitação, foram fixadas nos valores de 75°C e 200 rpm, respectivamente. A Tabela 7 apresenta a matriz do DCCR e compostos fenólicos totais nos tempos de 1 a 60 min de extração.

Na Tabela 2 pode ser observado que os níveis escolhidos para o estudo de otimização da variável R-SS foram os mesmos dos utilizados previamente no delineamento fracionado, com alterações e adaptações na amplitude da faixa estudada.

Tabela 7: Matriz do Delineamento Composto Central Rotacional 2² e resposta de compostos fenólicos totais nos tempos de 1 a 60 min.

Ensaio	[E:A]	R-SS	Fenóis Totais (g EAG/100 g CBL)						
			1 min	5 min	10 min	15 min	20 min	40 min	60 min
1	-1	-1	1,17	1,25	1,23	1,26	1,27	1,34	1,34
2	1	-1	<u>2,68</u>	2,51	2,43	2,34	2,27	2,23	<u>2,16</u>
3	-1	1	1,47	1,56	1,65	1,63	1,65	1,80	1,90
4	1	1	<u>2,63</u>	2,35	2,19	2,09	2,03	1,88	1,91
5	-1,41	0	1,12	1,25	1,27	1,27	1,32	1,42	1,44
6	1,41	0	1,88	1,99	1,95	1,88	1,89	1,84	1,80
7	0	- 1,41	<u>2,23</u>	<u>1,58</u>	1,65	1,69	1,73	1,82	1,90
8	0	1,41	<u>2,28</u>	<u>1,68</u>	1,73	1,76	1,76	1,85	1,92
9	0	0	<u>2,49</u>	<u>1,68</u>	1,76	1,81	1,82	1,87	<u>2,04</u>
10	0	0	<u>2,66</u>	<u>1,76</u>	1,87	1,87	1,87	1,96	<u>2,01</u>
11	0	0	<u>2,45</u>	<u>1,66</u>	1,75	1,74	1,84	1,90	<u>2,07</u>

Os valores reais dos níveis de cada variável estão descritos na Tabela 2. [E:A] Porcentagem de etanol na solução hidroalcoólica (v:v; etanol:água), R-SS Relação sólido-solvente (g de amostra/100 mL de solução hidroalcoólica).

Conforme a Tabela 7, o conteúdo de FT apresentou um decréscimo durante a extração para os ensaios 2 e 4 e uma tendência de aumento para os ensaios 1, 3, 5, 6, 7, 8 e nos PC. Correlacionando as condições de extração com os resultados obtidos em cada ensaio, verifica-se que os ensaios que apresentaram decaimento no FT foram aqueles com [E:A] acima de 45% em combinação com elevada temperatura (75°C). Todos os ensaios foram realizados a temperatura de 75°C e ocorreu a inibição da enzima POD depois de 5 min (ver item 3.1.2.1). Desta maneira, o decréscimo observado pode estar relacionado à combinação de três fatores: 1) alta [E:A] no sistema ; 2) temperaturas elevadas e; 3) tempo de extração.

Nos ensaios realizados com [E:A] no nível 0 (45%), observou uma redução no FT depois de 5 min de extração provocada pela atividade da enzima POD, enquanto nos demais tempos a enzima foi inativada e o conteúdo de FT aumentou até os 60 min de extração. A temperatura ótima de atividade das fenoloxidasas encontra-se no intervalo de 30-50°C, mas a estabilidade térmica é comparativamente alta e caracterizada por meias-vidas de diversos minutos no intervalo de 55 - 80°C, dependendo da matriz vegetal. Portanto, existem muitas oportunidades de as peroxidases serem ativadas durante o aquecimento do sistema de extração (PARKIN, 2008).

De acordo com a literatura, na extração de compostos fenólicos a temperatura não pode ser maior do que 50°C, devido à termoinstabilidade destes compostos (PINELO; ARNOUS; MEYER, 2006). Como pode ser observado na Tabela 7, o uso de elevada temperatura (75°C) associada a [E:A] no nível +1 (63%) promoveu a degradação térmica dos fenóis ao longo da extração. Por outro lado, o resultado é diferente com o uso da [E:A] em níveis menores, depois de 5 min é observado um aumento no FT, ou seja, a temperatura auxiliou/melhorou a extração. Conforme os resultados apresentados, altas temperaturas podem ou não influenciar na estabilidade dos fenóis, depende da combinação das demais variáveis e de todo o sistema de extração, principalmente temperatura, tempo e [E:A]. Investigações futuras são necessárias para o estudo dessa interação.

Conforme a Tabela 7, os maiores resultados de FT foram obtidos com 1 min de extração. Desta maneira, foi realizado o tratamento estatístico dos dados coletados nesse tempo (STATISTICA 8.0). Na Tabela 8 estão apresentados os coeficientes de regressão e as respectivas análises estatísticas dos parâmetros considerados. Para delineamentos completos é recomendado o uso de um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), devido ao maior critério de seleção das variáveis, devendo ser inseridas no modelo matemática apenas os fatores que realmente influenciam na resposta (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

Tabela 8: Coeficientes de regressão para a resposta FT após 1 min de extração.

Fatores	CR	EP	t(5)	p-valor
Média	2,53	0,16	16,08	<0,0001
[E:A] (L)	0,47	0,10	4,84	0,0047
[E:A] (Q)	-0,49	0,11	-4,24	0,0081
R-SS (L)	0,04	0,10	0,42	0,6888
R-SS (Q)	-0,11	0,11	-0,97	0,3771
[E:A]xR-SS	-0,09	0,14	-0,64	0,5492

$T_{tab (0,05;5)} = 2,57$. CR Coeficiente de regressão, EP erro padrão, [E:A] Porcentagem de etanol na solução hidroalcoólica, R-SS Relação sólido-solvente, L linear, Q quadrático. Parâmetros em negrito são estatisticamente significativos para a resposta ($p < 0,05$).

A análise de regressão consiste na obtenção de uma equação que tenta explicar a variação significativa de uma variável resposta (FT) em função da variação dos níveis de um ou mais fatores quantitativos ([E:A] e R-SS). De acordo com a Tabela 8, os coeficientes Média, [E:A] (L) e [E:A] (Q) foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$). A interação [E:A] x R-SS e os coeficientes linear e quadrático da R-SS não foram significativos, considerando um p -valor de 0,05. Após a medição dos coeficientes de regressão foi possível obter o modelo incluindo apenas os termos significativos na equação abaixo:

Equação (2): Modelo matemático ajustado para os valores codificados

$$Y = 2,43 + 0,47[E:A] - 0,45[E:A]^2$$

Para verificar a validade do modelo, uma análise de variância (ANOVA) foi realizada considerando apenas as variáveis estatisticamente significativas ($p < 0,05$) para a extração de FT (Tabela 9).

A análise de ANOVA demonstrou que o modelo de 2ª ordem obtido foi estatisticamente significativo e preditivo para o processo estudado. Desta forma, o

conteúdo de FT extraído da CBL pode ser predito em função da [E:A] por meio da equação codificada (Equação 2). O modelo não apresentou falta de ajuste ($F_{cal} < F_{tab}$) e foi observado um coeficiente de regressão satisfatório ($R^2 = 0,86$).

Tabela 9: ANOVA do modelo quadrático para compostos fenólicos totais.

Fonte de variação	SQ	GI	QM	F_{cal}	p-valor	F_{tab}
Regressão	3,02	2	1,51	24,86	0,0004	4,46
Resíduos	0,49	8	0,06			
<i>Falta de ajuste</i>	0,46	6	0,08	6,23	0,1448	19,33
<i>Erro Puro</i>	0,02	2	0,01			
Total	3,50	10				
$R^2 = 0,86$						

SQ Soma dos quadrados, GI graus de liberdade, QM quadrado médio.

A Figura 4 apresenta a relação entre os valores preditos pelo modelo (Equação 2) e os observados experimentalmente (Tabela 7). Os valores estimados pelo modelo correspondem ao conteúdo de compostos fenólicos obtidos de acordo com a Equação 2, ao qual o termo [E:A] é substituído pelos níveis codificados (-1, 0, +1) de cada ensaio da matriz do DCCR (Tabela 7).

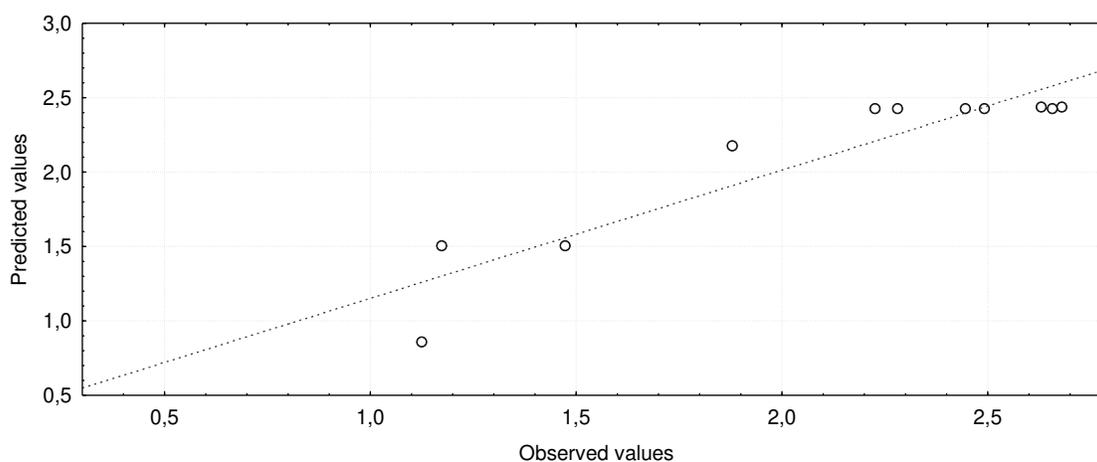


Figura 4: Valores observados *versus* valores preditos pelo modelo para FT.

Conforme apresentado na Figura 4, apenas alguns ensaios não se ajustaram corretamente ao modelo (ensaios 1, 5 e 6), devido às condições utilizadas nestes experimentos. No entanto, observa-se uma boa distribuição dos valores sobre a linha e os dados coletados no experimento foram bem explicados pelo modelo matemático (Tabela 9). Para confirmar esse ajuste dos dados coletados ao modelo foram calculados os erros absolutos e relativos entre os valores preditos e observados (Tabela 10).

Tabela 10: Valores de FT obtidos pelo modelo e as diferenças a partir dos obtidos experimentalmente depois de 1 min.

Ensaio	Predito	EA (g EAG/100 g)	ER (%)
1	1,51	-0,33	-28,39
2	2,44	0,24	8,99
3	1,51	-0,03	-2,25
4	2,44	0,19	7,26
5	0,86	0,27	23,63
6	2,18	-0,30	-15,88
7	2,43	-0,20	-9,02
8	2,43	-0,15	-6,40
9	2,43	0,06	2,60
10	2,43	0,23	8,66
11	2,43	0,02	0,78

EA Erro absoluto, *ER* erro relativo

Como pode ser observado na Tabela 10, houve um desvio de 0,78 - 9,02% dos valores fornecidos pelo modelo em relação aos experimentais, o que representa uma pequena variação, considerando o número de variáveis que influenciam o processo de extração. Uma grande variação foi observada nos ensaios com [E:A] nos níveis extremos (-1, -1,41 e 1,41; ensaios 1, 5 e 6), devido ao fato do modelo não se ajustar precisamente a esses pontos.

De acordo com os dados apresentados, o modelo matemático obtido foi significativo e representa de forma satisfatória o comportamento de FT conforme

as mudanças de nível da variável [E:A]. Portanto, o modelo foi utilizado para a construção da superfície de resposta e da curva de contorno (Figura 5) para permitir a visualização das condições ótimas do processo.

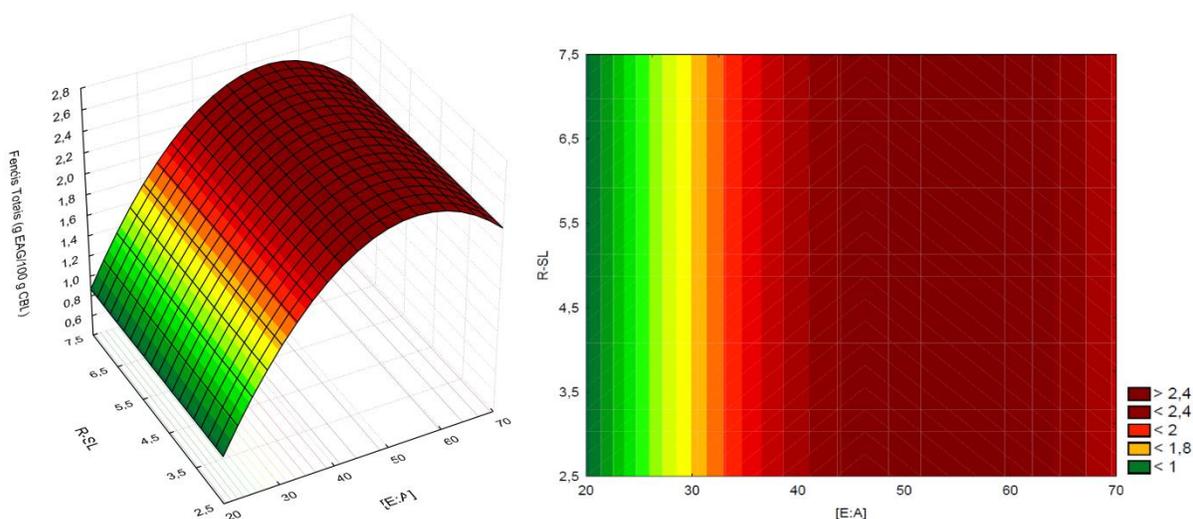


Figura 5: Superfície de resposta e curva de contorno para estudo da extração de FT a partir da CBL depois de 1 min de extração como uma função da [E:A].

O perfil da superfície de resposta obtida encontra-se próxima ao ideal, uma vez que é possível visualizar a região ótima predita pelo modelo, compreendendo os níveis estudados.

A variável R-SS não apresentou coeficiente de regressão estatisticamente significativo ($p < 0,05$) podendo ser utilizada no menor nível (2,5 g de CBL/100 mL) para a extração. Em termos de custos de processo, por um lado, essa variável no menor nível indica maiores gastos com solvente. Mas, por outro lado, representa o uso de uma menor quantidade de amostra para a obtenção do mesmo conteúdo de FT.

A Figura 5 apresenta o efeito da [E:A] sobre o conteúdo de FT no extrato etanólico obtido a partir da CBL. Um aumento gradativo de etanol até 60% favorece a extração de compostos fenólicos, sendo que a partir deste valor

observa-se uma diminuição no conteúdo de FT. Pela análise da superfície de resposta e da curva de contorno, o ponto ótimo (valores $> 2,5$ g EAG/100 g CBL) encontra-se entre 50 - 60% de etanol, enquanto, a condição ótima de [E:A] encontrada pelo uso de métodos matemáticos (derivada da Equação 2) foi de 54% de etanol.

Nos ensaios com a [E:A] em valores extremos (-1,41 e +1,41) foram observados os menores resultados de FT (Tabela 7). Isto indica que no sistema de extração, com o uso de materiais secos ou liofilizados, é necessário utilizar uma proporção adequada de água:etanol ideal para hidratar (água) as partículas, além de promover um elevado gradiente de concentração entre o sólido e o solvente (soluto:etanol), por isso, a condição ótima de [E:A] foi de 54%. Resultado semelhante foi observado na extração de compostos fenólicos a partir de chá preto, em que a concentração de 50% (v/v; água:solvente), independente do solvente utilizado, apresentou melhor eficiência de extração do que as demais concentrações estudadas (TURKMEN; SARIN; VELIOGLU, 2005).

Para a validação do modelo foram conduzidos 3 experimentos no ponto ótimo ([E:A] = 54%, R-SS = 2,5 g/100 mL, tempo de 1 min e TE de 25°C), com os resultados de FT coletados. A média dos valores observados foi de 2,44 g EAG/100 g CBL, um valor muito próximo do valor predito pelo modelo nas condições ótimas (2,55 g EAG/100 g CBL), apresentando um erro relativo de -4,53% (Tabela 11). A condição ótima não envolve a extração em banho de agitação, desta maneira, as variáveis AG e TE não estão influenciando o sistema no tempo de 1 min (Figura 2), o que torna o sistema de extração mais simples.

De acordo com a metodologia de extração desenvolvida e otimizada neste trabalho, a casca da banana apresentou um conteúdo de FT de aproximadamente 2,44 g EAG/100 g de CBL. Com a finalidade de comparar a nossa metodologia de extração com as utilizadas em outros trabalhos foi construída a Tabela 12, que apresenta de forma resumida o método de extração utilizado e os resultados de FT obtidos.

Tabela 11: Validação experimental de acordo com as condições otimizadas depois de 1 min de extração.

Variáveis	Valores ótimos	Observado	Predito	ER (%)
Tempo (min)	1			
R-SS (g)	2,5	2,44 ± 0,003*	2,55*	-4,53*
[E:A] (%)	54			

*Média dos valores experimentais. *ER* erro relativo. *TE* = 25°C.

Diversos autores reportaram o conteúdo de fenóis totais na casca de banana (Tabela 12), sendo que a variação no conteúdo de FT observada entre os trabalhos pode estar relacionada ao procedimento de preparo de amostra, a técnica de extração utilizada e a variedade e o estágio de maturação da fruta (BABBAR et al., 2011; SULAIMAN et al., 2011).

Segundo González-Montelongo, Lobo & González (2010a), acetona:água (1:1 v/v) foi o solvente mais eficiente para a extração de compostos fenólicos da casca de banana liofilizada cv. Grande Naine. Quando a extração foi realizada a 25°C por 1 min, o conteúdo de FT em acetona:água foi até 3,5 vezes maior dos observados em metanol e etanol:água (1:1 v/v). Enquanto isso, água foi o solvente menos eficiente na extração dos compostos fenólicos.

Em outro estudo, González-Montelongo, Lobo & González (2010b) estudaram o número de etapas, a temperatura e tempo de extração sobre a extração de FT em metanol P.A. a partir da casca de banana liofilizada cv. Grande Naine. Os valores ótimos para os fatores estudados foram de 3 extrações a 25°C e 0 min em banho de agitação e o conteúdo de FT observando nas condições ótimas foi de 2,2 g EAG/100 g CBL.

Tabela 12: Conteúdo de fenóis totais obtidos a partir de diferentes métodos de extração.

Variedade	Origem	Preparo de Amostra (casca de banana - CB)	Procedimento de Extração	Conteúdo de fenóis totais
Grande Naine	Ilhas Canárias, Espanha	A CB foi congelada com auxílio de N ₂ líquido e liofilizada. Depois o material foi moído para obtenção de um pó fino.	Extração realizada com diferentes solventes (ET Etanol 50% v/v e AC acetona 50% v/v). A mistura (amostra + solvente) foi homogeneizada com auxílio de Ultra Turrax (1 min a 10.000 rpm). Em seguida o homogenato foi levado em um banho de agitação durante 1 min (25 ° C).	AC: 2,6 g EAG/100 g CBL ^a ET: 1,7 g EAG/100 g CBL ^a
Grande Naine	Ilhas Canárias, Espanha	A CB foi congelada com auxílio de N ₂ líquido e liofilizada. Depois o material foi moído para obtenção de um pó fino.	Extração realizada com metanol P.A. (25°C). A mistura foi homogeneizada com auxílio de um Ultra Turrax por 1 min a 10.000 rpm. Este procedimento foi realizado três vezes.	2,2 g EAG/100 g CBL ^b
Não informado/ resíduo da indústria	Punjab, Índia	A CB foi seca em forno de ar quente a 60°C. Depois o material foi moído para obtenção de um pó fino.	Extração realizada com metanol 70% (v/v) por 3h a 40°C em refluxo. Esse procedimento foi repetido por mais duas vezes.	3,8 mg EAG/g CBS ^c
Raja	Perak, Malásia	A CB foi seca em um forno a 60°C por dois dias.	Uma extração sequencial (em Soxhlet) foi conduzida utilizando três diferentes solventes (HE hexano, CL clorofórmio e ME metanol 80%, v/v).	HE: - CL: 15,33 mg EAG/g CBS ^d ME: 2,51 mg EAG/g CBS ^d
Cavendish	Minas Gerais (Brasil)	A CB foi branqueada a 95°C por 5 min e submetida à secagem em um secador de bandejas a 55°C. Depois o material foi moído para obtenção da farinha de casca de banana.	A extração foi realizada com uma mistura de solventes: metanol, água e ácido fórmico (50:48.5:1.5 v/v/v). A extração foi assistida por homogeneização durante 2 min e banho de ultrassom durante 5 min. Esse procedimento foi repetido por mais duas vezes.	29,2 mg EAG/g CBS ^e
Prata	São Paulo (Brasil)	A CB foi congelada com auxílio de gelo seco e liofilizada. Depois o material foi moído para obtenção de um pó fino.	A extração foi realizada com etanol 54% (v/v) (25°C). A mistura foi homogeneizada com auxílio de Ultra Turrax por 30s a 11.000 rpm. Procedimento realizado uma única vez.	2,44 g EAG/100 g CBL ou 24,4 mg EAG/g CBL ^f

CB casca de banana, CBS casca de banana seca e CBL casca de banana liofilizada. Os dados apresentados na Tabela acima expressam apenas os resultados selecionados para comparar com os obtidos em nosso trabalho. Para maiores informações consultar: ^a González-Montelongo, Lobo & González (2010a), ^b González-Montelongo, Lobo & González (2010b), ^c Babbar et al. (2011), ^d Sulaiman et al. (2011)^e e Rebello et al. (2014). ^f resultado encontrado em nosso trabalho.

Em um estudo de extração sequencial de FT a partir da casca de banana seca, Sulaiman et al. (2011) encontraram que os extratos clorofórmicos da casca de banana cv. Raja apresentaram os maiores conteúdos de FT, valores na ordem de 15,33 mg EAG/g de CBS. Resultados inferiores foram observados para a fração metanólica (2,51 mg EAG/g CBS). Dentre os resultados apresentados na Tabela 12, o menor valor de FT foi observado por Babbar et al. (2011), que realizaram a extração dos compostos fenólicos em metanol 70% (v/v) por 3 h a 40°C da casca de banana proveniente do processamento industrial da fruta. Nesse subproduto obtido da agroindústria podem ter ocorrido diversas transformações bioquímicas, devido à presença de enzimas e choques mecânicos e, conseqüentemente a degradação dos compostos fenólicos.

Rebello et al. (2014) encontraram um elevado conteúdo de FT para a farinha da casca de banana madura, chegando a ordem de 29,2 EAG/g CBS, utilizando uma mistura de solventes (metanol, água e ácido fórmico, 50:48.5:1.5 v/v/v) e uma extração assistida por ultrassom. Os autores discutem que este conteúdo de FT obtido é maior do que o de frutas conhecidas por seus altos conteúdos de fenóis, tais como amora, mirtilo e uva. O elevado teor de FT presente na casca de banana está relacionado à ocorrência de importantes quantidades de flavonoides, principalmente das classes flavan-3-ols e flavonóis (SOMEYA; YOSHIKI; OKUDO, 2002; REBELLO et al., 2014; TSAMO et al., 2015).

O conteúdo de fenóis totais da CBL observado em nosso trabalho, 2,44 g EAG/100 g CBL ou 24,4 mg EAG/g CBL, foi semelhante ao apresentado por outros autores (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010a, GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b; REBELLO et al., 2014) e maior do que os valores reportados por Babbar et al. (2011) e Sulaiman et al. (2011). Em alguns casos, os métodos de extração empregados também foram similares (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b; REBELLO et al., 2014) e a principal diferença em relação aos demais procedimentos é o uso de um solvente GRAS (*Generally recognized as safe*), como o etanol, o que valoriza o trabalho realizado.

A extração de compostos fenólicos com o uso de solventes orgânicos é uma técnica comumente empregada, como observado pela compilação apresentada na Tabela 12. No entanto, o uso de solventes orgânicos na produção de alimentos é estritamente regulamentado, por exemplo, o caso do metanol, que não é considerado seguro para aplicação em alimentos (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b). A escolha do solvente para a extração de determinado composto depende do objetivo do estudo: 1) quantificação do componente ou 2) aplicação do composto na produção de alimentos e na formulação de produtos. No primeiro caso, o pesquisador pode utilizar um solvente orgânico não-seguro com a finalidade de obter o maior conteúdo possível sem se preocupar com custos e/ou rendimento, ao contrário, no segundo caso deve-se utilizar um solvente reconhecido pelos órgãos responsáveis como seguro e o processo de extração deve ser otimizado para aumentar o rendimento e reduzir os custos e o tempo de operação (GALANAKIS; TORNBERG; GEKAS, 2010; GALANAKIS, 2013).

O procedimento de extração desenvolvido e otimizado em nosso trabalho foi capaz de extrair de maneira eficiente e rápida os FT presentes na CBL, com apenas 1 min de extração e utilizando um solvente seguro. Além disso, o método de extração sólido-líquido é convencional e de fácil acesso à indústria e às instituições de ensino de todo o mundo. Em relação à matriz utilizada, a casca de banana é um subproduto da agroindústria que tem um custo acessível, tem ampla disponibilidade ao longo do ano e ainda representa uma fonte promissora para obtenção de compostos fenólicos. Soma-se a isso, o fato de que o uso de subprodutos do processamento de frutas, como fontes de compostos bioativos, auxilia no equilíbrio entre crescimento econômico e sustentabilidade.

Os resultados obtidos são promissores e demonstraram que a casca de banana é um subproduto com significativo teor de fenóis totais. Para alcançar melhores resultados de extração ainda são necessários mais estudos abordando a manipulação correta da casca, a inativação de enzimas fenoloxidasas previamente à extração, bem como o uso de novas técnicas de extração (GALANAKIS, 2013).

Ademais, mais pesquisas devem ser realizadas abordando o uso do extrato da casca de banana na formulação de alimentos, tais como bebidas e produtos cárneos, e também em ensaios clínicos para verificar seu potencial antioxidante *in vivo* na prevenção de doenças crônicas e degenerativas.

4. Conclusão

As variáveis [E:A] e temperatura foram as que apresentaram maior influência sobre o processo de extração, enquanto os demais parâmetros R-SS e agitação podem ser utilizados nos menores níveis estudados neste trabalho (2,5 g/100 mL e 200 rpm, respectivamente). A casca de banana demonstrou elevada atividade da enzima peroxidase, o que provocou a oxidação dos compostos fenólicos e a redução da capacidade antioxidante do extrato durante o processo de extração, desta maneira, uma etapa de inativação deve ser realizada antes da extração.

O uso da metodologia do planejamento fatorial, associada à análise de superfície de resposta, permitiu estudar de forma abrangente a recuperação de compostos fenólicos a partir da CBL. De acordo com a curva de contorno e a superfície de resposta obtidos no DCCR, as melhores condições para a extração de compostos fenólicos a partir da CBL foram: R-SS de 2,5 g/100 mL (1:40), [E:A] de 54% etanol e homogeneização com auxílio de Ultra Turrax por 30s a 11.000 rpm. O conteúdo de FT obtido com esse sistema de extração foi de 2,44 g EAG/100 g CBL. Os dados apresentados neste trabalho também demonstram a importância do processo de otimização na extração de compostos fenólicos a partir de matrizes vegetais.

Finalmente, extratos etanólicos ricos em compostos fenólicos podem ser obtidos a partir da casca de banana. No entanto, mais estudos devem ser realizados para melhorar as condições de extração e obter uma quantidade ainda maior de fenóis. O uso de tecnologias não convencionais de extração e estudos abordando o manuseio correto desse subproduto (pós-processamento) são chaves fundamentais para alcançar resultados promissores e inserir a casca de banana no mercado como material de partida para a obtenção de compostos fenólicos.

5. Referências

AINSWORTH, E.A.; GILLESPIE, K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. **Nature Protocols**, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007.

AJILA, C. M.; BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALÉRO, J. R.. Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerocheate chrysosporium* – Liberation and extraction of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p.1071-1080, 2011.

ATIEMO-OBENG, V.A.; PENNEY, W.R.; ARMENANTE, P. Solid-Liquid Mixing. In: PAUL, E. L.; ATIEMO-OBENG, V. A.; KRESTA, S. M. (Eds). **Handbook of Industrial Mixing: Science and Practice**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2004, p. 543-584.

BABBAR, N.; OBEROI, H.S.; UPPAI, D.S.; PATIL, R.T. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, v. 44, n.1, p. 391-396, 2011.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BOURZEIX, M.; REVILLA, E. Suitability of water/ ethanol mixtures for the extraction of catechins and proanthocyanidins from *Vitis vinifera* seeds contained in a winery by-product. **Seed Science and Technology**, v. 19, p. 542-552, 1991.

CACACE, J. E.; MAZZA, G. Mass transfer process during extraction of phenolics from milled berries. **Journal of Food Engineering**, v. 59, n. 4, p. 379-389, 2003.

CANO, P.; MARÍN, M.A.; FÚSTER, C. Effects of some thermal treatments on polyphenoloxidase and peroxidase activities of banana (*Musa cavendishii*, var *enana*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 51, n. 2, p. 223-231, 1990.

CASTRO, R.S.D.; CAETANO, L.; FERREIRA, G.; PADILHA, P.M.; SAEKI, M.J.; ZARA, L.F.; MARTINES, A.U.; CASTRO, G.R. Banana peel applied to the solid phase extraction of copper and lead from river water: preconcentration of metal ions with a fruit waste. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 50, p. 3446-3451, 2011.

CHEMAT, F.; VIAN, M.A.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products: concept and principles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 7, p. 8615-8627, 2012.

CICCO, N.; LANORTE, M.T.; PARAGGIO, M.; VIGGIANO, M.; LATTANZIO, V. An reproducible rapid and inexpensive Folin-Ciocalteu-method in determining phenolic of plant methanolic extracts. **Microchemical Journal**, v. 91, n. 1, p. 107-110, 2009.

CICCO, N.; LATTANZIO, V. The influence of initial carbonate concentration on the Folin-Ciocalteu Micro-Method for the determination of phenolics with low concentration in the presence of methanol: a comparative study of real-time monitored reactions. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 2, p. 840-848, 2011.

CLEMENTE, E. Purification and thermostability of isoperoxidase from oranges. **Phytochemistry**, v. 49, n. 1, p. 29-36, 1998.

EMAGA, T.H.; BINDELLE, J.; AGNEESESENS, R.; BULDGEN, A.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Ripening influences banana and plantain peels composition and energy content. **Tropical Animal Health and Production**, v. 43, n. 1, p. 171-177, 2011.

EMAGA, T.H.; ANDRIANAIVO, R.H.; WATHELET, B.; TCHANGO, J.T.; PAQUOT, M. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 590-600, 2007.

ESSIEN, J.P.; AKPAN, E.J.; ESSIEN, E.P. Studies on mould growth and biomass production using waste banana peel. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 13, p. 1451-1456, 2005.

FALLER, A.L.K.; FIALHO, E. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 6, p. 561-568, 2010.

FAOSTAT . FAO Statistical Database. **Agricultural data**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 20 set. 2014.

GALANAKIS, C. M. Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: A viewpoint of opportunities and challenges. **Food and Bioproducts processing**, v. 91, n. 4, p. 575-579, 2013.

GALANAKIS, C.M.; TORNBERG, E.; GEKAS, V. Recovery and preservation of phenols from olive waste in ethanolic extracts. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 85, n. 8, p. 1148-1155, 2010.

GOMES, J.F.S.; VIEIRA, R.R.; LETA, F.R. Colorimetric indicator for classification of bananas during ripening. **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 201-205, 2013.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R.; LOBO, M.G.; GONZÁLEZ, M. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1030-1039, 2010a.

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

HAMINIUK, C.W.; MACIEL, G.M.; PLATA-OVIEDO, M.S.V.; PERALTA, R.M. Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 10, p. 2023-2044, 2012.

KANAZAWA, K.; SAKAKIBARA, H. High content of dopamine, a Strong antioxidant, in Cavendish banana. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 844-848, 2000.

KARTHIKEYAN, A.; SIVAKUMAR, N. Citric acid production by Koji fermentation using banana peel as a novel substrate. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5552-5556, 2010.

LAFKA, T.-I.; SINANOGLU, V.; LAZOS, E.S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wine. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1206-1214, 2007.

MACDONALD, L.; SCHASCHKE, C.J. Combined effect of high pressure, temperature and holding time on polyphenoloxidase and peroxidase activity in banana (*Musa acuminata*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 6, p. 719-724, 2000.

MARKOM, M.; HASAN, M.; DAUD, W.R.W.; SINGH, H.; JAHIM, J.M. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, n. 3, p. 487-496, 2007.

MCEVILY A.J.; IYENGAR, R.; OTWELL, W.S. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 3, p. 253 – 273, 1992.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolic in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 5, p. 1523-1542, 2006.

OBEROI, H.S., VADLANI, P.V., SAIDA, L., BANSAL, S., HUGHES, J.D. Ethanol production from banana peels using statistically optimized simultaneous saccharification and fermentation process. **Waste Management**, v. 31, n. 7, p. 1476-1584, 2011.

PADAM, B.S., TIN, H.S., CHYE, F.Y., ABDULLAH, M.I. Banana by-product: a under-utilized renewable food biomass with great potential. **Journal of Food Science and Technology**, 2012. DOI: 10.1007/s13197-012-0861-2.

PARKIN, K.L. Enzymes. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. (Eds). **Fennema's Food Chemistry**. 4.ed. Boca Raton: CRC Press, 2008, p. 264-342.

PINELO, M.; DEL FABBRO, P.; MARCOZOCCO, L.; NUÑEZ, M.J.; NICOLI, M.C. Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts. **Food Chemistry**, v. 92, n. 1, p. 109-117, 2005b.

PINELO, M.; RUBILAR, M.; JEREZ, M.; SINEIRO, J.; NUÑEZ, M.J. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ration on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 2111-2117, 2005a.

PINELO, M.; ARNOUS, A.; MEYER, A.S. Upgrading of grape skin: significance of plant cell-wall structure components and extraction techniques for phenol release. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 11, p. 579-590, 2006.

REBELLO, L.P.G.; RAMOS, A.M.; PERTUZATTI, P.B.; BARCIA, M.T.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flour of banana (*Musa AAA*) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. **Food Research International**, v. 55, p. 397-403, 2014.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. - **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos: Uma Estratégia Sequencial de Planejamentos**. 1ª ed. Campinas: Casa do Pão – Editora. 2005. 326 p.

ROESLER, R. et al. Evaluation of the antioxidant properties of the brazilian cerrado fruit *Annona crassiflora* (Araticum). **Journal of Food Science**, v. 71, n. 2, p. 102–107, 2006.

SOMEYA, S.; YOSHIKI, Y.; OKUBO, K. Antioxidant compounds from bananas (*Musa Cavendish*). **Food Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 351-354, 2002.

SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; De FAVERI, D.M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidants activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, v. 81, n. 1, p. 200-208, 2007.

SUBAGIO, A.; MORITA, N. Changes in carotenoids and their fatty acid esters in banana peel during ripening. **Food Science and Technology International**, v. 3, n. 3, p. 264-268, 1997.

SULAIMAN, S.F.; YUSOFF, N.A.M.; ELDEEN, I.M.; SEOW, E.M.; SAJAK, A.A.B.; SUPRIATNO; OOI, K.L. Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 1, p. 1-10, 2011.

TAKEUCHI, T.M.; PEREIRA, C.G.; BRAGA, M.E.M.; MARÓSTICA JR, M.R.; LEAL, P.F.; MEIRELES, A.A. Low-pressure Solvent Extraction (Solid-liquid extraction, Microwave Assisted, and Ultrasound Assisted) from Condimentary Plants. In: MEIRELES, A.A. (Ed). **Extraction Bioactive Compounds for Food Products: Theory and Applications**. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2009, p. 137–218.

TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y.S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and *Folin-Ciocalteu* methods. **Food Chemistry**, v. 99, p. 835-841, 2005.

TSAMO, C.V.P.; HERENT, M-F.; TOMEKPE, K.; EMAGA, T.H.; QUETIN-LECLERCQ, J.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y.; ANDRE, C. Phenolic profiling in the pulp and peel of nine plantain cultivars (*Musa* sp.). **Food Chemistry**, v. 167, p.197-204, 2015.

VUONG, Q.V.; HIRUN, S.; ROACH, P.D.; BOWYER, M.C.; PHILIPS, P.A.; SCARLETT, C.J. Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. **Journal of Herbal Medicine**, v. 3, n. 3, p. 104-111, 2013.

YILMAZ, Y.; TOLEDO, R.T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/ wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grapes seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 41-44, 2006.

CAPÍTULO 3

QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DA POLPA E CASCA DE BANANA (*MUSA* sp.)

Artigo a ser submetido ao periódico *Food Chemistry*.

Gustavo Araujo Pereira^{1*}, Henrique Silvano Arruda¹, Gustavo Molina² e Glauca Maria Pastore¹

¹ Laboratório de Bioaromas e Compostos Bioativos, Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

gapereira.email@gmail.com.

² Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFJM.

CAPÍTULO 3

QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DA POLPA E CASCA DE BANANA (*MUSA* sp.)

Resumo: O presente trabalho teve por objetivo quantificar o conteúdo de compostos fenólicos totais (FT), flavonoides totais (CF) e atividade antioxidante da casca e polpa de banana cv. Prata. Dois métodos de extração foram utilizados para a obtenção dos extratos, um método clássico de extração sólido-líquido otimizado (E_{SL}) e outro moderno de extração assistida por ultrassom (E_{AU}). Independente do método de extração utilizado, a casca de banana apresentou os maiores valores de FT (2,44 g EAG/100 g CBL), CF (2,32 g EC/100 g CBL) e atividade antioxidante mensurada pelos métodos de DPPH (380,84 μmol EQT/g CBL; $IC_{50} = 71,74 \mu\text{g/mL}$), TEAC (325,84 μmol EQT/g CBL) e $ORAC_{FL}$ ($ORAC_{Total} = 994,33 \mu\text{mol}$ EQT/g CBL). A CBL apresentou conteúdo de FT e CF até 9,5 vezes maior do que a PBL. O método de E_{SL} extraiu mais FT do que a E_{AU} . A atividade antioxidante observada nas diferentes partes do fruto pode estar relacionada principalmente a presença de flavonoides. A polpa de banana apresentou menores valores de compostos fenólicos e atividade antioxidante do que a casca, no entanto, a banana é uma das frutas mais produzidas no mundo e, devido ao seu elevado consumo pode ser considerada como uma importante fonte natural de compostos antioxidantes. Os resultados obtidos em nosso trabalho fornecem suporte científico para futuras pesquisas *in vivo*, abordando o efeito da polpa e casca de banana na saúde. Além disso, o subproduto (casca) pode ser utilizado no desenvolvimento de novos produtos e na obtenção de extratos antioxidantes para aplicação em produtos alimentícios.

Palavras-chave: alimentos funcionais, flavonoides, ultrassom, ORAC, subprodutos.

1. Introdução

Nos últimos anos, diversas evidências epidemiológicas têm associado o consumo de frutas à diminuição do risco de doenças, tais como câncer, doenças cardiovasculares e disfunções neurológicas (WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011). Os compostos fenólicos merecem grande destaque dentre os metabólitos secundários responsáveis por apresentar essas propriedades funcionais (RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014). A ingestão de antioxidantes naturais é uma parte importante do mecanismo de defesa do corpo (LANDETE et al., 2012). Por estas razões, um grande esforço tem sido realizado para quantificar e caracterizar os compostos fenólicos antioxidantes em diferentes tecidos de plantas (IGNAT; VOLF; POPA, 2011).

O estresse oxidativo, definido como o desbalanço entre a produção de espécies reativas e o sistema de defesa antioxidante *in vivo*, apresenta um papel muito importante em diferentes condições patológicas. Neste contexto, tem sido sugerido que uma dieta rica em antioxidantes está inversamente relacionada ao desenvolvimento de diversas doenças. Desta maneira, o interesse em encontrar alimentos naturais com elevado potencial antioxidante cresceu muito nas últimas duas décadas, principalmente frutas que são frequentemente consumidas pelas pessoas, como a banana (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013). Com o constante crescimento da população mundial e a necessidade de novas fontes de compostos funcionais, o interesse na recuperação de compostos fenólicos e antioxidantes a partir de subprodutos agroindustriais também aumentou nos últimos anos (GALANAKIS, 2012).

A banana (*Musa* sp.) é um dos frutos tropicais mais consumidos no mundo por populações de alta e baixa renda em virtude do alto valor nutritivo e do baixo custo (PO, 2007). O Brasil é o quinto maior produtor mundial de banana e produziu no ano de 2013 mais de 7,1 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2014). Além do consumo *in natura*, existem no mercado diversos produtos obtidos da manufatura da banana. Embora o processamento da banana apresente benefícios

relacionados à conservação e variedade de produtos, existe um ponto desfavorável relacionado aos resíduos gerados (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009). A casca de banana representa de 30 - 40% do peso total da fruta e seu descarte inadequado provoca grande impacto ambiental (GONZÁLEZ-MONTELOLO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010b).

De acordo com o exposto, o presente trabalho teve por objetivo quantificar os compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a atividade antioxidante dos extratos da casca e polpa de banana cv. Prata madura. Dois métodos de extração foram utilizados para a obtenção dos extratos, um método clássico de extração sólido-líquido (E_{SL}) e outro moderno de extração assistida por ultrassom (E_{AU}) (AZMIR et al., 2013). A capacidade antioxidante dos extratos foi avaliada pelos ensaios de DPPH, TEAC e $ORAC_{FL}$. O estudo de compostos antioxidantes em frutas tropicais e seus subprodutos fornecem informações importantes acerca das possíveis propriedades funcionais dessas matrizes, além de fornecer suporte científico para o desenvolvimento de produtos alimentícios.

2. Material e Métodos

2.1. Reagentes Químicos

Os padrões analíticos ácido gálico, catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina, miricetina, quercetina e kaempferol e os reagentes *2,2-Diphenil-1-picrylhydrazyl* (DPPH), *(±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid* (Trolox), *2-2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride* (AAPH), *2,2'-Azobis(ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt* (ABTS) e fluoresceína sódica foram fornecidos pela *Sigma-Aldrich* (São Paulo, Brasil). Água ultrapura (18 MΩ/cm) foi utilizada (*Millipore, model CT Q3UV, USA*). Todos os outros reagentes químicos ou solventes foram de excelente grau analítico. Todos os produtos foram armazenados nas condições ideais segundo instruções dos fabricantes.

2.2. Matéria-prima (*Musa sp.*, Grupo AAB, Subgrupo Prata, cv. Prata)

As pencas de bananas verdes, variedade Prata, foram obtidas no CEASA (Centro de Abastecimento - Campinas, SP) antes do tratamento de amadurecimento com o gás etileno. As bananas foram lavadas e desinfetadas com uma solução de cloro (50 mg/L) por 15 min. O estágio de amadurecimento dos frutos foi controlado no Laboratório de Bioaromas e Compostos Bioativos, Universidade Estadual de Campinas (São Paulo, Brasil) a temperatura ambiente (25 - 30°C) até que o estágio 6 na escala de cor de *Von Loesecke* fosse alcançado (GOMES; VIEIRA; LETA, 2013).

O estágio de amadurecimento dos frutos foi caracterizado pela coloração da casca e polpa (*Konica Minolta Spectrophotometer, model CM -5, Japan*) e pelos parâmetros físico-químicos de sólidos solúveis totais (ST), pH e acidez titulável total (ATT) (GOMES; VIEIRA; LETA, 2013). A luminosidade (L*) e as coordenadas de cromaticidade a* e b* para a casca de banana foram de 64,6 ± 3,0; 7,7 ± 2,0 e 51,3 ± 5,0, respectivamente. A cor da polpa de banana foi

caracterizada por uma luminosidade de $74,6 \pm 1,0$, a^* de $3,2 \pm 0,4$ e b^* de $27,1 \pm 1,1$. ST, pH e ATT da polpa foram de $22,4 \pm 0,6$ °Brix; $4,7 \pm 0,2$ e $660,4 \pm 8,0$ mg de ácido málico/100 g, respectivamente.

Quando as bananas atingiram o grau de maturação desejado, a casca e a polpa foram manualmente separadas (relação casca:polpa, p/p, $38,0 \pm 5,44\%$), congeladas rapidamente com auxílio de gelo seco e liofilizadas (*Terroni, model LS 3000, Brazil*). O teor de umidade encontrado para a casca foi de $85,7 \pm 1,64\%$ e para a polpa foi de $67,5 \pm 0,65\%$. Então, a casca e a polpa liofilizadas foram moídas em moinho de facas (*Marconi, model MA340, Brazil*) até a obtenção de um pó fino (tamanho de partícula < 1 mm). O pó da casca de banana liofilizada (CBL) e o pó da polpa de banana liofilizada (PBL) foram acondicionados em recipientes plásticos e armazenados a -80°C (*Sanyo Electric Co., model MDF-C8V1, Japan*) até a realização das extrações.

2.3. Procedimento de extração

A extração foi realizada utilizando duas técnicas: *i*) extração sólido-líquido (E_{SL}) e *ii*) extração assistida por ultrassom (E_{AU}). A E_{SL} foi desenvolvida e otimizada em nosso laboratório para a casca de banana liofilizada (CBL, ver Capítulo 2) e polpa de banana liofilizada (PBL, dados não apresentados). As condições da E_{AU} foram definidas de acordo com os protocolos de análise de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (LEITE-LEGATTI et al., 2012; NERI-NUMA et al., 2013). Todos os procedimentos de extração foram realizados em triplicata e os sobrenadantes (extratos) obtidos foram transferidos para microtubos e armazenados a -80°C (*Sanyo Electric Co., model MDF-C8V1, Japan*) até o momento das análises.

2.3.1. Extração sólido-líquido (ESL)

A CBL (2,5 g) foi misturada com 100 mL de uma solução hidroalcoólica (etanol:água v/v, 54% etanol) por 30s utilizando um Ultra Turrax (11.000 rpm). Em

seguida, o homogenato foi centrifugado a 10.000 rpm por 11 min a 5°C (*Hettich Zentrifugen, model Rotanta 460R, Germany*).

A PBL (3,0 g) foi misturada com 30 mL de água ultrapura (*Milli-Q*) e a mistura foi levada em um banho de agitação (*New Brunswick Scientific Classic Series, model C76, USA*) por 90 min a 200 rpm e 75°C, em seguida a mistura foi centrifugada a 10.000 rpm por 11 min a 5°C. As extrações foram conduzidas em frasco Erlenmeyer adaptado para evitar o efeito vórtice, obtendo uma melhor mistura do sistema.

2.3.2. Extração assistida por ultrassom (EAU)

Para a E_{AU} , 10 mg de amostra (CBL ou PBL) foram colocadas em microtubos e misturados com 100 µL do solvente (Tabela 1). Em seguida, os microtubos contendo a mistura foram levados em um banho de ultrassom (*UNIQUE, model UCS-2850, 25 kHz, 120 W, Brazil*) equipado com timer digital por 30 min a 10°C. Após a extração, os microtubos foram centrifugados a 10.000 rpm por 11 min a 5°C.

Tabela 1: Relação de solventes utilizados na E_{AU} para cada método analítico.

Análise	Solvente
FT	Metanol P.A.
CF	Água Milli-Q
DPPH _{IC50}	Metanol P.A,
TEAC	Água Milli-Q
ORAC H	Tampão fosfato de potássio 75 mM, pH 7,4
ORAC L	RMCD 7% (p/v, acetona:água 1:1)

R-SS 1:100, *FT* compostos fenólicos totais, *CF* conteúdo de flavonoides totais, *DPPH_{IC50}* concentração final do extrato em µg/mL requerida para decrescer ou inibir 50 % da concentração inicial do DPPH*, *TEAC* Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox, *ORAC* Capacidade de absorção de radical oxigênio, *H* Hidrofílico e *L* Lipofílico, *R-SS* Relação sólido-solvente, *RMCD* β-Ciclodextrina metilada randomizada.

2.4. Procedimentos analíticos

2.4.1. Compostos fenólicos totais (*Folin Ciocalteu Micro-Assay*)

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin Ciocalteu como descrito por Cicco et al. (2009), com algumas modificações (AINSWORTH; GILLESPIE, 2007; CICCO; LATTANZIO, 2011). Em tubos de 10 mL foram adicionados 100 µL de amostra previamente diluída, 100 µL do reagente Folin Ciocalteu 50% (v/v) e 800 µL da solução de carbonato de sódio 5% (p/v). Após a mistura permanecer por 20 min a temperatura de 40°C, os tubos foram rapidamente resfriados e a absorbância foi medida a 760 nm (*Beckman UV/VIS, model DU-640, USA*). Metanol 50% foi utilizado para o preparo das soluções padrões e para diluir os extratos. Ácido gálico foi utilizado como padrão espectrofotométrico (Faixa Linear: 10 - 80 µg/mL; $y = 0,115x + 0,229$; $R^2 = 0,9903$) e o resultado final foi expresso como equivalentes de ácido gálico (g EAG/100 g de amostra liofilizada).

2.4.2. Flavonoides totais

O conteúdo de flavonoides totais (CF) foi determinado de acordo com o método desenvolvido por Zhishen, Mengcheng & Jianming (1999), com algumas adaptações (PAVAN; SANCHO; PASTORE, 2014). Em uma microplaca transparente contendo 96-compartimentos foram adicionados 28 µL de amostra previamente diluída em água ultrapura (*Milli-Q*), 110 µL de água e 8 µL de NaNO₂ 5% (p/v), a mistura foi homogeneizada por 2 min a 500 rpm em agitador de microplaca (*Eppendorf MixMate, model PCB-11, Germany*). Em seguida, foram adicionados 8 µL de AlCl₃ (6.H₂O) 10% (p/v) e novamente agitado por 3 min a 500 rpm. Após esta etapa, foram adicionados 56 µL de NaOH 1M e 67 µL de água. A mistura reacional foi homogeneizada por 30 s a 500 rpm e a absorbância foi medida a 510 nm em um leitor de microplaca (*NOVOstar, model BMG Labtech, Germany*), acompanhado de um *Software* de análise de dados *MARS Data Analysis* versão 1.3 (*BMG Labtech, Germany*). Água foi utilizada como branco.

Para a quantificação foi construída uma curva analítica utilizando catequina (Faixa Linear: 10 - 175 μM ; $y = 0,0007x - 0,0013$; $R^2 = 0,9933$) como padrão espectrofotométrico. O conteúdo de flavonoides totais foi expresso como g de equivalente de catequina (g EC/ 100 g de amostra liofilizada).

2.4.3. Capacidade de sequestrar o radical *2,2-Diphenil-1-picrylhydrazyl* (DPPH[•])

O ensaio de DPPH foi realizado de acordo com ROESLER et al. (2006), com algumas adaptações (LEITE-LEGATTI et al., 2012). Em uma microplaca transparente de 96-compartimentos foram colocados 50 μL do extrato previamente diluído em diferentes concentrações e 250 μL da solução de DPPH (0,004%, m/v). A placa contendo a mistura foi incubada por 30 min na ausência de luz. O controle da reação (reagente DPPH) foi preparado de acordo com o procedimento acima, sem a adição do extrato (metanol p.a foi utilizado como branco). A solução de DPPH foi preparada diariamente, estocada em frasco escuro e armazenado a 4°C até o uso. A porcentagem de diminuição em absorbância foi determinada a 517 nm utilizando um leitor de microplaca (*NOVOstar, model BMG Labtech, Germany*) e a capacidade de sequestrar radicais livres foi calculada de acordo com a equação (1):

Equação (1): $\% \text{ de Inibição} = ((A_{DPPH} - A_{\text{Extrato}})/A_{DPPH}) * 100$

onde, A_{DPPH} é a absorbância da solução de DPPH e A_{Extrato} da amostra.

O resultado de DPPH foi expresso em $\mu\text{mol EQT/g}$ e IC_{50} : O Trolox foi utilizado como padrão para construção da curva analítica (Faixa Linear: 10 – 250 μM ; $y = 0,287x + 3,93$; $R^2 = 0,9931$) e os resultados foram expressos como μmol de equivalentes Trolox ($\mu\text{mol EQT/ g}$ de amostra liofilizada). O valor de IC_{50} foi determinado por regressão linear e corresponde à concentração final do extrato de amostra em $\mu\text{g/mL}$ requerida para decrescer ou inibir 50 % da concentração inicial do DPPH[•].

2.4.4. Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC)

O ensaio TEAC foi realizado conforme o método descrito por Leite-Legatti et al. (2012). O ABTS^{•+} foi preparado utilizando 5 mL de uma solução de 2,2'-Azino-bis(ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) 7,0 mM e 88 µL de uma solução de persulfato de potássio 145 mM. O sistema foi mantido em repouso por 12 horas a temperatura ambiente e na ausência de luz. Em seguida, água ultrapura foi adicionada à solução até a obtenção de uma absorbância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm utilizando um leitor de microplaca (NOVOstar, model BMG Labtech, Germany). Em uma microplaca transparente de 96-compartimentos foram adicionados 50 µL do extrato previamente diluído e 250 µL da solução de ABTS. Após 6 min de incubação a temperatura ambiente a absorbância foi medida contra um branco (água ultrapura em substituição ao extrato). Uma curva analítica foi construída com padrão Trolox (Faixa Linear: 10 - 175 µM; $y = 0,571x - 1,002$; $R^2 = 0,9979$), e os resultados foram expressos como µmol de equivalentes Trolox (µmol EQT/ g de amostra liofilizada).

2.4.5. Capacidade de absorção de radical oxigênio (ORAC_{FL})

O ensaio ORAC_{FL} foi realizado de acordo com o método descrito por Prior et al. (2003) e Dávalos, Gómez-cordovés & Bartolomé (2004), com algumas adaptações (LEITE-LEGATTI et al., 2012; NERI-NUMA et al., 2013). Todos os reagentes e as diluições dos extratos foram preparados diariamente. As reações foram realizadas em microplaca escura de poliestireno de 96-compartimentos específicas para leitura de fluorescência. O ensaio foi realizado para analisar a fração hidrofílica (ORAC_{FL} H) e lipofílica (ORAC_{FL} L) e o somatório das frações representa a capacidade de absorção de radical oxigênio total (ORAC_{FL} Total) das amostras (CBL e PBL).

ORAC_{FL} H: Em uma microplaca foram adicionados 20 µL dos extratos previamente diluídos, 120 µL de fluoresceína (0,378 µg/mL, p/v) e 60 µL de AAPH (2-2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride; 108 mg/ml, p/v). A amostra,

padrões e reagentes foram preparados ou diluídos em tampão fosfato de potássio 75 mM, pH 7,4.

ORAC_{FL} L: Em uma microplaca foram adicionados 20 µL dos extratos previamente diluídos, 120 µL de fluoresceína (0,378 µg/mL, p/v) e 120 µL de AAPH (108 mg/ml, p/v). O preparo dos padrões de Trolox e a diluição das amostras foram realizados com o uso de RMCD 7% (p/v, acetona:água 1:1). A solução de fluoresceína e de AAPH foram preparadas em tampão fosfato de sódio 75 mM, pH 7,4.

A solução de AAPH foi preparada imediatamente antes de ser utilizada e para o branco o extrato foi substituído por tampão fosfato 75 mM (pH 7,4) no *ORAC_{FL} H* e *L*. A intensidade da fluorescência foi monitorada logo após a adição do AAPH durante 80 ciclos de um minuto em um leitor de microplaca (*NOVOstar, model BMG Labtech, Germany*). A temperatura de incubação durante a leitura foi de 37°C e os seguintes filtros de leitura foram utilizados: excitação 485 nm e emissão 520 nm.

Uma curva analítica foi elaborada com padrão Trolox (para *ORAC H*: Faixa linear: 50 - 800 µM; $y = 0,0454x + 3,732$; $R^2 = 0,9944$; e para *ORAC L*: 65 - 1.040 µM; $y = 0,0244x + 4,970$; $R^2 = 0,9899$) e os resultados foram expressos em µmol de equivalentes Trolox (µmol EQT/ g de amostra liofilizada). Com base na área sob a curva de decaimento da fluoresceína *versus* tempo (AUC) da amostra e do branco foi calculado a área útil (NAUC) e a partir desta e da curva analítica (NAUC *versus* concentração de Trolox) foi possível encontrar o *ORAC_{FL}* da amostra, como descrito nas seguintes equações:

Equação (2):
$$AUC = 1 + \sum_{i=1}^{i=80} f_i/f_0$$

Onde, f_0 representa a fluorescência obtida no tempo 0 e f_i a fluorescência obtida nos tempos intermediários entre 0 e 80 min.

Equação (3):
$$NAUC = AUC_{Extrato} - AUC_{Branco}$$

Onde, $AUC_{Extrato}$ é a área sob a curva para a amostra e AUC_{Branco} para o branco.

2.5. Análise estatística

Os resultados de FT, CF, TEAC e $ORAC_{FL}$ foram avaliados estatisticamente por meio da ANOVA de dois fatores (*factorial two-way*) e o resultado de $DPPH_{IC50}$ foi analisado por meio da ANOVA de um fator (*one-way*). Quando constatada diferença estatística pelo teste F ($p < 0,05$), os tratamentos foram comparados pelo teste de *Tukey HSD* utilizando nível de significância de 5%. Todas as análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software *STATISTICA 8.0* (*StatSoft, USA*). Os resultados estão apresentados como média \pm desvio padrão da triplicata de cada procedimento analítico.

3. Resultados e Discussões

A capacidade antioxidante e o conteúdo de compostos fenólicos totais (FT) e flavonoides totais (CF) da casca e polpa de banana foram estudados. Dois métodos de extração foram utilizados para a obtenção dos extratos, um método clássico de extração sólido-líquido (E_{SL}) e outro moderno de extração assistida por ultrassom (E_{AU}) (AZMIR et al., 2013). A capacidade antioxidante dos extratos foi avaliada pelos ensaios de DPPH, TEAC e $ORAC_{FL}$. Os resultados de FT, CF e atividade antioxidante para a casca e polpa de banana estão dispostos na Tabela 2.

3.1. Conteúdo de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas e apresentam propriedades antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória e antioxidante. Por estas razões, estes compostos têm recebido muita atenção nos últimos anos e um grande esforço tem sido realizado para quantificar e caracterizar os fenóis em diferentes tecidos de plantas (IGNAT; VOLF; POPA, 2011; RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014).

De acordo com Silva et al. (2014), o conteúdo FT em frutas pode ser classificado em três categorias: baixo (< 500 mg EAG/100 g), médio (500-2500 mg EAG/100 g) e elevado (> 2500 mg EAG/100 g) para resultados expressos em base seca. A Tabela 2 apresenta o conteúdo de FT para a casca e polpa de banana, expressos como equivalentes de ácido gálico (g EAG/100 g).

Tabela 2: Comparação dos fenólicos totais, conteúdo de flavonoides totais e atividade antioxidante da CBL e PBL avaliados por distintas técnicas de extração.

Análise	CBL		PBL	
	E_{SL}	E_{AU}	E_{SL}	E_{AU}
FT (g EAG/100 g)	2,44 ± 0,01 ^A	0,93 ± 0,01 ^B	0,14 ± 0,01 ^D	0,25 ± 0,01 ^C
CF (g EC/100 g)	2,32 ± 0,02 ^A	0,56 ± 0,01 ^B	0,11 ± 0,01 ^D	0,21 ± 0,01 ^C
TEAC (µmol EQT/g)	325,84 ± 11,31 ^A	48,59 ± 0,84 ^B	11,05 ± 0,71 ^C	4,20 ± 0,43 ^C
ORAC H (µmol EQT/g)	420,38 ± 23,51 ^A	106,99 ± 0,70 ^B	37,64 ± 0,12 ^C	28,76 ± 0,47 ^C
ORAC L (µmol EQT/g)	573,95 ± 2,96 ^A	351,50 ± 10,22 ^B	42,52 ± 0,87 ^C	51,01 ± 2,09 ^C
ORAC Total (µmol EQT/g)	994,33 ± 20,56 ^A	458,49 ± 10,21 ^B	80,16 ± 0,87 ^C	79,77 ± 2,49 ^C

FT Fenóis totais, CF conteúdo de flavonoides totais, TEAC Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox, ORAC Capacidade de absorção de radical oxigênio, H Hidrofílico e L Lipofílico, CBL pó da casca de banana liofilizada, PBL pó da polpa de banana liofilizada, E_{SL} extração sólido-líquido, E_{AU} extração assistida por ultrassom. As letras maiúsculas (ABC) comparam os resultados obtidos da interação entre método de extração e parte da fruta analisada. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Como pode ser observado na Tabela 2, a CBL apresentou elevado conteúdo de FT, chegando a 2,44 g EAG/100 g CBL, quando foi utilizado o sistema de extração E_{SL} (solvente etanol:água v/v, 54% etanol) e valores menores

de FT foram obtidos quando a extração foi realizada em ultrassom com o uso de metanol P.A. , atingindo 0,93 g EAG/ 100 g CBL. Os melhores resultados de FT para a PBL foram encontrados na E_{AU} e com o uso de metanol P.A. como solvente (0,25 g EAG/ 100 g PBL). Independente do método de extração utilizado a CBL apresentou conteúdo de FT e CF até 9,5 vezes maiores do que a PBL.

Geralmente, a casca e a semente das frutas apresentam maior conteúdo de fitoquímicos do que a parte comestível, o que torna esses subprodutos fontes importantes de nutracêuticos (GALANAKIS, 2012, 2013). Nessa perspectiva, a casca de banana apresentou elevado conteúdo de compostos fenólicos e pode ser considerada uma fonte renovável e de baixo custo para a obtenção de compostos bioativos antioxidantes.

Outra observação importante é que o método de E_{SL} extraiu mais FT do que a E_{AU} . De acordo com Sasidharan et al. (2011), a extração é a primeira etapa de qualquer estudo de compostos bioativos presentes em plantas medicinais e apresenta um papel muito importante no resultado final. Os fatores mais comuns que afetam o processo de extração são as propriedades ou natureza da parte da planta analisada (folhas, caule, flores e frutos), química do composto alvo e parâmetros associados à técnica de extração (AZMIR et al., 2013; IGNAT; VOLFF; POPA, 2011).

Diversos estudos reportaram o conteúdo de FT da casca de banana e os resultados obtidos variam de valores baixos (3,8 mg EAG/g casca seca) até elevadas quantidades (4,7 g EAG/100 g CBL), o que pode estar relacionado a variedade analisada, local e forma de cultivo, grau de maturação do fruto e o clima da região (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010; BABBAR et al., 2011; SULAIMAN et al., 2011)

Além dos fatores agrícolas, o preparo da amostra, a remoção de substâncias indesejáveis e o método de extração são etapas importantes na quantificação de compostos fenólicos e atividade antioxidante (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011; KHODDAMI; WILKES; ROBERTS, 2013); sendo que as variações nas características morfológicas e físico-químicas de cada material de planta

devem ser levadas em consideração para a escolha adequada destes procedimentos (KHODDAMI; WILKES; ROBERTS, 2013). De acordo com a Tabela 2, o uso de um método moderno de extração (E_{AU}) não garantiu o melhor resultado/eficiência na quantificação de FT e atividade antioxidante, o que demonstra a importância de estudar e otimizar a técnica de extração para cada matriz vegetal, adequando as condições de extração.

González-Montelongo, Lobo & González (2010a,b) estudaram o efeito de solvente, tempo, temperatura e número de extrações na extração sólido-líquido de compostos fenólicos a partir da casca de banana liofilizada cv. Grande Naine e observaram valores de 0,031 g EAG/100 g CBL a 3,1g EAG/100 g CBL. Rebello et al. (2014), utilizando uma mistura de solventes (metanol, água e ácido fórmico, 50:48,5:1,5 v/v/v) e uma extração assistida por ultrassom, encontraram elevado conteúdo de FT para a farinha da casca de banana madura (FCB), na ordem de 2,92 g EAG/100 g FCB. Em nosso trabalho foi observado um valor menor, 0,93 g EAG/100 g CBL, utilizando a extração assistida por ultrassom.

Os valores de FT encontrados em nosso trabalho para a polpa de banana, entre 0,45 a 0,81 mg EAG/g polpa *in natura* – PIN, foram semelhantes aos reportados por Lim, Lim & Tee (2007) e Alothman, Bhat & Karim (2009), valores na ordem de 0,51 EAG mg/g PIN e 0,72 EAG mg/g PIN, respectivamente. Sun et al. (2002) quantificou os compostos fenólicos livres (solúveis) e ligados (insolúveis) presentes na polpa de banana, observando um conteúdo de aproximadamente 0,90 mg EAG/g de PIN. Segundo os autores, os compostos fenólicos livres representam 62,1% do conteúdo de fenóis totais (livres + ligados) na polpa de banana. O conteúdo de FT encontrado em nosso trabalho para a polpa de banana foi de 0,81 mg EAG/g PIN e representa apenas a fração de compostos fenólicos solúveis no solvente da extração (fenóis livres).

A polpa de banana geralmente apresenta menor conteúdo de (poli) fenóis do que a casca de banana (Tabela 2) e outros frutos tropicais, como a manga e o abacaxi (SILVA et al., 2014). No entanto, a banana é uma das frutas mais produzidas no mundo, e devido ao seu elevado consumo pode ser considerada

como uma importante fonte natural de compostos antioxidantes (PO, 2007), além de ser uma boa fonte de diversos nutrientes (AURORE; PARFAIT; FAHRASMANE, 2009).

O conteúdo de flavonoides totais (CF) foi de 2,32 g EC/100g para a CBL e 0,21 g EC/100g para a PBL. O CF observado representa de 80 a 90% dos valores de FT encontrados para polpa e casca de banana, respectivamente. Esses resultados indicam que os flavonoides representam um grupo de compostos fenólicos importantes na banana e podem estar relacionados à atividade antioxidante das diferentes partes do fruto.

3.2. Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante total (TAC) é uma maneira convencional de avaliação do nível total de substâncias antioxidantes em alimentos e foi utilizado neste estudo para determinar a atividade antioxidante coletiva (todos os compostos presentes no extrato) das amostras (LAKO et al., 2007). A capacidade antioxidante dos extratos foi quantificada por três diferentes ensaios com o objetivo de avaliar: *i*) o consumo de radicais livres pelos antioxidantes (DPPH_{IC50} e TEAC) e *ii*) a habilidade do extrato antioxidante em proteger uma molécula alvo exposta a uma fonte de radicais livres (ORAC_{FL}) (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013).

3.2.1. DPPH e TEAC

Ensaio espectrofotométrico baseado na transferência de elétrons quantificam a capacidade de um antioxidante em reduzir um oxidante, ao qual provoca mudanças de cor no sistema reacional quando reduzido. A capacidade redutora de uma amostra para determinado radical não está diretamente relacionada à capacidade de sequestrar uma diversidade de radicais livres *in vivo* (espécies reativas de oxigênio, nitrogênio, etc.). No entanto, esse tipo de análise é um parâmetro antioxidante importante e utilizado com frequência nos centros

acadêmicos e no setor industrial como uma etapa de *screening*, devido ao elevado custo de ensaios celulares e intervenções clínicas em animais (APAK et al., 2007; LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013).

A Tabela 3 apresenta os resultados de DPPH para a casca e polpa de banana, bem como para os principais compostos fenólicos presentes nessas matrizes conforme descrito na literatura (SOMEYA; YOSHIKI; OKUBO, 2002; REBELLO et al., 2014; TSAMO et al., 2015).

Tabela 3: Capacidade antioxidante da CBL e PBL e dos principais compostos antioxidantes

Amostra	DPPH_{IC50} (µg/mL)	DPPH (µmol EQT/g)
CBL (<i>E_{SL}</i>)	71,74 ± 0,09 ^C	380,37 ± 8,37 ^A
CBL (<i>E_{AU}</i>)	393,44 ± 6,98 ^B	63,07 ± 0,67 ^B
PBL (<i>E_{SL}</i>)	<i>n.d*</i>	<i>n.d*</i>
PBL (<i>E_{AU}</i>)	690,97 ± 4,31 ^A	48,86 ± 0,65 ^C

Padrão	DPPH_{IC50} (µg/mL)	DPPH (mol TE/ mol padrão)[#]
<i>C</i>	4,18 ± 0,03 ^b	2,10 ± 0,06 ^d
<i>EC</i>	3,72 ± 0,06 ^d	2,20 ± 0,06 ^{cd}
<i>GC</i>	3,94 ± 0,04 ^c	2,71 ± 0,24 ^{ab}
<i>EGC</i>	3,53 ± 0,06 ^e	2,72 ± 0,05 ^{ab}
<i>MI</i>	3,24 ± 0,06 ^f	2,56 ± 0,05 ^{bc}
<i>QE</i>	3,02 ± 0,07 ^g	3,10 ± 0,28 ^a
<i>KE</i>	7,43 ± 0,09 ^a	1,10 ± 0,04 ^e

CBL pó da casca de banana liofilizada, *PBL* pó da polpa de banana liofilizada, *E_{SL}* extração sólido-líquido, *E_{AU}* extração assistida por ultrassom. *n.d** não determinado. Flavan-3-ols: *C* Catequina, *EC* Epicatequina, *GC* Galocatequina, *EGC* Epigalocatequina. Flavonóis: *MI* Miricetina, *QE* Quercetina, *KE* Kaempferol. # resultado expresso em mol trolox/mol de padrão, os maiores valores representam maior atividade. *Nas colunas:* letras maiúsculas comparam os valores entre as amostras e letras minúsculas comparam entre os padrões. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de *Tukey* ($p > 0,05$).

Os menores valores de IC_{50} indicam elevada atividade antioxidante. O IC_{50} do extrato de CBL obtido por E_{SL} foi de 71,74 $\mu\text{g/mL}$, um valor menor do que os extratos de CBL e PBL obtidos por E_{AU} , 393,44 $\mu\text{g/mL}$ e 690,97 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Para o resultado de DPPH expresso em equivalentes Trolox, o extrato de CBL também apresentou os maiores valores de atividade antioxidante, na ordem de 380,37 $\mu\text{mol EQT/g}$. Conforme a Tabela 2 e 3, a CBL apresentou elevado conteúdo de FT e os maiores valores de atividade antioxidante foram observados nos extratos desse subproduto. De acordo com Lako et al. (2007), o conteúdo total de compostos fenólicos também é um bom indicador da capacidade antioxidante e estudos tem demonstrado uma elevada correlação entre TAC e FT. No presente trabalho, o IC_{50} da casca de banana foi menor do que da casca de abacaxi (1,13 mg/mL) (LI et al., 2014) e maior do que o do bagaço de uva (39 $\mu\text{g/mL}$) (RUBERTO et al., 2007).

O método de DPPH também foi utilizado para avaliar a atividade antioxidante de sete compostos fenólicos encontrados na casca e na polpa de banana (Tabela 3) (SOMEYA; YOSHIKI; OKUBO, 2002; REBELLO et al., 2014; TSAMO et al., 2015). A capacidade dos compostos puros em sequestrar o radical DPPH foi na seguinte ordem: Quercetina (*QE*) > Miricetina (*MI*) > Epigallocatequina (*EGC*) > Epicatequina (*EC*) > Galocatequina (*GC*) > Catequina (*C*) > Kaempferol (*KE*) para o resultado expresso em $\mu\text{g/mL}$ e $QE > MI > EGC = GC > EC = C > KE$ para o resultado expresso em mol trolox/mol de padrão. Brevemente, quercetina foi o flavonoide que apresentou maior atividade antioxidante e o flavonol kaempferol foi o menos ativo. Os estereoisômeros de flavan-3-ols (catequina e epicatequina) e (galocatequina e epigallocatequina) apresentaram os mesmos valores de DPPH. Li et al. (2014) também reportaram que a catequina e seu epímero apresentaram os mesmos níveis de capacidade de sequestrar o DPPH*.

As catequinas ou flavan-3-ols são moléculas produzidas pelo metabolismo vegetal, sendo a catequina e a epicatequina os estereoisômeros mais comuns encontrados na natureza. Alguns estudos têm demonstrado que esses isômeros apresentam propriedades antioxidantes semelhantes e ainda que a *GC* e *EGC*

apresentam atividade antioxidante maior do que a *C* e *EC*, devido ao maior grau de hidroxilação destes compostos (GUO et al., 1999; IACOPINI et al., 2008; LI et al., 2014).

A atividade antioxidante de um flavonoide está relacionada à sua estrutura química, principalmente em relação à posição e o número de hidroxilas, duplas ligações e a ressonância do anel aromático (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002), o que conferem alta reatividade, baixo potencial de redução e um maior fator estequiométrico (número de radicais que cada antioxidante é capaz de neutralizar) aos fenóis. Além disso, os radicais intermediários formados após a oxidação dos flavonoides são relativamente estáveis (VAN ACKER et al., 1996; LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013). De acordo com Apak et al. (2007), a quercetina é um composto que possui essas características e apresentou atividade antioxidante maior do que outros flavonoides em diferentes ensaios antioxidante *in vitro*. Para maiores informações sobre a estrutura química dos fenóis e atividade antioxidante consultar Van Acker et al. (1996) e Heim, Tagliaferro & Bovilya (2002).

Os compostos fenólicos puros apresentaram valor de IC_{50} menor (3,02 a 7,43 $\mu\text{g/mL}$) do que os extratos de CBL (71,74 $\mu\text{g/mL}$) e PBL (690,97 $\mu\text{g/mL}$). No entanto, a atividade antioxidante das amostras está relacionada à presença de diferentes substâncias antioxidantes. Soma-se a isso, o fato de que extratos de plantas são complexos, devido à presença de outros compostos solúveis no solvente de extração, como monossacarídeos, aminoácidos e sais minerais. Desta maneira, levando em consideração a diferença de pureza entre padrão analítico e extrato da fruta, os extratos etanólico e metanólico da casca e polpa de banana podem ser considerados como antioxidantes eficientes na neutralização de radicais não fisiológicos (DPPH \bullet e ABTS \bullet^{+}).

Em relação aos resultados do ensaio antioxidante TEAC (Tabela 2), a CBL apresentou atividade antioxidante na ordem de 325,84 $\mu\text{mol EQT/g CBL}$ para E_{SL} e 48,59 $\mu\text{mol EQT/g CBL}$ para E_{AU} . Esses resultados foram muito maiores do que os valores observados para a PBL, resultado de 11,05 $\mu\text{mol EQT/g PBL}$ e 4,20

$\mu\text{mol EQT/g PBL}$ para os extratos obtidos por E_{SL} e E_{AU} , respectivamente. As frutas e os subprodutos agroindustriais apresentam diferentes propriedades antioxidantes devido às variações no conteúdo de compostos fenólicos, carotenoides, flavonoides e vitaminas (ALOTHMAN; BHAT; KARIM, 2009). De acordo com o teste de comparação de médias (*Teste Tukey*; $p < 0,05$), o método de extração não influenciou na quantificação da atividade antioxidante do extrato da PBL mensurada pelo ensaio TEAC, enquanto um resultado contrário foi observado para o extrato da casca. González-Montelongo, Lobo & González (2010a,b) também avaliaram a capacidade do extrato da casca de banana em sequestrar o radical TEAC e observaram elevados valores de atividade antioxidante.

3.2.2. ORAC_{FL}

Os compostos fenólicos antioxidantes devem reagir com as espécies reativas em uma velocidade maior do que a reação dos radicais com as biomoléculas e, desta maneira, proteger os componentes celulares dos efeitos deletérios da oxidação. De acordo com esse conceito foram desenvolvidos métodos antioxidantes que levam em consideração a competição entre a reação radical-substrato e antioxidante-radical. O ensaio ORAC_{FL} quantifica a inibição de radicais peroxil pelos antioxidantes presentes no extrato da amostra e reflete um sistema ao qual antioxidante e substrato competem por esses radicais (APAK et al., 2007).

A ORAC_{FL} dos extratos da casca e polpa de banana foi quantificada. Conforme os resultados apresentados na Tabela 2, a casca apresentou elevada atividade antioxidante para o sistema hidrofílico (106,99 a 420,38 $\mu\text{mol EQT/ g CBL}$) e lipofílico (351,50 a 573,95 $\mu\text{mol EQT/ g CBL}$). Enquanto isso, valores muito menores de atividade antioxidante foram observados para a polpa, independente do método de extração utilizado. Rebello et al. (2014) estudaram a atividade antioxidante da farinha da casca de banana madura e reportaram valores de ORAC-*H* semelhantes aos obtidos no presente trabalho, na ordem de 435,5 μmol

EQT/g. O extrato da casca de banana obtido a partir da E_{SL} apresentou maior atividade antioxidante, ORAC Total de 994,33 μmol EQT/ g CBL, em comparação ao método de E_{AU} , 458,49 μmol EQT/ g CBL. Para a polpa, os valores de ORAC observados nos dois métodos de extração foram estatisticamente iguais ($p < 0,05$), demonstrando que a técnica de extração não influenciou no resultado final de ORAC Total para essa parte da fruta.

O ORAC-*L* apresentou maiores valores do que o ORAC-*H* para as duas partes analisadas da fruta. Outros compostos antioxidantes também podem estar contribuindo para a elevada atividade antioxidante observada na casca de banana, como os carotenoides. De acordo com Subagio & Morita (1997) a casca de banana apresenta α - e β -caroteno, e ainda luteína como carotenoide majoritário. A presença de múltiplos antioxidantes aumenta a atividade antioxidante devido às interações entre estes compostos (NIKI, 2010). Diversos estudos têm demonstrado que determinados compostos fenólicos apresentam interações sinérgicas com o β -caroteno, luteína e licopeno na preservação da integridade fisiológica de células expostas à radicais livres (DE KOK; VAN BREDA; MANSON, 2008; MILDE; ELSTNER; GRASSMANN, 2007; TROMBINO et al., 2004).

3.2.3. Casca e polpa de banana: potencial antioxidante

A elevada atividade antioxidante *in vitro* observada nos diferentes ensaios (DPPH_{IC50}, TEAC e ORAC_{FL}) para a casca de banana pode estar relacionada aos compostos antioxidantes solúveis no solvente extrator utilizado (etanol ou metanol). No entanto, o potencial antioxidante total da casca e polpa de banana pode ser maior devido à presença de outros compostos não extraídos e/ou quantificados, por exemplo, os carotenoides e os compostos fenólicos ligados à parede celular (ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNA-SALDÍVAR, 2014). Alguns estudos têm revelado que a casca e polpa de banana apresentam compostos funcionais importantes para a indústria de alimentos e para a saúde do ser humano (Tabela 4). A Tabela 4 apresenta de maneira resumida as principais

classes de compostos antioxidantes e/ou com alguma propriedade funcional encontrados na casca e polpa de banana madura, descritos na literatura.

Tabela 4: Principais classes de compostos antioxidantes encontrados na casca e polpa de banana.

Parte do fruto	Classe	Compostos identificados	Referências
Casca	Carotenoides	α - e β -caroteno, luteína, violaxantina, auroxantina, neoxantina, isoluteína, α - e β -criptoxantina.	Subagio, Morita & Sawada (1996) e Subagio & Morita (1997)
	Flavonoides e Taninos Condensados	Flavan-3-ols, flavonóis, procianidinas e prodelfinidinas.	Rebello et al. (2014)
Casca e Polpa	Ácidos Fenólicos e Flavonoides	Ácido ferúlico, rutina, quercetina, kaempferol e catequina.	Tsamo et al. (2015).
	Catecolaminas e Flavonoides	Dopamina, L-Dopa, naringina e rutina.	Kanazawa & Sakakibara (2000) e González-Montelongo, Lobo & González (2010a).
	Flavan-3-ols	Catequina, epicatequina e galocatequina.	Someya, Yoshiki & Okubo (2002) e Bennett et al. (2010)
	Flavonóis	Kaempferol, miricetina e quercetina.	Lako et al. (2007) e Kevers et al. (2007).
Polpa	Ácidos fenólicos	<i>Ácidos fenólicos livres:</i> gálico, protocatecuico, vanílico e siringico. <i>Ácidos fenólicos conjugados a parede celular:</i> gálico, protocatecuico, <i>p</i> -hidroxibenzóico, gentísico, cafeico, vanílico, siringico, <i>p</i> -cumárico, ferúlico, sinápico e salicílico.	Russell et al. (2009).
	Fitoesteróis	β -sitosterol, campesterol e estigmasterol	Vilela et al. (2014)

Como pode ser observado na Tabela 4, o elevado teor de FT presente na casca de banana pode estar relacionado à ocorrência de importantes quantidades de flavonoides, principalmente das classes flavan-3-ols e flavonóis (SOMEYA; YOSHIKI; OKUBO, 2002; REBELLO et al., 2014; TSAMO et al., 2015). A polpa de

banana contém flavonoides e também ácidos fenólicos livres e conjugados à parede celular que podem contribuir para a atividade antioxidante (RUSSELL et al., 2009). Os ácidos fenólicos são frequentemente incluídos na dieta e têm sido largamente estudados devido às suas propriedades funcionais, tais como antioxidante, antitumoral e antimicrobiana, dentre outras (HELENO et al., 2014).

A banana é um dos frutos mais consumidos no mundo por populações de alta e baixa renda em virtude do alto valor nutritivo e do baixo custo (PO, 2007). A polpa de banana apresenta compostos funcionais importantes para a saúde, como os fenóis (KEVERS et al., 2007; LAKO et al., 2007; RUSSELL et al., 2009) e oligossacarídeos (DER AGOPIAN et al., 2008). Além disso, o consumo destes compostos associado ao estilo de vida saudável pode auxiliar na manutenção do bem-estar físico (LANDETE, 2012; SLAVIN, 2013). Desta maneira, a banana pode ser considerada como uma das principais frutas tropicais com propriedades funcionais presente nas refeições diárias de diferentes populações (FAHRASMANE; PARFAIT; AURORE, 2014). Poucos trabalhos relatam o efeito da parte comestível (polpa) e não-comestível (casca) da banana na saúde do ser humano.

Vijayakumar, Presannakumar & Vijayalakshmi (2008) estudaram a atividade antioxidante dos flavonoides presentes na polpa de banana em ratos machos *Sprague–Dawley* e concluíram que uma dieta equilibrada contendo bananas pode ser eficaz na proteção do organismo contra o estresse oxidativo. Ademais, o consumo de bananas pode aumentar a concentração de melatonina sérica e o nível de antioxidantes no sangue (SAE-TEAW et al., 2013). Em relação à casca de banana, o extrato desse subproduto foi utilizado como antidepressivo (TEE; HASSAN, 2011) e no tratamento da hiperplasia benigna da próstata em camundongos (AKAMINE; KOYAMA; YAZAWA, 2009).

De acordo com uma revisão de estudos farmacológicos da polpa e casca de banana realizada por Imam & Akter (2011) e Lim (2012), os usos tradicionais da planta no tratamento de diarreias, disenteria, úlcera, diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares apresentam validade científica. No entanto, ainda não

foram realizados estudos clínicos em humanos para comprovar a eficiência do uso destas partes da banana na saúde.

A casca e a polpa de banana apresentaram elevada atividade antioxidante que pode estar relacionada principalmente a presença de flavonoides. Em nosso trabalho apresentamos a atividade antioxidante destas duas partes da fruta mensurada por meio dos principais ensaios antioxidantes (DPPH, TEAC e ORAC_{FL}) e também demonstramos a importância do estudo e da escolha do método de extração na quantificação da atividade antioxidante. Este estudo é o primeiro passo para verificar os benefícios do consumo de bananas na saúde do ser humano, pois ensaios antioxidantes fornecem apenas dados em relação à inibição de radicais *in vitro* (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013). Deve ser lembrado que a ação dos compostos antioxidante de frutas no organismo pode ser perdida ou alterada devido ao processo de digestão, o que aumenta a complexidade dos estudos de biodisponibilidade (SELMA; ESPÍN; TOMÁS-BARBERÁN, 2009; SCHAUSS, 2013). Os resultados obtidos no presente trabalho fornecem suporte científico para futuras pesquisas *in vivo* abordando o efeito da polpa e casca de banana na saúde (FRAGA; OTEIZA; GALLEANO, 2014), bem como o uso do subproduto (casca) no desenvolvimento de novos produtos e na obtenção de extratos antioxidantes para aplicação em produtos alimentícios (GALANAKIS, 2012, 2013).

4. Conclusão

A casca de banana apresentou maior conteúdo de fenóis totais (2,44 g EAG/100 g CBL), flavonoides totais (2,32 g EC/100 g CBL) e atividade antioxidante (DPPH: 380,84 μmol EQT/g CBL; IC_{50} = 71,74 $\mu\text{g/mL}$; TEAC = 325,84 μmol EQT/g CBL; $\text{ORAC}_{\text{FL Total}}$ = 994,33 μmol EQT/g CBL) do que a polpa de banana, independente do método de extração utilizado. O método de extração sólido-líquido otimizado foi mais eficiente em comparação à extração assistida por ultrassom, o que demonstra a importância da escolha e do estudo da técnica de extração na quantificação de compostos antioxidantes em matrizes vegetais. Independente do método de extração utilizado, a CBL apresentou conteúdo de FT e CF até 9,5 vezes maiores do que a PBL.

Por meio deste estudo foi possível verificar que a polpa e a casca de banana apresentam compostos fenólicos antioxidantes. Mais estudos devem ser realizados para verificar a influência do consumo desse fruto tropical na saúde do corpo humano e também pesquisas abordando o uso da casca na indústria de alimentos e no desenvolvimento de novos produtos.

5. Referências

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46–55, 2014.

AINSWORTH, E. A.; GILLESPIE, K. M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. **Nature Protocols**, v. 2, n. 4, p. 875–877, 2007.

AKAMINE, K.; KOYAMA, T.; YAZAWA, K. Banana peel extract suppressed prostate gland enlargement in testosterone-treated mice. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 73, n. 9, p. 1911–4, 2009.

ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 785–788, 2009.

APAK, R. et al. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. **Molecules**, v. 12, n. 7, p. 1496–1547, 2007.

AURORE, G.; PARFAIT, B.; FAHRASMANE, L. Bananas, raw materials for making processed food products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 2, p. 78–91, 2009.

AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.

BABBAR, N. et al. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 391–396, 2011.

BENNETT, R. N. et al. Phenolics and antioxidant properties of fruit pulp and cell wall fractions of postharvest banana (*Musa acuminata* Juss.) cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 13, p. 7991–8003, 2010.

CICCO, N. et al. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. **Microchemical Journal**, v. 91, n. 1, p. 107–110, 2009.

CICCO, N.; LATTANZIO, V. The influence of initial carbonate concentration on the Folin-Ciocalteu micro-method for the determination of phenolics with low concentration in the presence of me-ethanol: A comparative study of real-time monitored reactions. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 02, n. 07, p. 840–848, 2011.

DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 48–54, 2004.

DE KOK, T. M.; VAN BREDA, S. G.; MANSON, M. M. Mechanisms of combined action of different chemopreventive dietary compounds: a review. **European Journal of Nutrition**, v. 47 Suppl 2, p. 51–59, 2008.

DER AGOPIAN, R. G. et al. Identification of fructooligosaccharides in different banana cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 9, p. 3305–3310, 2008.

FAHRASMANE, L.; PARFAIT, B.; AURORE, G. Bananas, a source of compounds with health properties. **Acta Horticulturae**, v.1, p.75-82, 2014.

FAOSTAT . FAO Statistical Database. **Agricultural data**. (Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspxN>>. Acesso em: 20 set. 2014)

FRAGA, C. G.; OTEIZA, P. I.; GALLEANO, M. In vitro measurements and interpretation of total antioxidant capacity. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1840, n. 2, p. 931–934, 2014.

GALANAKIS, C. M. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 26, n. 2, p. 68–87, 2012.

GALANAKIS, C. M. Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: A viewpoint of opportunities and challenges. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 4, p. 575–579, 2013.

GOMES, J. F. S.; VIEIRA, R. R.; LETA, F. R. Colorimetric indicator for classification of bananas during ripening. **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 201–205, 2013.

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

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1030–1039, 2010b.

GUO, Q. et al. ESR study on the structure–antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1427, n. 1, p. 13–23, 1999.

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

HELENO, S. A. et al. Bioactivity of phenolic acids: metabolites versus parent compounds: a review. **Food Chemistry**, v.174, p. 501-513, 2014.

IACOPINI, P. et al. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 8, p. 589–598, 2008.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 2011.

KANAZAWA, K.; SAKAKIBARA, H. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 844–8, 2000.

KEVERS, C. et al. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 21, p. 8596–603, 2007.

KHODDAMI, A.; WILKES, M. A; ROBERTS, T. H. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 18, n. 2, p. 2328–2375, 2013.

LAKO, J. et al. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1727–1741, 2007.

LANDETE, J. M. Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 10, p. 936–948, 2012.

LEITE-LEGATTI, A. V. et al. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 596–603, 2012.

LI, T. et al. Major polyphenolics in pineapple peels and their antioxidant interactions. **International Journal of Food Properties**, v. 17, n. 8, p. 1805–1817, 2014.

LIM, T.K. *Musa acuminata* (AAA Group) 'Dwarf Cavendish'. In: LIM, T.K. (Ed.). **Edible Medicinal and Non Medicinal Plants**. v. 3. New York: Sprinige, 2012. p. 502-527.

LIM, Y. Y.; LIM, T. T.; TEE, J. J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 1003–1008, 2007.

LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 763, p. 1–10, 2013.

MILDE, J.; ELSTNER, E. F.; GRASSMANN, J. Synergistic effects of phenolics and carotenoids on human low-density lipoprotein oxidation. **Molecular nutrition & food research**, v. 51, n. 8, p. 956–961, 2007.

NERI-NUMA, I. A. et al. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh — Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 70–76, 2013.

NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, n. 4, p. 503–15, 2010.

PAVAN, V.; SANCHO, R. A. S.; PASTORE, G. M. The effect of in vitro digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2, p. 1247–1251, 2014.

PRIOR, R. L. et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3273–3279, 2003.

PO, L.G. Chapter 36 – Major Tropical Fruits and Products: Banana, Mango, and Pineapple. In: HUI, Y.H. (Ed.). **Handbook of Food Products Manufacturing**. v.1. Hoboken: John Wiley & Sons, 2007. p. 815-845.

REBELLO, L. P. G. et al. Flour of banana (*Musa AAA*) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. **Food Research International**, v. 55, p. 397–403, 2014.

RIBEIRO DA SILVA, L. M. et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398–404, 2014.

RODRIGUEZ-MATEOS, A. et al. Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. **Archives of Toxicology**, v. 88, n. 10, p. 1803–1853, 2014.

ROESLER, R. et al. Evaluation of the antioxidant properties of the brazilian cerrado fruit *Annona crassiflora* (Araticum). **Journal of Food Science**, v. 71, n. 2, p. 102–107, 2006.

RUBERTO, G. et al. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. **Food Chemistry**, v. 100, n. 1, p. 203–210, 2007.

RUSSELL, W. R. et al. Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 100–104, 2009.

SAE-TEAW, M. et al. Serum melatonin levels and antioxidant capacities after consumption of pineapple, orange, or banana by healthy male volunteers. **Journal of Pineal Research**, v. 55, n. 1, p. 58–64, 2013.

SASIDHARAN, S. et al. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines : AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2011.

SCHAUSS, A. G. Chapter 28 – Polyphenols and Inflammation. *In*: WATSON, R.R.; PREEDY, V.R. (Eds.). **Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases**. San Diego: Academic Press, 2013. p. 379-392.

SELMA, M. V; ESPÍN, J. C.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 15, p. 6485–6501, 2009.

SLAVIN, J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1417–1435, 22 2013.

SOMEYA, S.; YOSHIKI, Y.; OKUBO, K. Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*). **Food Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 351–354, 2002.

SUBAGIO, A.; MORITA, N. Changes in carotenoids and their fatty acid esters in banana peel during ripening. **Food Science and Technology International, Tokyo**, v. 3, n. 3, p. 264–268, 14 1997.

SUBAGIO, A.; MORITA, N.; SAWADA, S. Carotenoids and their fatty-acid esters in banana peel. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 42, n. 6, p. 553–66, 1996.

SULAIMAN, S. F. et al. Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 1, p. 1–10, 2011.

SUN, J. et al. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 25, p. 7449–7454, 2002.

TEE, T. P.; HASSAN, H. Antidepressant-like activity of banana peel extract in mice. **American Medical Journal**, v. 2, n. 2, p. 59–64, 2011.

TROMBINO, S. et al. Antioxidant effect of ferulic acid in isolated membranes and intact cells: synergistic interactions with alpha-tocopherol, beta-carotene, and ascorbic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 8, p. 2411–2420, 2004.

TSAMO, C. V. P. et al. Phenolic profiling in the pulp and peel of nine plantain cultivars (*Musa* sp.). **Food Chemistry**, v. 167, p. 197–204, 2015.

VAN ACKER, S. A. B. E. et al. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 3, p. 331–342, 1996.

VIJAYAKUMAR, S.; PRESANNAKUMAR, G.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Antioxidant activity of banana flavonoids. **Fitoterapia**, v. 79, n. 4, p. 279–282, 2008.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555–559, 1999.

CONCLUSÃO GERAL

Diversos fatores influenciaram na extração dos compostos fenólicos a partir da casca de banana, como os parâmetros do processo de extração sólido-líquido (temperatura, solvente, agitação e relação sólido-solvente) e a atividade de enzimas fenoxidases. As variáveis solvente e temperatura foram as que apresentaram maior influência sobre o processo de extração, enquanto os demais parâmetros, relação sólido-solvente e agitação, podem ser utilizados nos menores níveis estudados neste trabalho (2,5 g/100 mL e 200 rpm, respectivamente). A casca de banana demonstrou elevada atividade da enzima peroxidase, o que provocou a oxidação dos compostos fenólicos e a redução da capacidade antioxidante do extrato durante o processo de extração, desta maneira, uma etapa de inativação deve ser realizada antes da extração. As melhores condições para a extração de compostos fenólicos a partir da casca de banana foram: relação sólido-solvente de 2,5 g/100 mL (1:40), solvente etanol 54% (v/v etanol:água) e homogeneização com auxílio de Ultra Turrax por 30s a 11.000 rpm. O conteúdo de FT obtido com esse sistema de extração foi de 2,44 g EAG/100 g CBL. A casca de banana apresentou maior conteúdo de fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante do que a polpa de banana, no entanto, devido ao elevado consumo de bananas, a polpa pode ser considerada como uma importante fonte de compostos funcionais naturais. Finalmente, por meio deste estudo foi possível verificar que a polpa e a casca de banana apresentam compostos fenólicos antioxidantes. Mais estudos devem ser realizados para verificar a influência do consumo desse fruto tropical na saúde do corpo humano e também pesquisas abordando o uso da casca na indústria de alimentos e no setor da saúde.

PERSPECTIVAS FUTURAS

- Estudar o manuseio correto do subproduto após o processamento do fruto, a fim de evitar perdas nutricionais e de compostos funcionais.
- Avaliar a viabilidade econômica do uso de técnicas modernas de extração, por exemplo, extração supercrítica, na obtenção de um extrato rico em antioxidantes, assim como sua ampliação para escala industrial.
- Estudar técnicas de inativação enzimática e de preparo de matéria-prima, tais como os procedimentos de secagem, moagem e armazenamento.
- Utilizar a casca da banana e/ou seu extrato no desenvolvimento de produtos alimentícios, farmacêuticos ou cosméticos.
- Estudar a influência do consumo diário de banana na saúde do ser humano, principalmente aos aspectos relacionados às doenças gastrointestinais.
- Avaliar a aplicação do extrato etanólico da casca de banana na conservação de alimentos.
- Identificar os principais compostos fenólicos presentes na casca de banana e seus mecanismos de ação na prevenção e tratamento de doenças.