

LIGIA PORTUGAL GOMES REBELLO

**AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS, EXTRAÇÃO E
CARACTERIZAÇÃO DE PECTINA EM FARINHA DE CASCA DE BANANA
(*Musa AAA*)**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2013**

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

T

R114a
2013
Rebello, Ligia Portugal Gomes, 1982-
Avaliação de compostos fenólicos, extração e
caracterização de pectinas em farinha de casca de banana (*Musa
AAA*) / Ligia Portugal Gomes Rebello. – Viçosa, MG, 2013.
xvi, 87 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Afonso Mota Ramos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Farinha de banana. 2. Pectina. 3. Fenóis. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos.
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos. II. Título.

CDD 22 ed. 641.34772

LIGIA PORTUGAL GOMES REBELLO

**AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS, EXTRAÇÃO E
CARACTERIZAÇÃO DE PECTINA EM FARINHA DE CASCA DE BANANA**
(*Musa AAA*)

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

APROVADA: 01 de novembro 2013

Isidro Hermosín Gutiérrez
(Coorientador)

Paulo César Stringheta
(Coorientador)

Monique Renon Eller

Ellen Silva Lago Vanzela

Afonso Mota Ramos
(Orientador)

*À minha família que compartilha comigo os
momentos da vida, as realizações e as
frustrações, mas acima de tudo o AMOR.*

*"Olho nenhum viu, ouvido nenhum ouviu,
mente nenhuma imaginou o que Deus
preparou para aqueles que o amam"*

1Co 2.9

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser meu refugio, minha fortaleza, meu libertador; o meu escudo e a força da minha salvação. E por me dizer a cada dia: *“Não temas e nem te espantes, mas esforça-te e tem bom ânimo, porque Eu, o Senhor teu Deus serei contigo, por onde quer que andares; não te deixarei, nem te desampararei, até que acabes”*.

Ao meu marido Thiago, pelo amor incondicional, pelo carinho e companheirismo, por suportar meu estresse e minha ausência em muitos momentos. E também, por adaptar sua vida em função das minhas oportunidades. Te amo para sempre!

À minha filha Mariana, por me acompanhar durante o doutorado, desde o ventre. Agradeço por seu amor, seus sorrisos, abraços e beijos que muitas vezes serviram de combustível para continuar a caminhada.

Aos meus queridos pais César e Nélia e, a minha “boadrasta” Ana pelo colo sempre disposto a me segurar, pelos conselhos e conversas. Por estarem sempre comigo no que der e vier.

Aos meus amados irmãos Fernando (Nando) e Bernardo (Nado) por torcerem por mim e sempre estarem ao meu lado.

A toda minha família, avós, tios e primos que mesmo distantes estavam sempre presentes! Agradeço pelo apoio e incentivo.

Aos amigos da Igreja Batista em Porto Firme-MG, muito obrigada pelas orações e apoio em todos os momentos que necessitei.

Ao meu orientador Prof. Afonso Mota Ramos que acreditou em mim e me incentivou a fazer coisas que eu não sabia ser capaz.

Ao professor e co-orientador Paulo Roberto Cecon pelos conselhos, sugestões e correções. Por estar sempre disposto a ensinar. Com seu jeito tranquilo e cativante conseguiu me fazer enxergar que a estatística não é como imaginava ser.

Ao professor e co-orientador Paulo Cesar Stringheta pelos ensinamentos e contribuição.

A todos os amigos de laboratório e da UFV pela amizade, pelo incentivo e pelos bons momentos compartilhados: Marcos, Anderson, Maria Emília, Daniele, Welington, Ana Paula, Eliana, Marcela, Aline, Túlio, Manoela, Bianca, Silvânia, Mônica, Paula e outros não citados, mas igualmente importantes.

A Professora Ellen Silva Lago Vanzela, pelo incentivo, auxílio e contribuições ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - UFV pelos ensinamentos compartilhados, pelos conselhos, críticas e sugestões. Em especial a Edimar Aparecida Filomeno Fontes e ao Eduardo Basílio de Oliveira.

A Prof.^a Monique Renon Eller pela participação na banca examinadora.

A Prof.^a Joana e sua equipe da Universidade Federal do Paraná pela realização de algumas análises.

Aos funcionários do DTA-UFV: Zé Geraldo, “Seu Zé”, Simeão, “Perereca” e a todos outros sempre dispostos a me auxiliar no que fosse preciso. Em particular a Geralda e Poliana pela agradável convivência e serviços prestados.

Al Dr. Isidro Herмосín Gutiérrez por la oportunidad, la paciencia, apoyo y por ser un ejemplo de investigador, gracias por la orientación. Su conocimiento, y la enseñanza contribuyeron en gran medida para la calidad de mi trabajo.

A todas las personas que trabajan en la Universidad de Castilla-La Mancha por los buenos momentos compartidos. En particular a Edmundi, Isidro, Sergio y sus familias por el afecto y la atención a mí y a mi familia durante el tiempo que estuvimos en Ciudad Real-España.

Ao Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE/CAPES), pela bolsa de doutorado na Espanha.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro no desenvolvimento deste estudo.

Ao Instituto Federal Fluminense, campus Bom Jesus, pela oportunidade de realização do doutorado bem como pelo apoio dos colegas de trabalho que viabilizaram meu afastamento possibilitando minha qualificação profissional.

BIOGRAFIA

LIGIA PORTUGAL GOMES REBELLO, filha de César Martins Gomes e Nelia Duarte Portugal Gomes, nasceu em 06 de julho de 1982, no município de Bom Jesus do Itabapoana, Estado do Rio de Janeiro, onde passou a infância e parte da adolescência.

Aos 16 anos mudou-se para Niterói-RJ, onde terminou o ensino médio e prestou vestibular. Em março de 2000 ingressou no Curso de Economia Doméstica – Bacharelado e Licenciatura - na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) em Seropédica, diplomando-se em março de 2004. Durante este período, foi bolsista de iniciação científica da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo a Pesquisa do Rio de Janeiro – FAPERJ, estagiária do Laboratório de Bacteriologia da UFRuralRJ onde pode desenvolver projetos na área de Bacteriologia e Microbiologia de Alimentos e supervisora estagiária de análises laboratoriais do setor de Controle de Qualidade da empresa La mole serviços de alimentação Ltda no Rio de Janeiro-RJ.

Em 2004 ingressou no curso de Mestrado em Microbiologia na URRJ, sendo bolsista de pós-graduação da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) onde concentrou seus estudos na área de microbiologia de alimentos, concluindo o mesmo em fevereiro de 2006.

Desde 2006 é professora do Instituto Federal Fluminense, campus Bom Jesus, onde ministra disciplinas e desenvolve pesquisas na área de processamento de produtos de origem vegetal.

Em 2009 iniciou o curso de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, onde foi bolsista do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE/CAPES) na Universidad de Castilla-La Mancha, Ciudad Real- Espanha.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. OBJETIVOS	4
1.1.1. Objetivo Geral.....	4
1.1.2. Objetivos Específicos.....	4
1.2. REVISÃO DE LITERATURA	5
1.2.1. Banana	5
1.2.1.1. Casca de banana e seu potencial de utilização.....	7
1.2.2. Compostos Bioativos	8
1.2.2.1. Compostos fenólicos	9
1.2.2.1.1. Flavonoides	11
1.2.3. Alguns compostos fitoquímicos presentes na casca da banana.....	12
1.2.4. Pectinas.....	14
1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
2. CAPÍTULO I- APROVEITAMENTO DA CASCA DE BANANA (<i>Musa</i> AAA) tipo Cavendish PARA EXTRAÇÃO DE PECTINA: OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E ESTRUTURAL	26
RESUMO	27
1. INTRODUÇÃO	28
2. MATERIAL E MÉTODOS	31
2.1. Material vegetal, processamento e obtenção do resíduo insolúvel em álcool.....	31
2.2. Análises preliminares da farinha da casca de banana e do RIA	31
2.3. Planejamento experimental para a extração das pectinas e análise estatística.....	32
2.4. Extração das pectinas.....	33

2.5. Determinação do rendimento, grau de esterificação e índice de escurecimento.....	34
2.6. Caracterização das propriedades físicas e químicas das pectinas obtidas em condição otimizada	35
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
3.1. Caracterização química da farinha da casca de banana e do RIA	38
3.2. Otimização da extração de pectina	41
3.2.1. Rendimento de extração.....	41
3.2.2. Grau de esterificação.....	44
3.2.3. Índice de escurecimento	46
3.2.4. Avaliação das correlações	47
3.2.5. Determinação das condições de extração	48
3.2.6. Caracterização das pectinas nas condições otimizadas.....	49
4. CONCLUSÃO	55
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
3. CAPÍTULO II* - Flour of banana (<i>Musa</i> AAA) peel as a source of antioxidant phenolic compounds.....	63
Abstract.....	64
1. INTRODUCTION	65
2. MATERIAL AND METHODS	67
2.1. Chemicals	67
2.2. Sample.....	67
2.3. Sample preparation.....	68
2.4. HPLC-DAD-ESI-MS ⁿ Identification of Occurring Flavonols in Banana Peel Flour 69	
2.5. Identification and Quantification of Occurring Flavan-3-ols in Banana Peel Flour by HPLC-ESI-MS/MS Using Multiple Reaction Monitoring (MRM)	70
2.6. Determination of Total Phenolics (TPH).....	71
2.7. Antioxidant capacity	71
2.7.1. Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay	71

2.7.2.	2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) assay...	71
2.7.3.	Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay	72
3.	RESULTS AND DISCUSSION	73
4.	CONCLUSION	82
	ACKNOWLEDGEMENTS	82
5.	REFERENCES	83
4.	CONCLUSÃO GERAL	86

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1** - Exemplo de compostos fenólicos presentes em alimentos vegetais. 9
- Figura 2** - Estrutura química das classes de polifenóis 10
- Figura 3** - Estrutura básica dos flavonoides: 2-fenilbenzopirano (A) e 2-fenilbenzopirona (B)..... 11
- Figura 4** - Estrutura química dos flavan-3-óis..... 14
- Figura 5** - Estrutura química da cadeia de pectina sem as cadeias de açúcares neutros..... 15
- Figura 6** - Representação esquemática da estrutura convencional (A) e modelo atualmente proposto (B) das pectinas. 16

CAPÍTULO 1

- Figura 1** - Variação de rendimento de pectina extraída a partir do Resíduo Insolúvel em Álcool, utilizando ácido cítrico, (A) em função de tempo e temperatura, fixando a concentração de 0,7 % (m/v); (B) em função da concentração de ácido cítrico e temperatura fixando o tempo de extração em 80 min e (C) em função de concentração e tempo, fixando a temperatura em 80 °C.....43
- Figura 2** - Variação de rendimento de pectina a partir do Resíduo Insolúvel em Álcool, utilizando ácido oxálico-oxalato de amônio AOOA; (A) em função de temperatura e tempo, fixando a pH em 2,8; (B) em função da temperatura e pH fixando o tempo de extração em 50 min e (C) em função de tempo e pH, fixando a temperatura em 75 °C.44
- Figura 3** - Perfis de eluição obtidos por HPSEC-MALLS das amostras de pectina extraídas da casca de banana utilizando ácido cítrico (A), AOOA (B) e da pectina comercial (C).54

CAPÍTULO 2

- Figure 1** - HPLC-chromatographic profile of flavonols present in banana peel flour extracts: A) DAD-chromatogram at 360 nm; B) Extracted Ion Chromatogram (EIC) at m/z = 317, corresponding to myricetin-based flavonols; C) EIC at m/z = 301, corresponding to quercetin-based flavonols; D) EIC at m/z

= 331, corresponding to laricitrin-based flavonols; E) EIC at $m/z = 285$, corresponding to kaempferol-based flavonols; F) EIC at $m/z = 315$, corresponding to isorhamnetin-based flavonols; G) EIC at $m/z = 345$, corresponding to syringetin-based flavonols.....80

Figure 2 - MS/MS spectra in negative ionization mode (-MS2) obtained from the pseudo-molecular ($[M-H]^-$) parent ions corresponding to the quercetin- and kaempferol based flavonols found in banana peel flour extracts (the m/z value is indicated): A) quercetin 3/7-rutinoside-3/7-rhamnoside (pseudo-molecular parent ion, $m/z = 755$); B) quercetin 7-rutinoside ($m/z = 609$); C) quercetin 3-rutinoside ($m/z = 609$); D) kaempferol 3/7-rutinoside-3/7-rhamnoside ($m/z = 739$); E) kaempferol 7-rutinoside ($m/z = 593$); F) kaempferol 3-rutinoside ($m/z = 593$).....81

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO GERAL

Tabela 1 - Produção brasileira de banana no ano de 2009.....	6
---	---

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Níveis codificados e valores reais para as variáveis empregadas na extração de pectina da casca de banana (<i>Musa AAA</i>) tipo Cavendish no delineamento DCC.....	33
---	----

Tabela 2 - Valores médios e desvios padrão da composição química da farinha da casca de banana e do resíduo insolúvel em álcool (RIA) (g/100g, base seca, exceto para umidade).	38
--	----

Tabela 8 - Composição química (base seca) das pectinas extraídas a partir da casca de banana e da amostra comercial.	50
--	----

CAPÍTULO 2

Table 1 - Total phenolic content (TP) and antioxidant activity (mean value \pm standard deviation; n = 3) by FRAP, ABTS and ORAC methods found in banana peel flour. Units: GAE, gallic acid equivalents; Trolox-Eq, Trolox equivalents.....	73
---	----

Table 2 - Total content (as (+)-catechin equivalents) and molar percentage (mean \pm standard deviation; n = 3) of monomeric flavan-3-ols and B-type procyanidin dimers found in banana peel flour.	76
---	----

Table 3 - Structural characterization of the proanthocyanidins (molar percentages: mean \pm standard deviation) found in banana peel flour.....	77
--	----

Table 4 - Chromatographic and spectroscopic (UV-vis and MS/MS spectra) characteristics of the flavonols identified in flour banana peel by HPLC-DAD-ESI-MS/MS (negative ionization mode), molar proportions (mean value \pm standard deviation, n=3), and total concentration (as quercetin 3-rutinoside equivalents) Peak numbers as in Figure 1.....	79
---	----

RESUMO

REBELLO, Ligia Portugal Gomes. D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2013. **Avaliação de compostos fenólicos, extração e caracterização de pectina em farinha de casca de banana (*Musa* AAA).** Orientador: Afonso Mota Ramos. Coorientadores: Isidro Hermosín Gutiérrez, Paulo Cesar Stringheta e Paulo Roberto Cecon.

Ao longo da cadeia de processamento da banana uma grande quantidade de resíduos com potencial de aproveitamento é gerada. O presente trabalho teve como objetivo estudar o potencial de utilização da farinha de casca de banana (*Musa* AAA) tipo Cavendish na obtenção de pectina e determinar a composição fenólica majoritária nesta farinha. As bananas com “grau de coloração da casca 5”, segundo escala de Von Loesecke, foram sanitizadas e descascadas manualmente. As cascas foram branqueadas e então secas em secador de bandejas com circulação forçada de ar até massa constante e, trituradas em moinho de facas, para a obtenção da farinha. Em seguida, foram feitas as seguintes determinações: umidade; extrato etéreo; proteína bruta; fibras solúveis e insolúveis; cinzas; fração glicídica; valor calórico e atividade de água. Os resultados indicam que a casca de banana (*Musa* AAA) tipo Cavendish é viável para o processo de obtenção da farinha e, devido ao alto teor de fibras, pode ser uma ótima alternativa para o enriquecimento de produtos alimentícios com uma matéria-prima de baixo custo. Para o estudo de extração, dois agentes extratores foram avaliados (ácido cítrico e ácido oxálico-oxalato de amônio - AOOA), sendo utilizado um Delineamento Composto Central (DCC) com três variáveis independentes (temperatura, tempo e pH ou concentração, dependendo do extrator). A partir dos modelos ajustados, foram determinadas condições adequadas de extração: ácido cítrico (80 °C, 0,7 %, 80 min) e AOOA (0,25 % de oxalato de amônio, 75 °C, pH 2,8, utilizando ácido oxálico, 50 min). As pectinas foram analisadas quanto às características químicas, físicas, e estruturais. Apesar de os resultados mostrarem a casca de banana como uma potencial fonte de pectina, as pectinas extraídas neste estudo não atendem às exigências da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) para pectinas de padrão comercial. Com relação à composição fenólica da farinha, os extratos exibiram elevado conteúdo fenólico (cerca de 29 mg.g⁻¹, como equivalente de ácido gálico - GAE), principalmente flavonoides polimerizados

(cerca de 3952 mg.kg^{-1}), flavonóis glicosídeos, dímeros de procianidina tipo B e flavan-3-óis monoméricos (em torno de 126 mg.kg^{-1}). O elevado conteúdo de fenólicos nos extratos é, provavelmente, o responsável pela elevada atividade antioxidante evidenciada por três diferentes métodos: Redução de íons de ferro (FRAP), $14 \mu\text{M.g}^{-1}$; Captura do radical livre ABTS, $242 \mu\text{M.g}^{-1}$ e Ensaio da capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC), $436 \mu\text{M.g}^{-1}$ (expressos em TROLOX equivalente). Logo os resultados sugerem o uso da casca de banana como fonte rentável de compostos fenólicos bioativos.

ABSTRACT

REBELLO, Ligia Gomes Portugal. D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2013. **Evaluation of phenolic extraction and characterization of pectin peel flour banana (*Musa* AAA).** Advisor: Alfonso Mota Ramos. Co-advisors: Isidro Herмосín Gutiérrez, Paulo Cesar Stringheta and Paulo Roberto Cecon .

Along the chain of banana processing a large amount of waste with potential for exploitation is generated. This study aimed to study the potential use of flour banana peel (*Musa* AAA) type Cavendish in obtaining pectin and determine the phenolic composition majoritarian this flour. Bananas with "degree of skin color, 5 ", according to Von scale Loesecke were sanitized and manually peeled. The shells were bleached and then dried in a tray drier with forced air to constant weight and then ground to powder mill to obtain flour. Then, the following determinations were made: moisture; ether extract; crude protein soluble and insoluble fiber, ash; glycidic fraction; calorific value and water activity. To study the extraction, two extracting agents were evaluated (citric acid and oxalic acid - ammonium oxalate, AOOA), and using a central composite design (CCD) with three independent variables (temperature, time and pH or concentration, depending on the extractor), totaling eighteen experiments for each extracting agent. From the adjusted models were determined appropriate extraction conditions: citric acid (80 °C, 0.7 %, 80 min) and AOOA (0.25% ammonium oxalate, 75 °C, pH 2.8, using oxalic acid, 50 min). Pectins were analyzed for their chemical, physical, and structural. For purposes of comparison sample was also analyzed commercial citrus pectin. With regard to the phenolic content of the flour, the extracts exhibited high phenolic content (about 29 mg g⁻¹ as GAE), mainly flavonoids polymerized (approximately 3952 mg.kg⁻¹), flavonol glycosides, procyanidin dimers of type B and flavan -3- ols monomer (about 126 mg.kg⁻¹). The high phenolic content in the extracts is probably responsible for the high antioxidant activity evidenced by three different methods: FRAP, 14 μM.g⁻¹; ABTS , 242 μM.g⁻¹ and ORAC, 436 μM.g⁻¹ (expressed in Trolox equivalent). The results indicate that the banana peel (*Musa* AAA) type Cavendish feasible for the process of obtaining the meal and, due to the high fiber content, can be a great alternative to the

enrichment of food products with raw material cost. Although the results show the banana peel as a potential source of pectin, the pectin extracted in this study did not meet the requirements of FAO standard commercial pectins. However the results show the use of banana peel as a cost effective source of bioactive phenolic compounds.

1. INTRODUÇÃO GERAL

No cenário mundial, o Brasil se encontra em posição de destaque na produção de frutas, o que reflete na geração de empregos e incentivo ao desenvolvimento do agronegócio. Segundo o Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF), os maiores produtores de frutas são a China, a Índia e o Brasil que, juntos, respondem por 42,5 % do total mundial (IBRAF, 2009; ANUÁRIO, 2012).

Atualmente, a fruticultura brasileira abrange 2,9 milhões de hectares e gera 6,0 milhões de empregos diretos (FAEP, 2010). A laranja, a banana e o abacaxi respondem por 66,4 % da produção de frutas no país (FAEP, 2010). Da produção brasileira, cerca de 53 % é destinada ao mercado de frutas processadas e 47 % ao de frutas frescas (IBRAF, 2009).

Em âmbito mundial, o Brasil é o quinto em volume na produção de bananas e está entre os principais consumidores (FAOSTAT, 2011). O Estado de Minas Gerais é o quarto maior produtor com 654.314 toneladas em 2010 (ANUÁRIO, 2012). Além do alto valor nutritivo, a banana tem alto significado socioeconômico, pois mobiliza um grande contingente de mão-de-obra, permite retorno rápido ao produtor e é geradora de divisas para o país (GANGA, 2002). Possui também a vantagem de poder ser colhida o ano todo em todas as regiões do país. A oferta é diminuída em períodos de frio intenso nas regiões sul e sudeste (ANUÁRIO, 2012).

Com o desenvolvimento do setor de fruticultura, o aumento no número de indústrias do setor de alimentos e a intensificação do processamento de frutas, surge o problema da produção de resíduos (QIU et al., 2010). Consequentemente torna-se necessário o aproveitamento desses resíduos uma vez que o destino inadequado está associado não apenas a problemas ambientais como também a perdas econômicas (CORDENUNSI et al., 2008; SENA e NUNES, 2006). No processamento para obtenção de polpas e néctares, por exemplo, cerca de 40 % são resíduos como bagaço, cascas, sementes e partes impróprias ao processamento. Estes subprodutos são descartados no ambiente sem qualquer forma de tratamento ou, em alguns casos, podem ser aproveitados como matéria-prima para a formulação de ração animal (SENA e NUNES, 2006).

Segundo Pelizer e colaboradores (2007), a geração de resíduos e subprodutos é inerente a qualquer setor produtivo. Assim, o aumento da conscientização ecológica, no início do século XX, evidencia que o grande desafio da humanidade para as próximas décadas é equilibrar a produção de bens e serviços, crescimento econômico, igualdade social e sustentabilidade ambiental. Considerando que a quantidade de resíduos pode chegar a muitas toneladas, agregar valor a esses produtos é de interesse econômico e ambiental (SCHIEBER et al., 2001).

Dos resíduos gerados na indústria de alimentos, grande parte apresenta compostos de importância tecnológica como fibras alimentares, óleos essenciais, amido, enzimas, açúcares, pectina e compostos bioativos. Logo, seu aproveitamento pode trazer benefícios tanto ao homem quanto ao meio ambiente (BABBAR et al., 2011). As cascas de algumas frutas, por exemplo, podem servir de matéria-prima para obtenção de pectinas utilizadas como geleificantes, estabilizantes e espessantes na indústria de alimentos (QIU et al., 2010; KOUBALA et al., 2008). As pectinas são hidrocolóides naturais presentes em plantas superiores. Possuem em sua composição várias unidades do ácido galacturônico unidas por meio de ligações glicosídicas α (1,4) e apresentam distintos grupos ácidos metil-esterificados e açúcares neutros (PAIVA et al., 2009).

A partir das cascas também se pode obter extratos contendo compostos bioativos como carotenóides, compostos fenólicos e outros antioxidantes (BABBAR et al., 2011; CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011). Segundo Babbar e colaboradores (2011), os resíduos da indústria de alimentos devem ser considerados como fontes potenciais de compostos bioativos sendo de importância tanto para indústria de alimentos quanto farmacêutica devido a sua capacidade antioxidante, baixo custo e a fácil disponibilidade.

Atualmente, várias pesquisas têm sido realizadas com objetivo de desenvolver tecnologia que possibilite o aproveitamento de resíduos como, por exemplo, cascas de cacau (VRIESMANN et al., 2011), manga (KOUBALLA et al., 2008), maracujá (PINHEIRO, 2007), laranja (YEOH et al., 2008; FISHMAN et al., 2003), banana (EMAGA et al., 2008), resíduo de cana de açúcar (ZHANG et al., 2011), bagaço de pêssego (PAGÁN et al., 2001) e de maçã (CANTERI-SCHEMIN et al., 2005).

A casca da banana é um resíduo domiciliar e da indústria de alimentos descartado em grande quantidade na natureza. Ela representa cerca de 30 % da massa total da fruta madura (EMAGA et al., 2008; REYES, 1991) e ainda não possui aplicações de ordem industrial, sendo esporadicamente utilizada, de forma direta, na alimentação animal e como adubo orgânico (QIU e colaboradores, 2010; TRAVAGLINI et. al., 1993; REYES, 1991). No Brasil são geradas em torno de 1,2 milhões de toneladas de resíduos de casca de banana anualmente. Por se tratar de uma fruta mundialmente produzida e consumida o aproveitamento da casca é de grande relevância.

Alguns pesquisadores têm revelado que a casca de banana apresenta em sua composição compostos e nutrientes importantes para a alimentação e para indústria de alimentos. De acordo com Emaga e colaboradores (2007), a casca da banana é rica em fibras alimentares, proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poliinsaturados e potássio. Também contém compostos antioxidantes (NGUYEN et al., 2003; SOMEYA et al., 2002; KANAZAWA e SAKAKIBARA, 2000) e carotenóides (SUBAGIO et al., 1996).

Deste modo, para minimizar o problema, é indispensável o desenvolvimento de tecnologia que possibilite o aproveitamento racional dos resíduos gerados nas indústrias processadoras de alimentos, contribuindo, inclusive, para o desenvolvimento sustentável do país. Logo, é essencial estudar a composição desses resíduos, mediante investigações científicas e tecnológicas a fim de criar possibilidades de transformá-los em rentáveis à indústria processadora e aos consumidores em potencial.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo Geral

Estudar o potencial de utilização da farinha de casca de banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish na obtenção de pectina e determinar a composição fenólica majoritária nesta farinha.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar a farinha da casca de banana quanto aos teores de umidade, atividade de água, lipídios, proteína, cinzas, fibras (solúvel e insolúvel) e carboidratos totais;
- Realizar um estudo exploratório por meio da metodologia de superfície de respostas para otimizar a extração da pectina, utilizando diferentes agentes extratores (ácido cítrico e oxalato de amônio) e condições de extração (tempo, temperatura e pH ou concentração);
- Caracterizar as pectinas extraídas quanto a: atividade de água, umidade, cinzas, cor instrumental, grau de esterificação, grau de metoxilação e acetilação, teor de ácido galacturônico, teor de açúcares neutros, homogeneidade e massa molar.
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* da farinha da casca de banana pelos métodos FRAP, ABTS e ORAC;
- Identificar e quantificar os compostos fenólicos presentes na farinha da casca de banana por HPLC-DAD-ESI-MS/MS.

1.2. REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1. Banana

De origem asiática, a bananeira se adaptou muito bem ao clima tropical e subtropical brasileiro. É cultivada em todo o território nacional, desde a faixa litorânea até os planaltos do interior, com destaque para as regiões nordeste e sudeste. Calcula-se que a área plantada no país atinja cerca de 480 mil hectares (ANUÁRIO, 2012). Entretanto, certos fatores climáticos, como a temperatura e o regime de chuvas, impõem limites à cultura fazendo com que ela se concentre nos estados de São Paulo, Bahia, Santa Catarina, Minas Gerais e Pará (Tabela 1) (PEREZ, 2002)

A banana (*Musa* spp) é uma das frutas mais consumidas no mundo (FASOLIN et al., 2007, LEITE et al., 2004). Em 2009, sua produção mundial foi de aproximadamente 97 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2011). O Brasil é o quinto maior produtor, colhendo em torno de 7 milhões de toneladas por ano (ANUÁRIO, 2012) e possuindo consumo médio da ordem de 35 kg / habitante / ano (MATSUURA et al., 2004).

A elevada demanda de banana em todo o mundo está associada, principalmente, aos seus atributos sensoriais. Apesar da grande procura do fruto *in natura*, sendo ingerida crua, assada ou frita, existem produtos processados e comercializados na forma de sucos, néctares, sorvete, farinha, purê, passas, geleias, compotas, licor ou aguardente (LEITE et al., 2004). É uma fruta rica em antioxidantes como vitamina C, vitamina E, β -caroteno (KANAZAWA e SAKAKIBARA, 2000), além de compostos tais como dopamina e galocatequina, capazes de proteger o organismo contra os efeitos danosos dos radicais livres (MELO, 2010; SOMEYA et al., 2002).

A banana é uma das frutas mais importantes do mundo, tanto no que se refere à produção quanto à comercialização (SOMEYA et al., 2002). Para muitos países, além de ser um alimento complementar da dieta da população, apresenta grande relevância social e econômica, servindo como fonte de renda para muitas famílias, gerando postos de trabalho no campo e na cidade, e contribuindo para o desenvolvimento das regiões envolvidas em sua produção. Em outros países, a banana é um produto de exportação responsável por uma parte muito significativa dos ingressos relativos à exportação agrícola (FIORAVANÇO, 2003).

Tabela 1 - Produção brasileira de banana no ano de 2009.

Estados	Área Colhida (ha)	Produção (t)	Rendimento (t/ha)
São Paulo	53.078	1.257.539	23,69
Bahia	65.487	1.015.505	15,51
Santa Catarina	30.922	624.204	20,19
Minas Gerais	39.194	620.931	15,84
Pará	38.925	501.344	12,88
Pernambuco	42.910	437.155	10,19
Ceará	44.742	429.506	9,60
Paraíba	17.478	267.458	15,30
Paraná	9.900	229.683	23,20
Espírito Santo	19.757	196.678	9,95
Goiás	13.497	170.794	12,65
Rio de Janeiro	22.876	156.216	6,79
Rio Grande do Norte	5.251	136.920	26,08
Amazonas	14.650	136.108	9,29
Rio Grande do Sul	12.291	121.640	9,90
Maranhão	10.350	109.353	10,57
Sergipe	3.898	55.935	14,35
Mato Grosso	5.958	50.331	8,45
Acre	5.219	50.109	9,60
Rondônia	5.812	49.183	8,46
Alagoas	4.247	47.282	11,13
Roraima	4.640	45.000	9,70
Piauí	2.028	29.894	14,74
Tocantins	3.540	25.348	7,16
Mato Grosso do Sul	1.348	10.797	8,01
Amapá	1.432	5.849	4,08
Distrito Federal	184	3.710	20,16
BRASIL	479.614	6.783.482	14.14

Fonte: IBGE, 2009

Portanto, além do elevado valor nutritivo, a banana tem alto significado socioeconômico. Mobiliza um grande contingente de mão-de-obra, permite retorno rápido ao produtor e é geradora de divisas para o país (GANGA, 2002).

1.2.1.1. Casca de banana e seu potencial de utilização

A casca de banana é um resíduo domiciliar e da indústria de alimentos descartado em grande quantidade na natureza. Representa cerca de 30 % da massa total da fruta madura (EMAGA et al., 2008; REYES, 1991), e ainda não tem aplicações de ordem industrial, sendo esporadicamente utilizada, de forma direta, na alimentação animal e adubo orgânico (QIU et al., 2010). Anualmente são geradas em torno de 1,2 milhões de toneladas de resíduos de casca de banana no Brasil. Desse modo, o aproveitamento da casca é de grande relevância por se tratar de uma fruta mundialmente produzida e consumida.

Alguns pesquisadores têm estudado possibilidades da utilização da casca de banana na produção de doce em massa (SILVA e RAMOS, 2009); elaboração de hambúrgueres enriquecidos com fibras (LEAL et al., 2010); produção de biogás (MOHAPATRA, et al., 2010), matéria prima para obtenção de etanol (OBEROI et al., 2011) e produção de álcool e vinagre (REYES, 1991). A farinha obtida por meio da casca de banana também apresenta aplicabilidade como biossorvente para metais pesados em soluções aquosas (CRUZ et al., 2009), agente de adsorção de corantes básicos (JESUS et al., 2011), purificação de água (ANNADURAI et al., 2004); ingrediente em massa de macarrão (RAMLI et al., 2009), extração de pectina (MOHAPATRA et al., 2010; QIU et al., 2010; EMAGA et al., 2008), entre outros.

Entretanto, as potenciais aplicações para casca de banana são dependentes de sua composição química. Segundo Emaga e colaboradores (2007), a casca de banana é rica em fibras alimentares, proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poliinsaturados e potássio. Gonzále-Montelongo e colaboradores (2010) destacam ainda a presença de grandes quantidades de dopamina, L - dopa e catecolaminas com elevada atividade antioxidante. Emaga e colaboradores (2007) avaliaram o conteúdo de ácidos graxos em casca de banana, observando que do conteúdo de ácidos graxos mais de 40 % corresponderam principalmente aos ácidos linoléico e α -linolênico. Someya e colaboradores (2002) enfatizaram a presença de compostos fenólicos (907 mg g⁻¹ de sólido seco) e do composto flavonóide galocatequina

(158 mg g⁻¹ de sólido seco) em maior quantidade na casca do que na polpa. Kanazawa e Sakakibara (2000) ao estudarem o conteúdo de dopamina em banana tipo Cavendish, observaram que na casca os níveis de dopamina foram maiores que na polpa, respectivamente, 80-560 mg g⁻¹ e 2,5-10 mg g⁻¹.

Assim sendo, a casca da banana apresenta-se como uma importante matéria-prima para obtenção de compostos bioativos (ROSSO, 2009) e extração de pectina (MOHAPATRA et al., 2010; QIU et al., 2010).

1.2.2. Compostos Bioativos

Compostos bioativos são substâncias presentes naturalmente no alimento que promovem uma ação que gera benefício à saúde humana (BIESALSKI et al., 2009). São, em sua maioria, metabólitos secundários, geralmente relacionados com o sistema de defesa das plantas contra a radiação ultravioleta e agressões de insetos ou patógenos (CARRATÚ e SANZINI, 2005).

Uma gama de compostos bioativos é evidenciada e estudada como sendo responsável pelos efeitos benéficos de uma dieta rica em frutas e hortaliças (CARRATÚ e SANZINI, 2005). A estrutura química e a função desses compostos são variáveis. Entretanto apresentam algumas características em comum: são substâncias orgânicas provenientes de vegetais, não são sintetizados pelo organismo humano e apresentam ação protetora à saúde humana quando presentes na dieta em quantidades apreciáveis (CARRATÚ e SANZINI, 2005).

Segundo Bastos e colaboradores (2009), esses compostos podem agir de diferentes formas, tanto no que se refere aos alvos fisiológicos como aos seus mecanismos de ação. A ação antioxidante, muito estudada nos últimos anos, deve-se ao potencial de óxido-redução de determinadas moléculas, à capacidade destas em competir por sítios ativos e receptores nas diversas estruturas celulares, ou pode estar relacionada à modulação da expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em mecanismos intracelulares de defesa contra processos oxidativos degenerativos de estruturas celulares, como DNA e membranas.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado o efeito protetor de dietas ricas em frutas e hortaliças contra doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer, devido, em parte, aos antioxidantes contidos nestes alimentos

(RODRIGUES et al., 2003; MELO et al., 2006). Estas respostas estão, normalmente, associadas aos compostos fenólicos, vitamina C e carotenóides presentes.

Apesar das evidências de que os compostos bioativos atuam na redução do risco de doenças crônicas não-transmissíveis, como as doenças cardiovasculares e o câncer, seus efeitos na saúde são dependentes das quantidades consumidas e da biodisponibilidade (BASTOS et al., 2009).

A importância funcional desses compostos na saúde humana tem levado pesquisadores a realizarem estudos buscando determinar suas concentrações nos alimentos e em especial nas frutas com objetivo de descobrir novas fontes nutricionais (BATISTA, 2010).

1.2.2.1. Compostos fenólicos

Os polifenóis ou compostos fenólicos são poderosos antioxidantes. Englobam um grupo de moléculas encontradas em hortaliças, frutas, cereais, chás, café, cacau, vinho, suco de frutas e soja (Figura 1). Nas plantas, exercem função de fotoproteção, defesa contra micro-organismos e insetos, além de serem responsáveis pela pigmentação e por algumas características sensoriais dos alimentos (HUBER e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008; MANACH e colaboradores, 2004).

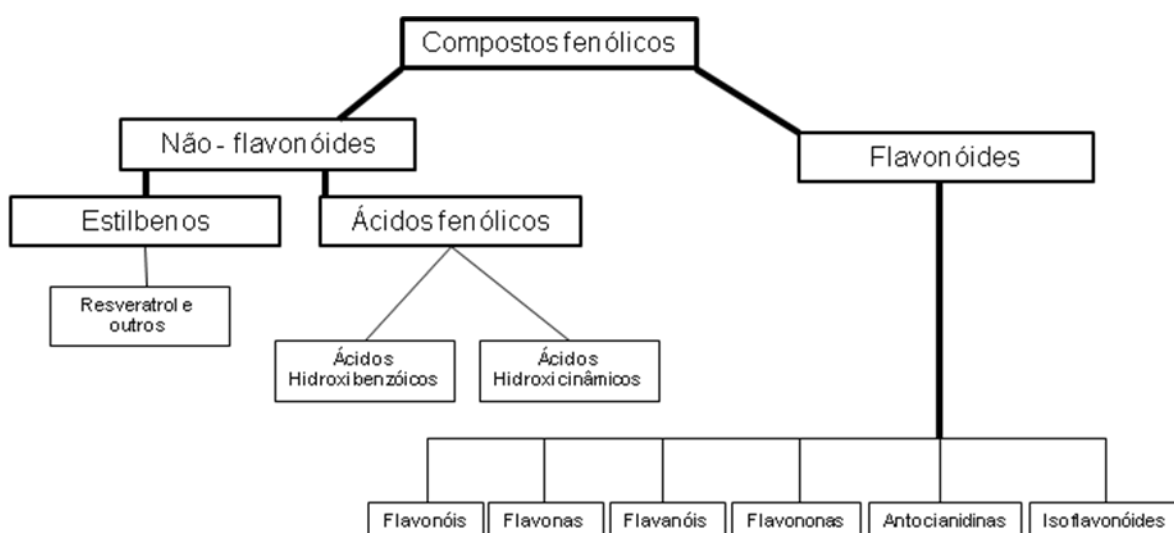
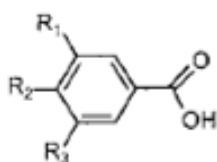


Figura 1 - Exemplo de compostos fenólicos presentes em alimentos vegetais.

Fonte: Adaptado de Lima (2008)

São classificados em função do número de anéis fenólicos e dos elementos químicos que se ligam a esses anéis. Tais compostos representam uma ampla variedade de substâncias, as quais são divididas em classes, como por exemplo, ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e lignanas (Figura 2) (MANACH et al., 2004).

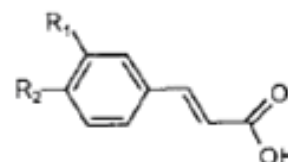
Ácidos Hidroxibenzóicos



R1=R2=OH, R3=H: Ácido protocatéico

R1=R2=R3=OH: Ácido gálico

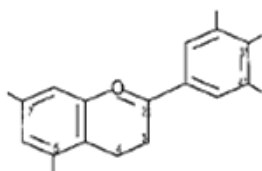
Ácidos Hidroxicinâmicos



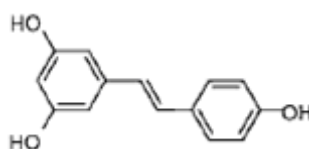
R1= OH: Ácido cumárico

R1=R2=OH: Ácido caféico

Flavonoides

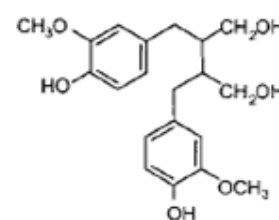


Estilbenos



Resveratrol

Lignanas



Secoisolarisiresinol

Figura 2 - Estrutura química das classes de polifenóis

Fonte: Manach e colaboradores (2004).

Os polifenóis mais comuns na dieta humana são os flavonoides, que correspondem a aproximadamente 1/3 da ingestão (MANACH et al., 2004). Silberberg e colaboradores (2006) sugerem que a ingestão mínima total em um dia seja de 1 g de polifenóis. Arabbi e colaboradores (2004) estimaram que a ingestão média de flavonoides pela população brasileira é de 60 a 106 mg/dia.

Acquaviva e colaboradores (2003) sugerem que alguns mecanismos de ação anti-flamatória dos polifenóis estejam relacionados à sua capacidade antioxidante por meio da captura dos radicais livres e quelação de íons metálicos redox ativos (atividade antioxidante direta) ou ainda, pela indução da

defesa antioxidante e reparação celular; e à sua capacidade de inibir as espécies reativas de oxigênio (ROS).

1.2.2.1.1. Flavonoides

Flavonoides constituem uma classe muito importante de pigmentos naturais encontrados com grande frequência na natureza, unicamente em vegetais (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

A estrutura básica dos flavonoides consiste de um esqueleto de 15 carbonos, distribuídos em dois anéis aromáticos (A e B) ligados por uma cadeia de três átomos de carbono e um átomo de oxigênio formando um heterociclo oxigenado (C6-C3-C6). Dependendo do estado de oxidação do anel central (C) os flavonoides podem ser do tipo 2-fenilbenzopirano (Figura 3A), como os flavan-3-óis (catequinas) e antocianidinas, ou 2-fenilbenzopirona (Figura 3B) como nos flavonóis, flavonas, isoflavonas e flavanonas, que possuem um grupo carbonila na posição C-4 do anel C (HUGER e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008)

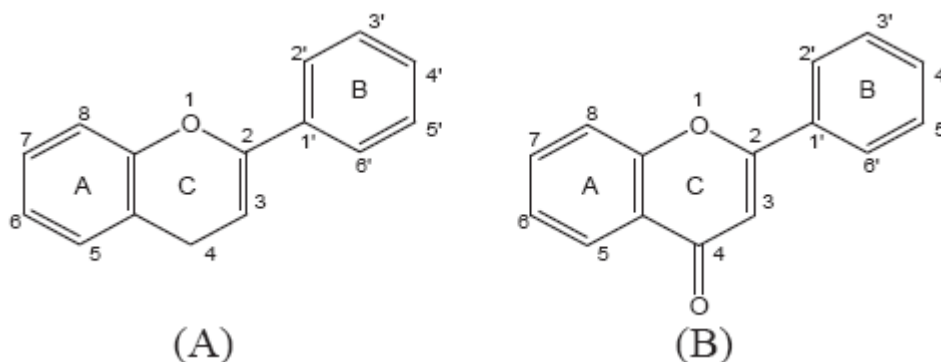


Figura 3 - Estrutura básica dos flavonoides: 2-fenilbenzopirano (A) e 2-fenilbenzopirona (B).

Fonte: HUBER e RODRIGUEZ-AMAYA (2008).

Em função do grau de oxidação e do padrão de substituição do anel C (heterociclo), os flavonoides são divididos em 6 subclasses: antocianinas, flavonóis, flavan-3-óis (catequinas e proantocianidinas), flavonas, isoflavonas e flavanonas (MANACH et al., 2004).

Fatores ambientais edafoclimáticos (tipo de solo, exposição ao sol, chuva) ou agronômicos (cultura em estufas ou campos, cultura biológica, cultivo hidropônico, produção de frutos por árvore, etc.), a variedade do vegetal, o grau de maturação no momento de colheita, o processamento e a

estocagem podem afetar o teor de polifenóis nos vegetais (PARR e BOLWELL, 2000).

A absorção e o metabolismo dos grupos fenólicos são determinados por sua estrutura química. A variabilidade desse grupo de substâncias e a complexa interação desses compostos promovem dificuldades no estudo de sua biodisponibilidade e de seus aspectos fisiológicos e nutricionais (BRAVO, 1998). Sabe-se que alguns fatores, tais como a natureza da matriz do alimento, a extensão da fermentação da microbiota colônica e o tempo de trânsito intestinal podem influenciar a absorção dos polifenóis (MANACH et al., 2004). Assim, a biodisponibilidade desses compostos está atrelada à quantidade absorvida utilizada pelo organismo em suas funções fisiológicas normais (JACKSON, 1997).

1.2.3. Alguns compostos fitoquímicos presentes na casca da banana

Estudos realizados com objetivo de identificar compostos presentes em extratos de casca de banana demonstraram que estes subprodutos são uma fonte potencial de provitamina A, antioxidantes (GONZÁLEZ MONTELONGO et al., 2010; NGUYEN et al., 2003; SOMEYA et al., 2002; KANAZAWA e SAKAKIBARA, 2000) e carotenóides (SUBAGIO et al., 1996).

Dentre os compostos presentes na casca da banana estão os compostos fenólicos que são bastante conhecidos e pesquisados por suas propriedades antimutagenicas, antiinflamatórias, antiulcera e antimicrobianas (MANACH et al, 2004).

Someya e colaboradores (2002) identificaram o composto flavonóide galocatequina em extrato de casca de banana, *Musa Cavendish*, por meio de análises cromatográficas (CLAE) e determinaram uma concentração de 158 mg.g⁻¹ de sólido seco de galocatequina e 907 mg.g⁻¹ de sólido seco de compostos fenólicos totais. O efeito dos extratos contra a autooxidação lipídica foi avaliado pelo método ferro-tiocianato no qual identificou a galocatequina como o composto responsável pelo potencial antioxidante do extrato.

González-Montelongo e colaboradores (2010) avaliaram a atividade antioxidante e a presença de compostos bioativos em extrato de casca de banana (*Musa acuminata* Colla AAA) constatando que continham grande teor

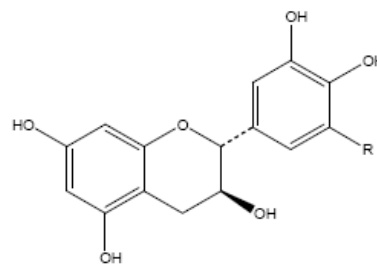
das catecolaminas, dopamina e L-dopa, proporcionando uma atividade antioxidante ao extrato. Outros compostos bioativos que foram analisados como potencialmente responsáveis pela atividade antioxidante (ácido ascórbico, tocoferóis e fitoesteróis) não foram detectados nas condições de extração utilizadas. Estes pesquisadores revelaram também que fatores como tempo e temperatura de extração interferem nos teores de bioativos sendo necessários mais estudos sobre a influência dos mesmos.

Kanazawa e Sakakibara (2000) estudaram a presença de dopamina em *Musa Cavendish* revelando que, tanto a casca como a polpa apresentam dopamina em grande quantidade, respectivamente, 80-560 mg.g⁻¹ e 2,5 – 10 mg.g⁻¹ e consideraram a banana uma rica fonte de antioxidantes. Observaram ainda que a capacidade antioxidante da dopamina extraída da casca foi maior do que a de BHA, BHT, glutadiona e catequina, e semelhante a de fortes antioxidantes como o galato de galocatequina e ácido ascórbico.

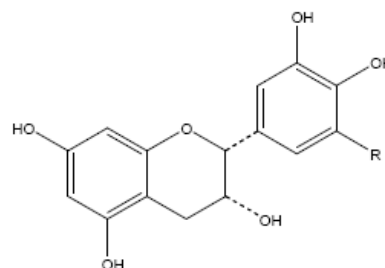
Desse modo, pesquisas vêm demonstrando que os extratos de casca de bananas apresentaram elevada atividade antioxidante e que esse resíduo pode ser uma fonte para extração de compostos antioxidantes, principalmente flavan-3-óis (Figura 4) (GONZÁLEZ-MONTELONGO et al., 2010; SOMEYA et al.s, 2002; KANAZAWA e SAKAKIBARA, 2000)

Flavanóis:

- (+)-Catequina: R=H
- (+)-Galocatequina: R=OH



- (-)-Epicatequina: R=H
- (-)-Epigalocatequina: R=OH



- (-)-Epicatequina-3-galato: R₁=H
- (-)-Galato de epigalocatequina: R₁=OH

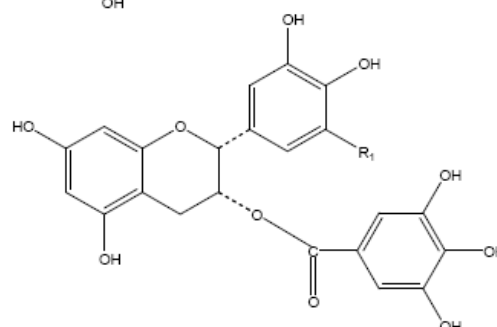


Figura 4 - Estrutura química dos flavan-3-óis.

Fonte: Lima (2008)

1.2.4. Pectinas

As pectinas são polissacarídeos complexos que constituem estrutural e funcionalmente as paredes celulares dos vegetais atuando no crescimento, morfologia, desenvolvimento e defesa do vegetal (MOHNEN, 2008). A combinação de pectina com a celulose e hemicelulose por ligações covalentes forma a protopectina, um componente multifuncional que participa da manutenção da união intercelular (PAIVA et al., 2009). A protopectina é insolúvel em água, mas em soluções ácidas é decomposta liberando a pectina (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

A estrutura química das pectinas é composta de uma cadeia principal linear constituída de várias unidades de ácido D-galacturônico (Figura 5) que estão ligados covalentemente por ligações α (1,4), formando a cadeia poligalacturônica. Os grupos carboxílicos dessa cadeia podem ser metil-esterificados em diferentes extensões e apresentar unidades de L-ramnose por meio de ligações α (1,2), às quais estão ligadas cadeias laterais, formadas por

açúcares neutros, principalmente unidades de galactose e arabinose (BOBBIO e BOBBIO, 2001; YAPO e KOFFI, 2006; YAPO e colaboradores, 2007).

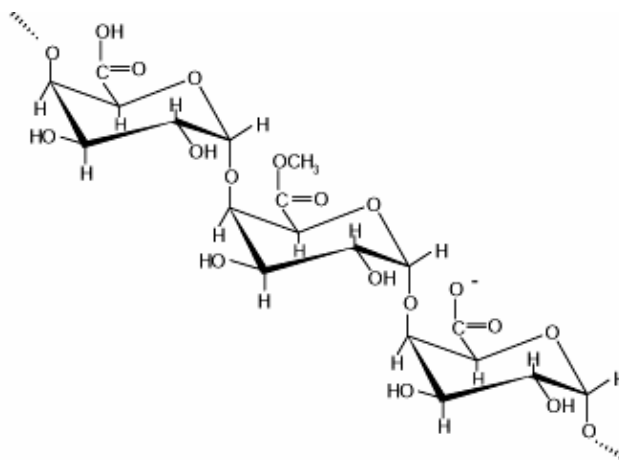


Figura 5 - Estrutura química da cadeia de pectina sem as cadeias de açúcares neutros.

Fonte: Brandão e Andrade (1999)

Assim, as pectinas compreendem um grupo de polissacarídeos ácidos que podem apresentar grande diversidade em sua estrutura fina dependendo de sua origem (tipo de vegetal e tecido) (PINHEIRO, 2007).

Quimicamente, são constituídas por homogalacturonanas (HG) e ramnogalacturonanas (RG). As homogalacturonanas constituem a região lisa das cadeias de pectinas. São homopolímeros de unidades de ácido D-galacturônico unidas por ligações glicosídicas do tipo α (1,4) apresentando muitos dos grupos ácidos metil-esterificados. Dependendo do tipo de planta, podem estar parcialmente O-acetiladas em C-3 ou C-2 (WILLATS et al., 2006). Ramnogalacturonanas constituem a região ramificada das pectinas e são divididas em dois tipos: ramnogalacturonanas I (RG-I) e ramnogalacturonanas II (RG-II):

- ramnogalacturanana tipo I (RG -I) é constituída de unidades repetidas de dissacarídeos de ácido galacturônico (GalA) e ramnose (Rha) apresentando cadeias laterais formadas por diferentes açúcares, principalmente arabinanas e galactanas, ligados diretamente às unidades de ramnose (WILLATS et al., 2006).

- ramnogalacturanana tipo II (RG-II) é um polissacarídeo complexo, formado por ácido galacturônico, ramnose, galactose e alguns açúcares raros como apiose, ácido acérico, 2-O-metil-fucose e 2-O-metil-xilose (WILLATS e colaboradores, 2006).

Há algum tempo, pesquisadores acreditavam que a estrutura principal dos polímeros pécnicos era constituída pelas homogalacturananas e ramnogalacturananas (Figura 6A). Porém, atualmente outra estrutura tem sido proposta, onde a homogalacturanana é uma cadeia lateral da ramnogalacturana do tipo I (Figura 6B) (WILLATS e colaboradores, 2006).

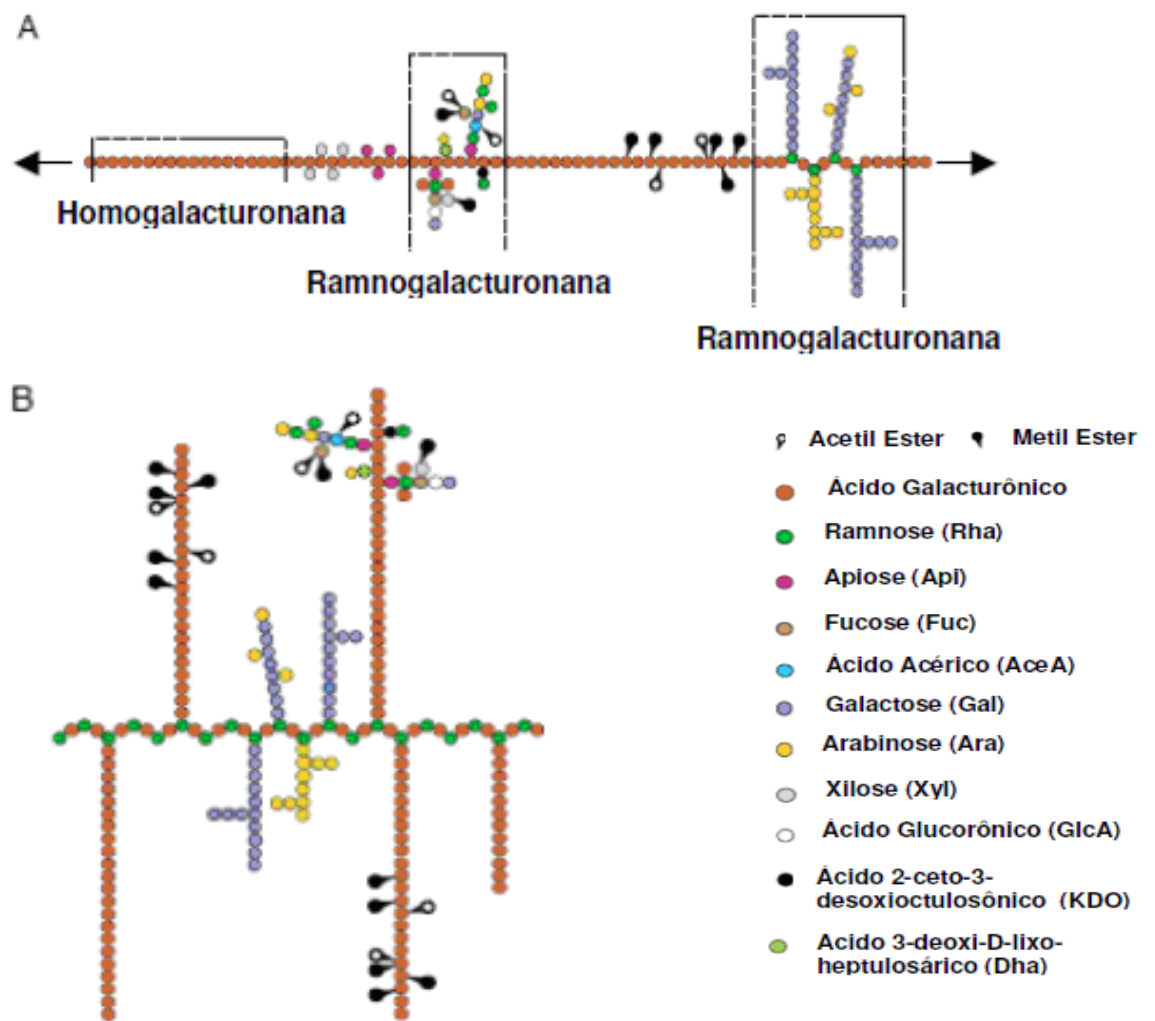


Figura 6 - Representação esquemática da estrutura convencional (A) e modelo atualmente proposto (B) das pectinas.

Fonte: Adaptado de Willats e colaboradores (2006)

Desse modo, a estrutura das pectinas é variável e essas diferenças estão associadas às frações de homogalacturanana e ramnogalacturananas,

ao comprimento da cadeia, ao teor e composição de açúcares e ao grau de metoxilação e acetilação (PAIVA et al., 2009).

A proporção de grupos carboxílicos metil-esterificados nas pectinas é expressa como grau de esterificação. De acordo com o grau de esterificação, as pectinas são divididas em dois grupos: as de alto teor de esterificação (ATE) que apresentam grau de esterificação maior ou igual a 50 %, e pectinas com baixo teor de esterificação (BTE), com valor inferior a 50 % (PAIVA et al., 2009). O grau de esterificação é fundamental para a formação do gel de pectina. As pectinas de alto grau de esterificação formam gel em pH baixo (aproximadamente 3,0) e com baixa atividade de água, geralmente obtida com altas concentrações de açúcar (> 60 %) (LÖFGREN et al., 2002; YAPO e KOFFI, 2006). A estrutura do gel formado é estabilizada por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, enquanto que pectinas de baixa metoxilação requerem cátions divalentes, tais como cálcio (Ca^{2+}) para formar o gel, com ou sem adição de açúcar (PINHEIRO et al., 2008). Assim, pectinas de baixa metoxilação são utilizadas em produtos sem adição de açúcares como agente geleificante (IGLESIAS e LOZANO, 2004).

Brandão e Andrade (1999) sugerem que a presença de cadeias laterais, com resíduos de galactose e arabinose podem influenciar em suas propriedades funcionais (solubilidade, viscosidade e geleificação). Segundo Löfgren e colaboradores (2002), a massa molecular da pectina também irá interferir em suas propriedades funcionais. De acordo Paiva e colaboradores (2009), a solubilidade das pectinas tende a aumentar com a elevação do grau de metoxilação e diminuição da sua massa molecular. Dependendo da fonte de extração, a massa molecular irá variar de 132,6 – 573,8 kDa para pectinas extraídas de casca de banana (EMAGA et al., 2008), de 100.000 – 450.000 kDa para pectinas extraídas da casca de manga (KOUBALLA et al., 2008), e de 30.000 - 70.000 kDa para frutas cítricas (PAIVA et al., 2009). Logo, as pectinas podem apresentar diferentes funcionalidades.

As aplicações das pectinas na indústria de alimentos abrangem produtos lácteos, geleias, polpa de fruta, produtos cárneos, produtos de panificação, bebidas, entre outros, devido a sua propriedade funcional geleificante, espessante e estabilizante (PAIVA et al., 2009; PINHEIRO, 2007). Também possuem atividades farmacêuticas reconhecidas, por serem fibras dietéticas hidrossolúveis, ajudam a reduzir os níveis de colesterol e de glicose no sangue.

Em produtos dietéticos, têm sido utilizadas como substituintes de açúcar e gordura (IGLÉSIAS e LOZANO, 2004).

A pectina também é utilizada na produção de uma variedade de produtos, incluindo filmes biodegradáveis e comestíveis, adesivos, substitutos de papel, espumas e plastificantes, agentes de superfície para produtos médicos, materiais para implantes biomédicos e sistemas de liberação de fármacos (MOHNEN, 2008).

A extração de pectina é um processo continuamente estudado devido a essa vasta gama de aplicações (PAIVA et al., 2009). Para tal extração três etapas básicas são necessárias: a extração do polissacarídeo do material vegetal, purificação do extrato líquido e isolamento da pectina (LIU et al., 2006). As metodologias adotadas para essas etapas podem variar, sendo que as condições empregadas terão efeitos sobre a extração e também na estrutura química da pectina extraída (EMAGA et al., 2008; QIU et al., 2010).

As pectinas atualmente comercializadas são extraídas de frutas cítricas ou bagaço de maçã por meio da utilização de ácidos minerais diluídos a quente (ácido nítrico, sulfúrico, fosfórico e clorídrico) (FERTONANI et al., 2006; QIU et al., 2010). Entretanto, existem países que não permitem a utilização de ácidos minerais, sendo estes substituídos por ácidos orgânicos (cítrico, láctico e tartárico) (CANTERI, 2010) que são mais favoráveis sob ponto de vista ambiental e econômico e, degradam menos a pectina permitindo obter pectinas com melhores propriedades geleificantes (YAPO, 2009; PINHEIRO et al., 2008).

Durante a extração da pectina fatores como pH, temperatura e tempo de extração podem interferir nas características da pectina extraídas, tais como: grau de metoxilação, teor de ácido galacturônico e conseqüentemente, em suas propriedades funcionais (EMAGA et al., 2008; PINHEIRO et al., 2008, QIU et al., 2010).

1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACQUAVIVA, R.; RUSSO, A.; GALVANO, F.; GALVANO, G.; BARCELLONA, M. L.; LI VOLTI, G., VANELLA, A. Cyanidin and cyanidin 3-O-beta-D -glucoside as DNA cleavage protectors and antioxidants, **Cell Biology and Toxicology**, v.19, p. 243-252, 2003.

ANNADURAI, G.; JUANG, R. S.; LEE, D. J. Adsorption of heavy metals from water using banana and orange peels. **Water Science and Technology**, v. 47, p. 185-190, 2004.

Anuário Brasileiro da Fruticultura 2012 / Benno Bernardo Kist ... [e colaboradores]. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2012. 128p.

ARABBI, P.R.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, p. 1124-1131, 2004.

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

BASTOS, D. H.M.; ROGERO, M.M.; ARÊAS, J.A.G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, p. 646-656, 2009.

BATISTA, P.F. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante em frutas produzidas no submédio do Vale do São Francisco**, Mossoró-RN, 2010, 162 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia: Área de concentração em Agricultura Tropical), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2010.

BIESALSKI, H.K.; DRAGSTED, L.O.; ELMADFA, I.; GROSSKLAUS, R.F.; MULLER, M.; SCHRENK, D.; WALTER, P.; WEBER, P. Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. **Nutrition**, v. 25, p. 1202–1205, 2009.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 143 p. ISBN 85-85519-12-6.

BRANDÃO, E.M.; ANDRADE, C.T. Influência de fatores estruturais no processo de geleificação de pectinas de alto grau de metoxilação. **Polímeros**, v.9, n.3, p. 38-44, 1999.

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

CANTERI, M. H. G. **Caracterização comparativa entre pectinas extraídas do pericarpo de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*)**. Curitiba, 2010, 162p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná. 2010.

CANTERI-SCHEMIN, M.H.; FERTONANI, H.C.R., WASZCZYNSKYJ, N.; WOSIACKI, G. Extraction of pectin from apple pomace. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p. 259-266, 2005.

CARRATU, E.; SANZINI, E. "Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetable". **Ann Ist Super Sanita journal**, v. 41, p. 7-16, 2005.

CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERÓN-JAIMES, L.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v.44, p. 2047-2053, 2011.

CORDENUNSI, B.R.; SHIGA, T.M.; LAJOLO, F. Non-starch polysaccharide composition of two cultivars of banana (*Musa acuminata* L.: cvs Mysore and Nanicão). **Carbohydrate Polymers**, v.71, p. 26-31, 2008.

CRUZ, M.A.R.F.; GUERRA, A.R.; ISHIKAWA, D.N.; ALFAYA, R.V.S.; ALFAYA, A.A.S. Farinha da casca da banana um biosorvente para metais pesados de baixo custo. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 32. 2009. Fortaleza. **Anais eletrônicos...**Fortaleza: Sociedade Brasileira de Química, 2009. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T0837-1.pdf>>. Acesso em: 28 jul. 2011.

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

EMAGA, T. H.; RONKART, S. N.; ROBERT, C.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. **Food Chemistry**, v. 108, p. 463-471, 2008.

FAEP. FUNDAÇÃO DE AMPARO AO ENSINO E PESQUISA. **Boletim Informativo do Sistema FAEP**, n. 1123, 16 dez. 2010, p.15.

FAOSTAT. *FAO Statistical Database*. Agriculture Data. 2011. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 30 mai. 2013.

FASOLIN, L.H.; ALMEIDA, G.C.; CASTANHO, P.S.; NETTO-OLIVEIRA, E.R. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, p. 524-529, 2007.

FERTOMANI, H. C. R.; SCABIO, A.; SCHEMIN, M. H. C.; CARNEIRO, E. B. B.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Influência da concentração de ácidos no processo de extração e na qualidade de pectina de bagaço de maçã. **Semana: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 599-612, 2006.

FIORAVANÇO, J. C. Mercado mundial de banana: produção, comércio e participação brasileira. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.33 n.10, out. 2003.

FISHMAN, M.L.; WALKER, P.N.; CHAU, H.K.; HOTCHKISS, A.T. Flash extraction of pectin from orange albedo by steam Injection. **Biomacromolecules**, v. 4, p. 880-889, 2003.

GANGA, R.M.D. Resultados parciais sobre o comportamento de seis cultivares de banana (*Musa spp*) em Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Anais...** Belém: Embrapa/DDT, 2002. CD-ROM.

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, p. 1030-1039, 2010.

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

IGLESIAS, M. T., LOZANO, J.E. Extraction and characterization of sunflower pectin. **Journal of Food Engineering**, v. 62, p.215-223, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS (IBRAF). Frutal 2009 discute o mercado externo. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/news/news_item.asp?NewsID=5293>. Acesso em: 12 nov. 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) - **Produção Agrícola Municipal**, 2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=44>. Acesso em: 28 jul. 2011.

JACKSON, M. J. The assessment of bioavailability of micronutrients: Introduction. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, p. 51-52. 1997.

JESUS, D.M.A.; ROCHA, J.F.; ALFAYA, A.A.S. Utilização da farinha da casca de banana na remoção de corante têxtil em solução aquosa. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 34., 2011, Florianópolis. **Anais eletrônicos...** Florianópolis: Sociedade Brasileira de Química, 2011. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/34ra/cdrom.>>. Acesso em: 28 jul. 2011.

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

KOUBALA, B. B.; KANSCI, G.; GARNIER, C.; MBOME, I. L.; DURAND, S.; THIBAUT, J-F.; RALET, M-C. Rheological and high gelling properties of mango (*Mangifera indica*) and ambarella (*Spondias cytherea*) peel pectins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, n. 9, p. 1809-1817, 2009.

KOUBALA, B. B.; KANSCI, G.; MBOME, L. I.; CRÉPEAU, M. J.; THIBAUT, J. F.; RALET, M. C. Effect of extraction conditions on some physicochemical

characteristics of pectins from “Améliorée” and “Mango” mango peels. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 7, p. 1345-1351, 2008.

LEAL, R.S.; PIMENTA, M.E.de.S.; TAVARES, L.S.; PIMENTA, C.J.; BASTOS, S.C.; MATTOS, B.O. Determinação de fibra alimentar solúvel e insolúvel em hambúrguer de carne bovino com reduzido teor de gordura. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 19., 2010, Lavras. **Anais eletrônicos...** Lavras: UFLA, 2010. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/lavras/resumos/784.pdf>> Acesso em: 28 jul. 2011.

LEITE, J.C.A.; SILVA, M.M; GOUVEIA, J.P.G.; ALMEIDA, F.A.C.; PEDROZA, J.P. Calor isostérico da polpa de banana variedades maçã e nanica. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.6, p.171-178, 2004.

LIU, Y.; SHI, J.; LANGRISH, T. A. G. Water-based extraction of pectin from flavedo and albedo of orange peels. **Chemical Engineering Journal**, v. 120, p. 203-209, 2006.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação de atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb)**. São Paulo – SP, 2008, 182 p. Tese (Doutorado), Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Universidade de São Paulo, 2008.

LÖFGREN, C.; WALKENSTRÖM, P.; HERMANSSON, A.-M. Microstructure and rheological behavior of pure and mixed pectin gels. **Biomacromolecules**, n. 3, p. 1144-1153, 2002.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIME`NEZ. **Polyphenols: food sources and bioavailability**. The American Journal of Clinical Nutrition, v. 79, p. 727-747, 2004.

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

MELO, A.A.M. **Estresse oxidativo em banana ‘prata’ minimamente processada tratada com antioxidantes e avaliado em camundongo APO-E-I-**. Viçosa – MG, 2010, 76p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Departamento de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, 2010.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A.C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

MOHAPATRA, D.; MISHRA, S.; SUTAR, N. Banana and its by-product utilization: an overview. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 69, p. 323-329, 2010.

MOHNEN, D. Pectin structure and biosynthesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, p. 266-277, 2008.

NGUYEN, T. B. T.; KETSA, S.; VAN DOORN, W. G. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, p. 187–193, 2003.

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**, 2011.

PAIVA, E.P.; LIMA, M.S.; PAIXÃO, J.A. Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. **Revista Iberoamericana de Polímero**, v. 10, p. 196-211, 2009.

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

PELIZER, L.H.; PONTIERI, M.H.; MORAES, I.O. Utilização de Resíduos Agroindustriais em Processos Biotecnológicos como Perspectiva de Redução do Impacto Ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v.2, p. 118-127, 2007.

PEREZ, L.H. Distribuição geográfica da bananicultura no Estado de São Paulo, 1983-2001. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.32, n.4, p.41, 2002.

PINHEIRO, E.R. **Pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*): otimização da extração com ácido cítrico e caracterização físico-química**. Florianópolis-SC, 2007, 79p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. 2007.

PINHEIRO, E.R.; SILVA, I.M.D.A.; GONZAGA, L.V. AMANTE, E.R.; TEÓFILO, R.F.; FERREIRA, M.M.C.; AMBONI, R.D.M.C. Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. **Bioresource Technology**. v. 99, p. 5561-5566, 2008.

RAMLI, S.; ALKARKHI, A. F. M.; YONG, Y.S. EASA, A.M. Utilization of banana peel as a functional ingredient in yellow noodle. **Asian Journal of Food and Agro-industry**. v.2, p. 321-329, 2009.

REYES, S.E.H. **Utilização da casca de banana, *Musa cavendishii*, Var. Lamb, madura, para produção de álcool e vinagre**. Viçosa – MG, 1991, 102p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa. 1991.

RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S. A. FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A. A.H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com

antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol - HDL. **Revista de Nutrição**, v. 16, p. 315-320, 2003.

ROSSO, S.R. **Aproveitamento do resíduo da agroindústria da banana: caracterização química e levantamento de parâmetros termodinâmicos** Florianópolis-SC, 2009, 144p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia de alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. 2009.

SENA, R.F.; NUNES, M.L. Utilização de resíduos agroindustriais no processamento de rações para carcinicultura. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v.7, n.2, p.94-102, 2006.

SILBERBERG, M.; MORAND, C.; MATHEVON, T.; BESSON, C.; MANACH, C.; SCALBERT, A.; REMESY, C. The bioavailability of polyphenols is highly governed by the capacity of the intestine and of the liver to secrete conjugated metabolites. **European Journal of Nutrition**, v. 45, p. 88-96, 2006.

SILVA, M.B.de L.; RAMOS, A.M. Comunicação - Composição química, textura e aceitação sensorial de doces em massa elaborados com polpa de banana e banana integral. **Revista. Ceres**, Viçosa, v. 56, n.5, p. 551-554, set/out, 2009.

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

SUBAGIO, A; MORITA, N.; SAWADA, S. Carotenoids and their fatty-acid esters in banana peel. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 42, p. 553–566, 1996.

QIU, L.; ZHAO, G.; WU, H.; JIANG, L.; LI, X.; LIU, J. Investigation of combined effects of independent variables on extraction of pectin from banana peel using response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 326-331, 2010.

TRAVAGLINI, D.A.; NETO, M.P.; BLEINROTH, E.W.; LEITÃO, M.F.F. **Banana-passa: princípios de secagem, conservação e produção industrial**. Campinas, SP: Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, 1993. 73p. (Manual Técnico nº 12).

VRIESMANN, L. C.; TEÓFILO, R. F.; PETKOWICZ, C. L. O. Optimization of nitric acid-mediated extraction of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) using response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 4, p. 1230-1236, 2011.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97-104, 2006.

YAPO, B. M.; KOFFI, K. L. Yellow Passion Fruit Rinds A Potential Source of Low-Methoxyl Pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2738-2744, 2006.

YAPO, B. M.; ROBERT, C.; ETIENNE, I.; WATHELET; B.; PAQUOT, M. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1356-1364, 2007.

YEOH, S.; SHI, J.; LANGRISH, T. A. G. Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels. **Desalination**, v. 218, n. 1-3, p. 229-237, 2008.

**2. CAPÍTULO I- APROVEITAMENTO DA CASCA DE BANANA (*Musa AAA*)
tipo Cavendish PARA EXTRAÇÃO DE PECTINA: OTIMIZAÇÃO E
CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E ESTRUTURAL**

RESUMO

Ao longo da cadeia de processamento da banana uma grande quantidade de resíduos com potencial de aproveitamento é gerada. Este trabalho objetivou estudar a extração de pectina da farinha da casca da banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish utilizando diferentes agentes extratores e realizar a caracterização das pectinas obtidas. Dois agentes extratores foram avaliados (ácido cítrico e ácido oxálico-oxalato de amônio, AOOA), sendo utilizado um Delineamento Composto Central (DCC) com três variáveis independentes (temperatura, tempo e pH ou concentração, dependendo do extrator), totalizando dezoito experimentos para cada agente extrator. A partir dos modelos ajustados, foram determinadas condições adequadas de extração: ácido cítrico (80 °C, 0,7 %, 80 min) e AOOA (0,25 % de oxalato de amônio, 75 °C, pH 2,8, utilizando ácido oxálico, 50 min). As pectinas foram analisadas quanto às características químicas, físicas, e estruturais, e comparadas com amostra de pectina cítrica comercial. O método de extração teve grande influência no rendimento e no grau de esterificação (DE) das pectinas extraídas. Dependendo do extrator e das condições empregadas, obteve-se um rendimento na faixa de 9,84 a 11,97 g/100g de resíduo insolúvel em álcool (base seca), DE entre 67,4 e 94,71 %, teor de ácido galacturônico entre 39,1 e 42,78 % (m/m), grau de metoxilação entre 41,95 e 62,4 % e baixo grau de acetilação (< 2,6 %). Os açúcares majoritários foram: glicose, arabinose e galactose. As análises de HPSEC-MALLS mostraram perfil heterogêneo de distribuição de massa molar para as pectinas de casca de banana. Apesar de as pectinas extraídas nas condições utilizadas neste estudo não atenderem às exigências da FAO para pectinas de padrão comercial não se exclui a possibilidade de utilização das mesmas.

Palavras-chave: pectina, casca de banana, aproveitamento de resíduos.

1. INTRODUÇÃO

A casca da banana é um resíduo domiciliar e da indústria de alimentos descartado em grande quantidade na natureza, representa cerca de 30 % da massa total da fruta madura (EMAGA et al., 2008; REYES, 1991) e ainda não possui aplicações de ordem industrial, sendo esporadicamente utilizada, de forma direta, na alimentação animal e como adubo orgânico (QIU et al., 2010; TRAVAGLINI et al., 1993; REYES, 1991). No Brasil são geradas em torno de 1,2 milhões de toneladas de resíduos de casca de banana anualmente. Por se tratar de uma fruta mundialmente produzida e consumida o aproveitamento da casca é de grande relevância.

Alguns pesquisadores têm analisado possibilidades da utilização da casca de banana na produção de doce em massa (SILVA e RAMOS, 2009); hambúrgueres enriquecidos com fibras (LEAL et al., 2010); produção de biogás (MOHAPATRA et al., 2010), matéria prima para obtenção de etanol (OBEROI et al., 2011), produção de álcool e vinagre (REYES, 1991). A farinha obtida por meio da casca de banana também apresenta aplicabilidade como biossorvente para metais pesados em soluções aquosas (CRUZ et al., 2009), agente de adsorção de corantes básicos (JESUS et al., 2011), purificação de água (ANNADURAI et al., 2004); ingrediente em massa de macarrão (RAMLI et al., 2009) e também para extração de pectina (MOHAPATRA et al., 2010; QIU et al., 2010; EMAGA et al., 2008).

As principais fontes de pectinas comerciais são as cascas de frutas cítricas e o bagaço de maçã (WILLATS et al., 2006; EMAGA et al., 2008; PINHEIRO et al., 2008; VRIESMANN et al., 2012). Entretanto, várias pesquisas têm sido realizadas com objetivo de desenvolver novas tecnologias que possibilitem o aproveitamento de resíduos gerados pelo processamento de frutos para a extração de pectina como, por exemplo, casca dos frutos do cacau (*Theobroma cacao* L.) (VRIESMANN et al., 2012), casca de manga (KOUBALLA et al., 2008), casca de maracujá (PINHEIRO et al., 2008; KULKARNI e VIJAYANAND, 2010), casca de laranja (YEOH et al., 2008; FISHMAN et al., 2003), cascas de banana (EMAGA et al., 2008), resíduo de sisal (SANTOS et al., 2013), resíduo de cana de açúcar (ZHANG et al., 2011) bagaço de pêssego (PAGÁN et al., 2001) e de maçã (CANTERI SCHEMIN et al., 2005). Assim, as cascas de algumas frutas e outros

tipos de resíduos, podem servir de matéria-prima para obtenção de pectinas utilizadas como geleificantes, estabilizantes e espessantes na indústria de alimentos (KOUBALLA et al., 2008; FISSORE et al., 2009; QIU et al., 2010; FUNAMI et al., 2011; LIANG et al., 2012; FISSORE et al., 2013; SANTOS et al., 2013).

As pectinas são hidrocolóides naturais presentes em plantas superiores. Possuem em sua complexa composição várias unidades de resíduos de ácido α -D-galacturônico (GalA) unidos por meio de ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4) e, apresentam distintos grupos ácidos metil-esterificados em C-6 ou acetilados nas posições O-2 e O-3. Em sua composição também apresentam açúcares neutros, tais como ramnose, arabinose e galactose (WESTERENG et al., 2008; PAIVA et al., 2009; VRIESMANN et al., 2011; CANTERI et al., 2012; FISSORE et al., 2013). De acordo com o grau de metoxilação, as pectinas podem ser classificadas como sendo de alto metoxil (HM) (> 50 % dos resíduos de GalA metoxilados) que gelificam somente na presença de elevadas concentrações de açúcar e em meio ácido e, as pectinas de baixo metoxil (LM) (grau de metoxilação inferior a 50 %) que não requerem a adição de açúcar para formação de gel mas sim a presença de cátions divalentes, geralmente Ca^{2+} (YAPO et al., 2007; FRAEYE et al., 2010; LIANG et al., 2012; VRIESMANN et al., 2012).

A extração de pectina é feita com ação de agentes químicos, como bases, ácidos e compostos quelantes. Na indústria há o emprego de soluções de ácidos minerais diluídos a quente (ácidos clorídrico, sulfúrico, nítrico e fosfórico) e utilizam-se valores de pH entre 1,3 - 3,0; temperatura entre 60 a 100 °C e tempo de extração variando entre 20 a 360 min (KOUBALA et al., 2008; QIU et al., 2010). Atualmente também há a utilização de ácidos orgânicos - principalmente o ácido cítrico - e enzimas que tem sido amplamente pesquisado por serem menos agressivos à estrutura da pectina e minimizarem os impactos ambientais (PINHEIRO et al., 2008; VRIESMANN et al., 2012). Diversos fatores podem influenciar no rendimento e nas propriedades funcionais das pectinas dentre as quais se destaca: as condições utilizadas na extração e a origem botânica do material (KULKARNI e VIJAYANAND, 2010; LIANG et al., 2012).

A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mais consumidas no mundo (FASOLIN et al., 2007, LEITE et al., 2004). A elevada demanda de banana em

todo o mundo está associada, principalmente, aos seus atributos sensoriais. Apesar da grande procura do fruto *in natura*, existem produtos processados e comercializados na forma de sucos, néctares, sorvete, farinha, purê, passas, geléias, compotas, licor ou aguardente (LEITE et al., 2004). Neste sentido, ao considerar a importância das pectinas para indústria de alimentos e o elevado volume de resíduos gerados ao longo do processamento de frutas, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de utilização da casca da banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish madura como fonte de pectina, empregando-se diferentes agentes extratores e condições de extração, bem como estudar as características químicas, físicas e estruturais das pectinas extraídas a partir da casca de banana.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal, processamento e obtenção do resíduo insolúvel em álcool

A fonte de pectina utilizada neste estudo foi casca de banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish. Foram adquiridos no comércio local de Viçosa-MG aproximadamente 300 Kg de banana, com “grau de coloração da casca 5” (amarela com ponta verde), segundo escala de Von Loesecke. Em seguida, transportadas ao Laboratório de Ciências de Produtos de Frutas e Hortaliças onde foram processadas.

Após classificação e sanitização, as frutas foram descascadas manualmente. Em seguida, branqueadas a 95 °C durante 5 min para a inativação de enzimas endógenas em tacho encamisado (Groen MGF Co., EUA), modelo TODA 20. As cascas foram então secas a 60 °C em secador de bandejas com circulação forçada de ar até massa constante e, em seguida, trituradas em moinho de facas Brabender (Duisburg, Alemanha), modelo WI, para a obtenção da farinha.

Para a obtenção do resíduo insolúvel em álcool (RIA), a farinha da casca de banana foi tratada quatro vezes com solução de etanol a 85 % (1:3) a 70 °C por 20 min para a remoção de compostos solúveis em álcool, tais como açúcares, pigmentos e lipídeos (EMAGA et al., 2008; KOUBALA et al., 2008). Em seguida, o RIA foi seco em estufa a 50 °C e congelado a -18 °C até sua utilização.

2.2. Análises preliminares da farinha da casca de banana e do RIA

Segundo as metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2004), foram realizadas as seguintes análises: teor de umidade foi determinado por método gravimétrico com emprego de calor, baseando-se na perda de peso do material submetido ao aquecimento em estufa (DE LEO, Bento Gonçalves, Brasil) a 105 °C até peso constante. A fração de extrato etéreo determinada em extrator intermitente de Soxhlet, utilizando éter de petróleo como solvente. A proteína bruta foi obtida pelo teor de nitrogênio total determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando um sistema digestor (BÜCHI,

Flawil, Suíça, modelo K-437; destilador de nitrogênio BÜCHI, modelo B-324), e fator de multiplicação de 6,25. As concentrações de fibras solúveis e insolúveis foram determinadas pelo método enzimático-gravimétrico. A determinação do conteúdo de cinzas realizada por gravimetria após incineração completa em mufla a 550 °C até peso constante. O teor de carboidratos, excluindo-se as fibras alimentares, foi quantificado por diferença em relação aos demais constituintes.

2.3. Planejamento experimental para a extração das pectinas e análise estatística

Para o estudo da otimização das condições de extração utilizou-se a metodologia de superfície de respostas. O Delineamento Composto Central (DCC) com três variáveis independentes foi realizado conforme descrito por Teófilo e Ferreira (2006). As variáveis independentes foram: pH ou concentração (dependendo do agente extrator), tempo e temperatura de extração. O planejamento completo consistiu de oito experimentos fatoriais (níveis +1 e -1), seis axiais (níveis $+\alpha$ e $-\alpha$) e quatro repetições no ponto central (nível 0) (Tabela 1).

As condições de extração utilizadas (Tabela 1) foram escolhidas com base em trabalhos publicados na literatura, tal como as utilizadas por Emaga e colaboradores (2008) para a extração de pectina da casca de banana e Koubala e colaboradores (2008; 2009) para a extração de pectina da casca de manga. Para as extrações com ácido cítrico, foram utilizadas diferentes concentrações do agente extrator, conforme descrito por Pinheiro e colaboradores (2008) para extração de pectina a partir da casca do maracujá amarelo. A escolha do ácido cítrico justifica-se por haver uma crescente preocupação com a utilização de ácidos minerais fortes, os quais podem ocasionar desvantagens como poluição ambiental, corrosão e degradação da pectina extraída (PINHEIRO et al., 2008; KLIEMANN, 2006).

Tabela 1 - Níveis codificados e valores reais para as variáveis empregadas na extração de pectina da casca de banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish no delineamento DCC.

Agente extrator	Variáveis	Níveis				
		$-\alpha^*$	-1	0	+1	α^*
AOOA	Tempo (min)	33	40	50	60	67
	Temperatura (°C)	72	75	80	85	88
	pH	1,2	1,5	2,0	2,5	2,8
Ácido cítrico	Tempo (min)	63	70	80	90	97
	Temperatura (°C)	77	80	85	90	94
	Concentração (%)	0,02	0,7	1,7	2,7	3,0

*Para três variáveis independentes: $\alpha = \pm 1,682$ (TEÓFILO & FERREIRA, 2006).

As variáveis respostas para o estudo de otimização foram: rendimento de extração, grau de esterificação e índice de escurecimento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão, utilizando-se o programa estatístico SAS Institute®, versão 9.2. , licenciado para a Universidade Federal de Viçosa. Foi testado inicialmente o modelo de segunda ordem completo, sendo considerados somente os coeficientes significativos ($p < 0,20$) na análise de regressão, obtendo-se os modelos ajustados. Quando os coeficientes quadráticos e/ou de interação eram significativos, os correspondentes lineares foram mantidos no modelo, mesmo não sendo significativos ($p > 0,20$).

2.4. Extração das pectinas

As extrações foram realizadas conforme descrito por Emaga e colaboradores (2008) e Koubala e colaboradores (2008) com pequenas modificações. A pectina foi extraída pela mistura do RIA com a solução extratora (soluto/solvente 1:40), utilizando-se ácido cítrico ou AOOA em diferentes condições experimentais (Tabela 1), sob agitação constante em chapa aquecedora (modelo 752A/6, Fisatom, São Paulo, Brasil). A mistura quente foi filtrada através de tecido fino de poliéster e o filtrado refrigerado a 4 °C por 2 horas. Em seguida, o extrato refrigerado foi centrifugado (Combi-514R, Hanil, Coreia do Sul) a 5000 x g durante 20 min e o sobrenadante adicionado de dois volumes de etanol (96 %) e mantido em repouso por uma hora, para permitir a precipitação das pectinas. As pectinas foram então

lavadas duas a três vezes com etanol 70 %, etanol 96 % e acetona, respectivamente. O material obtido foi submetido à secagem em estufa (DE LEO, Bento Gonçalves, Brasil) a 50 °C até massa constante e armazenada em dessecador contendo pentóxido de fósforo a temperatura ambiente até posterior utilização.

2.5. Determinação do rendimento, grau de esterificação e índice de escurecimento

Os rendimentos das extrações de pectina foram expressos em relação ao resíduo insolúvel em álcool (base seca).

$$\% P (m / m) = \frac{mP}{mRIA} \times 100 \quad (1)$$

Em que P é pectina, mP massa de pectina obtida na extração e $mRIA$ massa de RIA utilizado na extração.

O grau de esterificação das pectinas foi determinado de acordo com Pinheiro e colaboradores (2008). Pesou-se 0,2 g de pectina em béquer umedecido com etanol (95 %). Em seguida, foram adicionados 20 mL de água purificada (Millipore - Elix 35, Bedford, MA, EUA) aquecida a 40 °C, mantendo a agitação por 2 horas, sendo posteriormente realizada a titulação com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, na presença de fenolftaleína, e o resultado foi anotado como titulação inicial (T_i). Em seguida, foram adicionados 10 mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹ à amostra neutralizada, mantendo sob agitação por 2 horas para a saponificação dos grupos carboxílicos esterificados do polímero. Após a saponificação, foram adicionados 10 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹ e o excesso foi titulado com NaOH 0,1 mol L⁻¹. O volume gasto nesta titulação final foi anotado como T_f e o grau de esterificação foi determinado utilizando-se a equação abaixo:

$$DE (\%) = \left(\frac{T_f}{T_i + T_f} \right) \times 100 \quad (2)$$

Em que DE é o grau de esterificação, T_i é o volume de NaOH usado na titulação inicial e T_f o volume gasto na titulação final.

Com o objetivo de avaliar o efeito das diferentes condições de extração na coloração das pectinas extraídas, as coordenadas de cor foram determinadas diretamente em colorímetro Minolta (Color Reader CR-10, Japão), sistema CIELAB. A partir dos dados de a^* , b^* e L^* foram determinados os valores de índice de escurecimento por meio das Equações 3 e 4.

$$IE = \frac{[100(X - 0,31)]}{0,172} \quad (3)$$

Em que:

$$X = \frac{(a^* + 1,75.L)}{5,645.L + a^* - 3,021.b^*} \quad (4)$$

2.6. Caracterização das propriedades físicas e químicas das pectinas obtidas em condição otimizada

As pectinas da casca da banana extraídas com ácido cítrico e AOOA em condição otimizada foram avaliadas quanto às suas características físico químicas e, para fins de comparação, analisou-se também a pectina cítrica comercial de alto metoxil. As médias dos tratamentos foram comparadas por meio do teste de Tukey.

O teor de umidade foi determinado por gravimetria após secagem da amostra em estufa (DE LEO, Bento Gonçalves, Brasil) a 105 °C (IAL, 2004). A determinação do resíduo mineral fixo foi realizada por gravimetria após incineração completa em mufla a 550 °C (IAL, 2004). O teor de lipídios foi determinado em extrator intermitente de Soxhlet, utilizando éter etílico como solvente (IAL, 2004). O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando um sistema digestor da BÜCHI (Flawil, Suíça), modelo K-437, destilador de nitrogênio BÜCHI, modelo B-324, e fator de multiplicação de 6,25 para a determinação de proteína (IAL, 2004).

O teor de ácido galacturônico foi determinado pelo método colorimétrico, empregando-se *m*-hidroxidifenil (FILISETTI-COZZI e CARPITA, 1991). Foi preparada uma curva analítica empregando solução padrão de ácido galacturônico (GalA) nas concentrações de 20-100 µg mL⁻¹.

Os graus de metoxilação e acetilação foram determinados simultaneamente, conforme o método desenvolvido por Voragen e

colaboradores (1986). Os grupos metoxil e acetil foram liberados das frações pécnicas por saponificação com solução de NaOH 0,2 mol L⁻¹ a 4 °C por 2 horas, separados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando cromatógrafo Dionex Ultimate 3000 (Dionex, EUA), coluna Phenomenex Rezex ROA – Organic Acid H⁺ (8 %) e detector de índice de refração RI 101 (Shodex, Japão). A eluição foi realizada com solução de H₂SO₄ 5 mmol L⁻¹, temperatura de 30 °C e vazão de 0,6 mL min⁻¹. Os graus de metoxilação e acetilação foram expressos como a razão percentual molar de metanol ou ácido acético, respectivamente, para o conteúdo de ácido galacturônico, determinado conforme Filisetti-Cozzi e Carpita (1991).

Os teores de açúcares neutros foram determinados após hidrólise das pectinas com ácido trifluoracético (TFA) 2 mol L⁻¹, em tubo hermeticamente fechado, a 100 °C, durante 5 horas (ADAMS, 1965; BIERMANN, 1989). Os monossacarídeos resultantes foram então reduzidos com boroidreto de sódio (NaBH₄) a temperatura ambiente por 16 horas em meio aquoso (WOLFROM e THOMPSON, 1963b). Em seguida, os alditóis obtidos foram acetilados com piridina (agente catalisador) – anidrido acético (agente acetilante) (1:1, v/v) em tubo de hidrólise hermeticamente fechado a 25 °C por 16 horas (WOLFROM e THOMPSON, 1963a). As amostras contendo os acetatos de alditóis resultantes foram analisadas por cromatografia líquido-gasosa (GLC) em cromatógrafo gasoso Hewlett Packard modelo 5890 A Série II, com detector de ionização de chama (FID) e injetor à temperatura de 250 °C, coluna capilar DB-210 (30 m x 0,25 mm de diâmetro interno), com espessura de filme de 0,25 µm a 220 °C, e nitrogênio como gás de arraste em fluxo de 2,0 mL.min⁻¹ (SLONEKER, 1972).

As coordenadas instrumentais de cor foram determinadas diretamente utilizando-se colorímetro Minolta Color Reader CR-10 (Minolta, Japão), sistema CIELAB. A partir dos valores de a*, b* e L* foram determinados os valores de diferença total de cor (ΔE*) e da coordenada cilíndrica croma (C*), utilizando-se as Equações 5 e 6, respectivamente (ARGANDOÑA, 2005):

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (5)$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (6)$$

Em que Δ é a variação entre cada coordenada de cor para cada pectina extraída e a pectina comercial. A diferença total de cor expressa a magnitude da diferença entre a cor da pectina extraída da casca da banana e a pectina comercial. A coordenada croma indica a intensidade da cor (saturação).

O grau de tonalidade, ou o tom da cor, foi determinado pelo ângulo *hue* (h^*), definido pela Equação 7:

$$h^* = \arctan g \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (7)$$

Os perfis de homogeneidade das amostras foram avaliados por cromatografia de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC-MALLS). Foi utilizado um cromatógrafo de exclusão estérica modelo 150 C ALC/GPC (Waters, Massachusetts, EUA), acoplado a um detector de índice de refração (RI) modelo Waters 2410 e detector de espalhamento de luz em multiângulos modelo Dawn-F (Wyatt Technology, Santa Barbara, CA, EUA). Quatro colunas de permeação em gel Waters Ultrahydrogel (2000, 500, 250 e 120) foram conectadas em série e acopladas ao equipamento de multidetecção. Uma solução de NaNO_2 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, contendo $0,02\%$ de NaN_3 (m/v), foi utilizada como solvente de eluição, a um fluxo de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$.

As viscosidades intrínsecas das pectinas foram determinadas utilizando-se um viscosímetro capilar Cannon-Fenske, tipo 513-10 e diâmetro interno de $0,63 \text{ mm}$ (Schott-Geräte GmbH, Hofheim, Alemanha), acoplado a banho termostaticado modelo (CT-52, Schott-Geräte GmbH Hofheim, Alemanha) mantido a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Foram preparadas diferentes concentrações de pectina ($0,01$, $0,03$, $0,05$, $0,08$, $0,10$, $0,15$ e $0,20 \text{ g/100 mL}$), dissolvendo-as em solução aquosa contendo 90 mmol L^{-1} de cloreto de sódio, 10 mmol L^{-1} de fluoreto de sódio e 1 mmol L^{-1} de Na_2EDTA a pH $6,5$ e temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. As soluções pécticas (10 mL) foram pipetadas dentro do viscosímetro capilar e os tempos de escoamento monitorados utilizando um cronômetro digital com precisão de $\pm 0,1 \text{ s}$. Para cada concentração foram anotadas cinco medidas de tempo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os percentuais de polpa, casca e perdas no processamento da banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish foram de $62,2 \pm 0,72$; $35,2 \pm 0,29$ e $2,63 \pm 1,0$ (m/m), respectivamente. O percentual de resíduos obtido está de acordo com Wachirasiri et al. (2009) que descreve que das frutas processadas cerca de 40 % são resíduos como bagaço, cascas, sementes e partes impróprias ao processamento. Estes subprodutos são descartados no ambiente sem qualquer forma de tratamento ou, em alguns casos, podem ser aproveitados como matéria-prima para a formulação de ração animal (SENA; NUNES, 2006).

Segundo Emaga et al. (2008) a casca de banana representa cerca de 30 % da massa total da fruta madura. Neste trabalho os valores de cascas representaram aproximadamente 35 % sobre o peso total da fruta. Assim, o resultado obtido confirma a banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish pode ser considerada uma fruta com elevada massa de cascas, e que o processamento da banana em escala industrial, resulta na geração de uma grande quantidade de resíduos, cujo descarte no meio ambiente pode acarretar em problemas ambientais.

3.1. Caracterização química da farinha da casca de banana e do RIA

A composição centesimal (base seca) da farinha da casca de banana e do RIA, utilizado para a extração das pectinas está exposto na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores médios e desvios padrão da composição química da farinha da casca de banana e do resíduo insolúvel em álcool (RIA) (g/100g, base seca, exceto para umidade).

Componente	Farinha	RIA
Umidade (%)	$6,43 \pm 0,90$	$4,39 \pm 0,34$
Lipídios	$7,84 \pm 1,08$	$5,41 \pm 0,38$
Proteína	$5,72 \pm 0,77$	$6,28 \pm 0,94$
Cinzas	$6,74 \pm 0,64$	$8,70 \pm 1,07$
Fibra solúvel	$7,95 \pm 0,09$	$7,64 \pm 0,11$
Fibra insolúvel	$47,92 \pm 2,40$	$56,37 \pm 0,21$
Carboidratos (exceto fibras)	$22,89 \pm 1,23$	$11,21 \pm 0,67$

A umidade de um alimento está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição, e pode afetar características do produto como: processamento, embalagem e estocagem. Assim, a determinação de umidade e de atividade de água são medidas importantes na análise de alimentos, principalmente no processo de secagem (Park; Antônio, 2006). A água solubiliza compostos importantes, como vitaminas, minerais, açúcares e ácidos, permitindo o desenvolvimento de micro-organismos que podem comprometer a segurança do alimento. A atividade de água de 0,60 como o limite mínimo capaz de permitir o desenvolvimento de micro-organismo, daí o fato de os alimentos desidratados serem considerados microbiologicamente estáveis. O valor de atividade de Água (A_w) encontrado na farinha estudada foi $0,30 \pm 0,02$ sendo considerado um valor impróprio ao desenvolvimento de micro-organismos. Verifica-se (Tabela 2) que o teor de umidade encontrado na farinha da casca de banana madura (*Musa AAA*) tipo Cavendish foi $6,43 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e encontra-se dentro dos limites estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que estipula o máximo de 15 % (m/m) de umidade para farinhas (BRASIL, 2005). Borges e colaboradores (2009) em experimento com banana verde (*Musa spp.*) cv. Prata encontraram $3,30 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de umidade em farinha produzida com secagem em estufa de circulação de ar forçado a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 horas. Em outro experimento (DAMIANI, 1989) com farinha de banana tipo Cavendish, foi detectado $9,77 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de umidade; valor este superior ao encontrado no presente experimento em que a mesma variedade de banana foi utilizada, entretanto também se enquadra na legislação vigente para farinhas.

O valor médio de extrato etéreo obtido foi $7,84 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, valor bastante superior aos obtidos por Borges et al. (2009) de $0,68 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e Torres et al. (2005) de $0,53 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ em farinha de banana verde. Entretanto, Wachirasiri et al. (2009) em cascas maduras obtiveram valor de $13,1 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e Torrezan et al. (1999), que utilizaram as cascas da mesma cultivar de banana para elaboração de farinha, obtiveram um teor de $6,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

O valor de $5,72 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ foi encontrado para proteínas na farinha de casca de banana madura e está dentro da média descrita na literatura para farinhas obtidas a partir de banana. Borges et al. (2009) e Moares Neto et al. (1998), em farinha de banana verde cultivar Prata, encontraram valores inferiores, de $4,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e $3,2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ respectivamente. Já

Torrezan et al. (1999) encontrou valor de 9,24 g.100 g⁻¹ de proteínas em farinha de casca de banana tipo Cavendish enquanto Wachirasiri et al. (2009) detectou valor de 8,6 g.100 g⁻¹.

A legislação brasileira (Brasil, 1995) conceitua cinzas como o resíduo mineral fixo resultante da incineração da amostra do produto. O valor de cinzas encontrado (6,74 g.100 g⁻¹) foi superior aos descritos por Borges et al. (2009) (2,59 g.100 g⁻¹) e Moares Neto et al. (1998) (4,14 g.100 g⁻¹) em farinha de banana verde cultivar Prata. Entretanto, Torres et al. (2005) e Torrezan et al. (1999) encontraram, respectivamente, 2,0 g.100 g⁻¹ na farinha de banana e 13,25 g.100 g⁻¹ na farinha de cascas de mesma cultivar utilizada neste trabalho. E Wachirasiri et al. (2009) encontrou um valor ainda mais elevado 15,25g.100 g⁻¹. Assim, o teor de cinzas detectado encontra-se de acordo com a literatura e, indica um produto boa fonte de minerais quando comparado a outras farinhas comerciais, como farinha de trigo (0,68 g.100 g⁻¹), fubá de milho amarelo (0,71 g.100 g⁻¹) (GUILHERME; JOKL, 2005), farinha de mandioca (1,2 g.100 g⁻¹), farinha de arroz (0,6 g.100 g⁻¹) (IBGE, 1999) e farinha mista pré-cozida de soja e milho (1,82 g.100 g⁻¹) (FERNANDES et al., 2003).

A fibra dietética tem efeito benéfico na prevenção de diversas doenças, tais como doenças cardiovasculares, diverticulite, constipação, cólon irritável, câncer de cólon, e diabetes (RODRIGUEZ et al., 2006). O teor de fibras (solúveis e insolúveis) encontrado neste trabalho foi bastante elevado 55,87 g.100 g⁻¹. De acordo com Emaga et al. (2008) um elevado teor de fibra na casca de banana (cerca de 50 g / 100 g) é um indicativo de uma boa fonte de fibra logo, as cascas de banana podem ser ingredientes funcionais valiosos para o consumo.

Constatou-se que o RIA apresentou maior teor de fibras, proteínas e cinzas, e menor concentração de lipídios e carboidratos, quando comparado à farinha da casca. Esse resultado está relacionado ao fato de que o tratamento com etanol realizado para obtenção do RIA promove a remoção de compostos solúveis em álcool, tais como pigmentos, lipídios e sacarose, concentrando as pectinas (EMAGA et al., 2008; FISSORE et al., 2010).

Pode-se observar que o teor de fibras presentes na farinha da casca de banana demonstra que este material pode ser uma fonte potencial de pectina (CANTERI et al., 2012). A casca da banana apresentou conteúdo de fibra solúvel e cinzas menores que os valores verificados por Pinheiro e

colaboradores (2008) para a casca de maracujá (fibras de 19,2 % e cinzas de 7,52 %, m/m, base seca) e concentrações maiores de proteína (4,05 %, m/m) e lipídios (menor que 0,10 %, m/m).

3.2. Otimização da extração de pectina

Para cada agente extrator estudado, foram realizados dezoito experimentos de extração, segundo o Delineamento Composto Central (DCC) (TEÓFILO e FERREIRA, 2006). Os modelos ajustados a partir da análise de regressão são mostrados nas Tabelas 3 a 5.

3.2.1. Rendimento de extração

Os modelos ajustados que representam a variação no rendimento de pectina a partir do RIA em função das diferentes condições de extração encontram-se apresentados na Tabela 3.

Os rendimentos de extração foram afetados pelas diferentes condições de tempo, temperatura e pH (AOOA) ou concentração (ácido cítrico) empregadas.

Para a extração com ácido cítrico, observou-se que o rendimento variou de 4,17 a 19,54 g/100g de RIA. O modelo obtido explicou 87,11 % da variação das respostas em função das variáveis estudadas. A Figura 1 apresenta a variação do rendimento em função das condições experimentais, fixando-se um dos fatores no modelo obtido.

A concentração de ácido cítrico influenciou de maneira que quando seus valores aumentam o rendimento também é maior. Contudo, observou-se que aumentando a concentração de ácido cítrico durante a extração e conseqüentemente, o rendimento, o grau de esterificação das extraídas pectinas diminui e o índice de escurecimento aumenta. Assim, dependendo da temperatura e do tempo de extração, a concentração de ácido cítrico em torno de 0,7 % (m/v) é suficiente para a obtenção de bons rendimentos. Por exemplo, quando se aplicou a temperatura de 90 °C e tempo de 90 min, obteve-se o rendimento de 16,55 g/100g de RIA.

Com relação ao tempo de extração, o modelo ajustado sugere que quanto maior o tempo, menor será o rendimento, mantendo os demais fatores constantes.

Tabela 3 - Modelos ajustados para rendimento de pectina (\hat{Y}) (g 100g⁻¹), em função do tempo (T), temperatura (TE) e pH ou concentração (C) e respectivos coeficientes de determinação.

Resposta	Modelo ajustado	R ²
Ácido cítrico	$\hat{Y} = -83,94^{ns} - 0,133 * T + 1,637 * TE + 2,799^{***} C - 0,00795 * TE^2$	0,871
AOOA	$\hat{Y} = -189,432 * T + 1,771 * T^2 + 2,727 * TE + 30,012^{ns} pH - 0,01644 * T^2 + 10,81 * pH^2 - 1,048 * TE * pH$	0,831

* Significativo ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste t.

*** Significativo ao nível de 0,1 % de probabilidade pelo teste t.

* Significativo a 20 % de probabilidade pelo teste t.

^{ns} Não significativo a 20 % de probabilidade pelo teste t (p>0,20).

As variações de rendimento encontradas neste estudo são similares às obtidas por outros pesquisadores. Emaga e colaboradores (2008) obtiveram rendimento que variou de 2,4 a 21,7 g/100g para casca de banana, sendo o maior valor foi alcançado quando o RIA for tratado nas condições mais drásticas do estudo (pH 1,5; 4 horas; a 90 ° C). Yapo e colaboradores (2007) e Levigne e colaboradores (2002) observaram as mesmas tendências em pectinas extraídas de beterraba. Suhaila e Zahariah (1995) encontraram uma produção de pectina de 12 g/100g a partir de cascas de banana utilizando outras condições experimentais (acetona- HCl, pH 4,0, 1 h, e de 75 °C). Vriesmann e colaboradores (2012) obtiveram rendimentos de 3,9-10,6 g/100g a partir da casca de cacau. Yapo (2009) encontrou rendimentos de 2,8 e 5,1 g/100g na casca do maracujá amarelo. Entretanto, rendimentos maiores (39 a 62 g/100g), foram encontrados por Kliemann e colaboradores (2009) a partir da casca de maracujá utilizando ácido cítrico (pH 1,2-2,6, 40-90 °C, 10-90 min).

Vale ressaltar que ácidos orgânicos apresentam vantagem sobre os ácidos minerais por degradarem menos a estrutura da pectina e por serem mais benéficos do ponto de vista ambiental e econômico (PINHEIRO et al., 2008; YAPO, 2009).

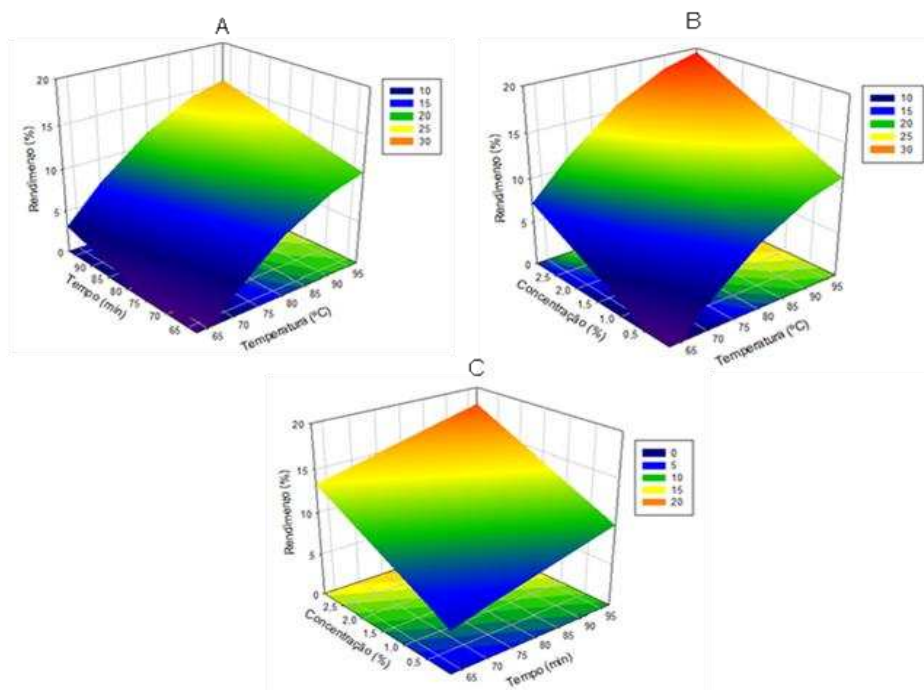


Figura 1 - Variação de rendimento de pectina extraída a partir do Resíduo Insolúvel em Álcool, utilizando ácido cítrico, (A) em função de tempo e temperatura, fixando a concentração de 0,7 % (m/v); (B) em função da concentração de ácido cítrico e temperatura fixando o tempo de extração em 80 min e (C) em função de concentração e tempo, fixando a temperatura em 80 °C.

A variação do rendimento de pectina em função das condições experimentais, empregando-se ácido oxálico-oxalato de amônio (AOOA) como agente extrator, pode ser visualizada na Figura 2. Para as extrações com AOOA, os rendimentos variaram de 6,38 a 34,27 g/100g do resíduo insolúvel. Em estudo realizado com bagaço de maçã e utilizando AOOA como agente extrator, Min e colaboradores (2011) obtiveram rendimentos próximos aos encontrados neste trabalho (7,7 g/100g). O modelo obtido apresentou coeficiente de determinação de 0,831.

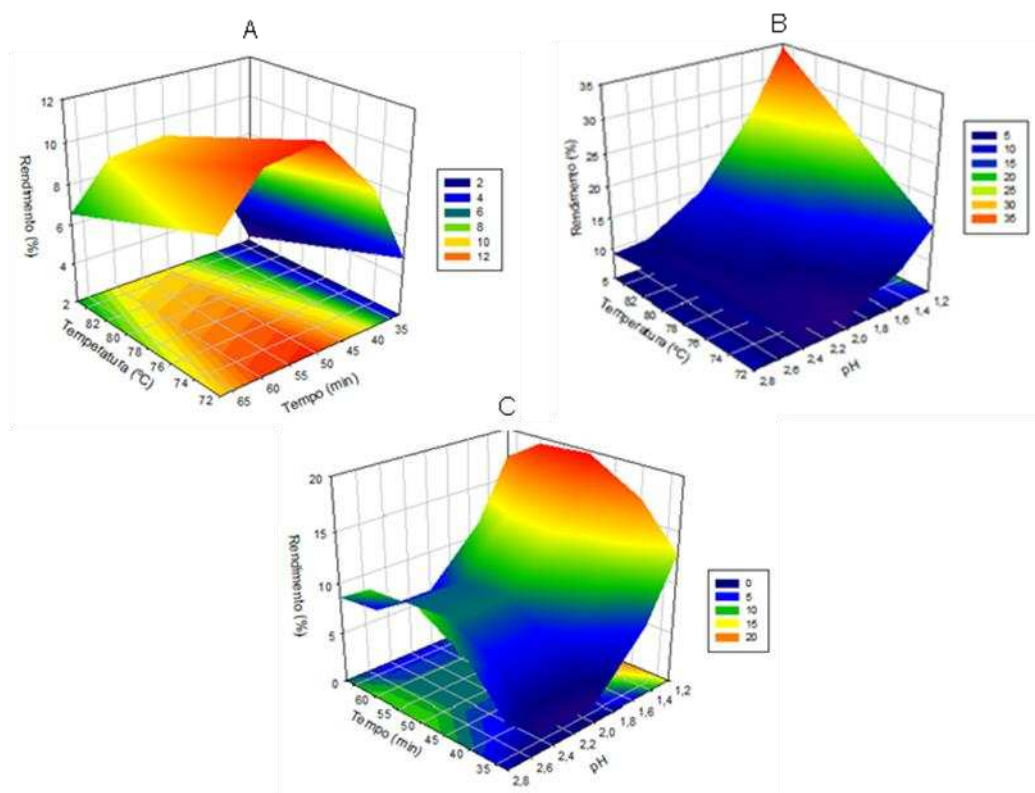


Figura 2 - Variação de rendimento de pectina a partir do Resíduo Insolúvel em Álcool, utilizando ácido oxálico-oxalato de amônio AOOA; (A) em função de temperatura e tempo, fixando a pH em 2,8; (B) em função da temperatura e pH fixando o tempo de extração em 50 min e (C) em função de tempo e pH, fixando a temperatura em 75 °C.

Dentre os agentes extratores estudados, o maior rendimento foi obtido com AOOA empregando-se 50 min, 80 °C e pH 1,2.

Os resultados mostram que independentemente do agente extrator a casca da banana pode ser uma boa fonte de pectina. Entretanto, deve-se considerar que o rendimento total de cada extração nos fornece apenas uma estimativa do rendimento de pectina, contudo dependendo das condições experimentais utilizadas, algumas impurezas e pectinas degradadas podem estar presentes.

3.2.2. Grau de esterificação

As propriedades tecnológicas das pectinas e sua habilidade na formação de géis estão diretamente relacionadas ao grau de esterificação das mesmas (LIANG et al., 2012; VRIESMANN et al., 2012).

Na Tabela 4 são apresentados os modelos ajustados que representam a variação no grau de esterificação das pectinas extraídas em função das variáveis estudadas. Destaca-se que os resultados obtidos fornecem apenas uma aproximação do grau de metoxilação, considerando um baixo grau de acetilação das pectinas, pois o grau de esterificação foi determinado por titulometria e a técnica não faz distinção entre os grupos metoxílicos e acetílicos do polímero. Assim o grau de esterificação não é necessariamente igual ao grau de metoxilação.

Tabela 4 - Modelos ajustados para grau de esterificação (\hat{Y}), em função do tempo (T), temperatura (TE) e pH ou concentração (C) e respectivos coeficientes de determinação.

Resposta	Modelo ajustado	R ²
Ácido cítrico	$\hat{Y} = -450,12 * +4,46 * T + 8,86 * TE - 3,07^{ns} C - 0,03 * T^2 - 0,053 * TE^2 + 6,98 * C^2 - 0,41 * TEC$	0,879
AOOA	$\hat{Y} = -543,73^{ns} + 0,0015^{ns} T + 19,85^{ns} TE - 180,92 * pH - 0,16 * TE^2 + 2,49 * TEpH$	0,696

*Significativo ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste t.

• Significativo a 20 % de probabilidade pelo teste t.

^{ns} Não significativo a 20 % de probabilidade pelo teste t (p>0,20).

Para as pectinas extraídas com ácido cítrico, o grau de esterificação (DE) variou de 25,0 % (97 °C; 1,7 %(m/v); 80 min) a 90,9 % (80 °C; 0,2 % (m/v); 80 min), e foram as que apresentaram maiores valores. A partir do modelo obtido, observou-se que a temperatura é uma variável que afeta diretamente o grau de esterificação das pectinas. Resultado similar foi encontrado por Emaga e colaboradores (2008) para extração de pectina a partir de cascas de banana em que perceberam que a temperatura e o tempo influenciam mais no grau de esterificação do que o pH.

A variável concentração deve ser considerada uma vez que é possível extrair pectinas com diferentes propriedades gelificantes, dependendo da concentração do ácido. Elevadas concentrações de ácido cítrico proporcionaram a obtenção de pectinas de baixo grau de esterificação e nas concentrações baixas, pectinas de alto grau de esterificação. Kurita e

colaboradores (2008) para pectinas extraídas da casca de tangerina e Pinheiro e colaboradores (2008) encontraram resultados similares para pectinas extraídas da casca de maracujá utilizando-se ácido cítrico como extrator.

Considerando que no mecanismo de desesterificação utilizado industrialmente, normalmente ocorre despolimerização, reduzindo a capacidade gelificante da pectina (FRAYE et al., 2010), a utilização do ácido cítrico como agente extrator pode ser uma conveniente alternativa para a obtenção de pectinas de baixo grau de esterificação.

Para as extrações realizadas com ácido oxálico-oxalato de amônio (AOOA) foram obtidas, em maioria, pectinas de alto grau de esterificação. Além disso, o AOOA foi o agente extrator que proporcionou a maior média DE. Isso pode ser atribuído ao fato de que as extrações com AOOA são realizadas em condições mais brandas que as do ácido cítrico, com valores de pH mais elevados, proporcionando uma menor desesterificação na estrutura da pectina.

A partir do modelo obtido, não foi observado efeito significativo do tempo de extração, dentro dos níveis estudados para extração com AOOA, enquanto o pH influenciou o grau de esterificação das pectinas. Observou-se que o pH e a temperatura foram as variáveis que afetaram o grau de esterificação, sendo que os menores valores foram obtidos nas condições de pH mais baixo.

3.2.3. Índice de escurecimento

Os modelos ajustados para o índice de escurecimento encontram-se apresentados na Tabela 5.

Verificou-se que os modelos obtidos para o índice de escurecimento para as extrações efetuadas com ácido cítrico e AOOA, explicaram apenas 63,4 e 52,9 % desta variação, apresentando pouca importância prática. Assim, o índice de escurecimento foi empregado neste estudo como indicativo de impureza das pectinas.

Tabela 5 - Modelos ajustados para o índice de escurecimento (\hat{Y}) das pectinas em função do tempo (T), temperatura (TE) e pH ou concentração (C) e respectivos coeficientes de determinação.

Resposta	Modelo ajustado	R ²
Ácido cítrico	$\hat{Y} = -190,06^{ns} + 7,36 * T + 3,38 * TE + 67,18 * C - 13,80 * C^2 - 0,0838 * TTE$	0,634
AOOA	$\hat{Y} = -921,93^{ns} + 8,06^{ns} T + 12,35^{ns} TE + 111,00 * pH - 0,053 * T^2 - 0,10 * TE^2 + 0,085 * TTE - 1,71 * TpH$	0,529

*Significativo ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste t.

• Significativo a 20 % de probabilidade pelo teste t.

^{ns} Não significativo a 20 % de probabilidade pelo teste t (p>0,22).

3.2.4. Avaliação das correlações

A fim de avaliar as correlações entre as variáveis respostas estudadas na etapa de otimização, foram estimados os coeficientes de correlação de Pearson, para cada agente extrator, os quais são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis respostas rendimento, grau de esterificação (DE) e índice de escurecimento (I.E) das pectinas.

Extrator	Resposta	Rendimento	DE (%)	I.E
Ácido cítrico	Rendimento	1,00	-0,45**	-0,38*
	DE (%)		1,00	-0,26 ^{ns}
	I.E			1,00
AOOA	Rendimento	1,00	-0,69***	-0,26 ^{ns}
	DE (%)		1,00	-0,02 ^{ns}
	I.E			1,00

* Significativo ao nível de 10 % de probabilidade.

** Significativo a 5 % de probabilidade.

*** Significativo a 0,1 % de probabilidade.

^{ns} Não significativo ao nível de 10 % de probabilidade.

Observou-se forte correlação negativa entre o rendimento e o grau de esterificação para as pectinas extraídas com AOOA e ácido cítrico. Isso indica que à medida que o rendimento da extração aumenta, o grau de esterificação

diminui. Além disso, para a maioria o índice de escurecimento não foram observadas correlações significativas ($p > 0,1$) sendo, portanto, de pouca importância prática para estes casos.

3.2.5. Determinação das condições de extração

A partir dos modelos ajustados para o rendimento, grau de esterificação e índice de escurecimento, não foi possível obter uma condição ótima de extração, ou seja, não houve uma combinação de tempo, temperatura e pH ou concentração que proporcionasse um rendimento máximo. A condição ótima só é obtida quando as derivadas segundas para cada fator estudado são negativas. Neste estudo foram verificados pontos de sela ou de mínimo, os quais não eram de interesse.

Como rendimento não deve ser considerado isoladamente na escolha de uma condição de extração de pectina, a partir dos modelos obtidos realizaram-se simulações de forma a obter uma determinada condição de extração em que se harmonizava um bom rendimento e pectinas de grau de esterificação elevado. As condições selecionadas para as extrações de pectina, com os diferentes agentes extratores estudados, e os valores de rendimento e grau de esterificação, estimados nestas condições, encontram-se apresentados na Tabela 7.

Dentre as condições escolhidas (Tabela 7), para ambos agentes extratores, as pectinas obtidas são de alto grau de esterificação ($DE > 60\%$). O maior rendimento foi obtido com AOOA ($11,97\text{ g }100\text{g}^{-1}$) e em seguida ácido cítrico ($9,84\text{ g }100\text{g}^{-1}$). Tais resultados corroboram com os obtidos por Vriesmann e colaboradores (2012) para extração de pectina de cascas de cacau e, Kulkarni e Vijayanand (2010) para extração a partir da casca de maracujá.

Tabela 7 - Condições selecionadas para as extrações de pectina com ácido cítrico e AOOA, e valores de rendimento e grau de esterificação estimados nestas condições.

Agente extrator	Condição selecionada	Valores estimados	
		Rendimento* (g/100g)	DE (%)
Ácido cítrico	80 °C, 0,7 %, 80 min	9,84	61,11
AOOA	75 °C, 0,25 % (m/v) de oxalato de amônio, pH 2,8 (utilizando ácido oxálico), 50 min	11,97	67,60

*Rendimento expresso g/100 g de resíduo insolúvel em álcool (base seca).

3.2.6. Caracterização das pectinas nas condições otimizadas

As características químicas e físicas das pectinas estão diretamente relacionadas ao método de extração utilizado em sua obtenção, o que consequentemente influencia em suas aplicações tecnológicas. Na Tabela 8 são apresentados os resultados obtidos (expressos em base seca) quanto à composição das pectinas extraídas a partir da casca de banana utilizando como agentes extratores o ácido cítrico e AOOA, bem como da amostra comercial.

De acordo com a FAO, as pectinas de padrão comercial devem apresentar um mínimo de 65 % (m/m) de ácido galacturônico em sua composição uma vez que o teor de ácido galacturônico numa amostra de pectina reflete seu grau de pureza (WILLATS et al., 2006; KLIEMANN et al., 2009). No presente estudo, o teor de ácido galacturônico nas amostras de pectina variou de 39,1 g 100 g⁻¹ (AOOA) a 42,78 g 100 g⁻¹ (ácido cítrico), ou seja, as pectinas extraídas neste estudo não atendem às exigências da FAO para pectinas de padrão comercial. Entretanto, os teores de ácido galacturônico são bem mais elevados que os descritos por Emaga e colaboradores (2008) entre 4,02 e 7,18 g 100 g⁻¹ para casca de banana utilizando outra forma de extração. Assim, apesar de não apresentar características de padrão comercial, não se exclui a possibilidade de utilização das pectinas extraídas a partir da casca de banana.

Tabela 8 - Composição química (base seca) das pectinas extraídas a partir da casca de banana e da amostra comercial.

Componente (g. 100 g⁻¹)	Ácido cítrico	AOOA	Comercial
Ácido galacturônico	42,78 ^a	39,10 ^a	68,40 ^b
Proteína	4,92 ^a	2,21 ^b	2,30 ^b
Cinzas	7,30 ^a	8,22 ^b	1,60 ^c
Lipídios	0,01 ^a	0,00 ^a	0,02 ^a
Açúcares totais	45,88 ^a	51,09 ^a	27,50 ^b
Ramnose	0,68 ^a	1,04 ^a	0,86 ^a
Fucose	0,08 ^a	0,18 ^a	0,03 ^a
Arabinose	4,78 ^a	6,59 ^a	2,00 ^b
Xilose	2,19 ^{a,b}	4,73 ^a	0,20 ^b
Manose	2,06 ^a	2,76 ^b	0,56 ^c
Galactose	2,47 ^a	4,16 ^a	3,90 ^a
Glicose	35,77 ^a	32,89 ^a	20,90 ^b

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra numa mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância.

Verificou-se que o método de extração teve influência no conteúdo de proteína e cinzas das pectinas extraídas, sendo que o maior valor encontrado de proteína foi na pectina extraída com ácido cítrico (4,92 %, m/m). A pectina comercial apresentou um teor de proteína de 2,3 % (m/m), o qual não diferiu significativamente ($p > 0,05$) da pectina extraída com AOOA (2,21 %, m/m). Normalmente, as pectinas apresentam pequena quantidade de proteína em sua composição, as quais são juntamente extraídas com os polissacarídeos das pectinas (LIANG et al, 2012; VRIESMANN et al., 2012). Para cinzas, o maior valor foi encontrado na pectina extraída com AOOA (8,22 % m/m) seguida da extraída com ácido cítrico (7,3 % m/m) e por fim a comercial com apenas 1,6 % (m/m), todas diferindo significativamente entre si ($p < 0,05$). O elevado teor de cinzas nas pectinas obtidas neste estudo provavelmente indica um alto grau de impurezas, o que pode afetar a habilidade da pectina em formar gel (KAR e ARSLAN, 1999).

O teor de lipídios foi baixo nas amostras deste estudo e não apresentou diferença significativa do teor de lipídio contido na pectina comercial. Os resultados estão de acordo com os valores descritos na literatura (LIANG et al., 2012).

Segundo Kjoniksen e colaboradores (2005) a quantidade de açúcares neutros é modificada dependendo da matéria-prima utilizada na extração de pectina e do método de extração. Os principais açúcares presentes nas pectinas foram raminose, arabinose e galactose, estando de acordo com o estudo de Yapo e colaboradores (2007), o que sugere que a estrutura da maioria das pectinas extraídas consiste na cadeia lateral de ramnogalacturano tipo I (RG-I) pela presença destes açúcares. A pequena quantidade de fucose é considerada como contaminante de materiais hemicelulósicos da parede celular.

Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) no conteúdo total de açúcares neutros das pectinas extraídas da casca da banana, entretanto estas diferiram significativamente da amostra comercial que apresentou conteúdo menor para os açúcares. Por outro lado, foi observada diferença no perfil monossacarídeo das pectinas da casca da banana e da amostra comercial. Essa última apresentou teores de glicose, manose, arabinose e xilose significativamente menores que as demais (Tabela 10). Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nos teores de raminose, fucose, e galactose. Resultados semelhantes aos observados neste estudo são descritos para casca de banana (EMAGA et al., 2008), casca de maracujá (YAPO, 2009) e casca de manga (KOUBALA et al., 2008).

Na Tabela 9 são descritas as características físicas e estruturais das pectinas extraídas da casca de banana e da amostra comercial.

Tabela 9 - Graus de metoxilação e acetilação, viscosidade intrínseca, coordenadas instrumentais de cor, massa molar média das pectinas extraídas da casca de banana e da amostra comercial.

Característica	Ácido cítrico	AOOA	Comercial
Teor de metoxilação (%)	41,95 ^a	62,40 ^b	58,20 ^b
Teor de acetilação (%)	2,53 ^a	2,47 ^a	1,10 ^b
Viscosidade intrínseca (dL g⁻¹)	0,97 ^a	1,59 ^b	3,00 ^c
Massa molar média (g mol⁻¹)	-	-	1,85 x 10 ⁵
ΔE*	30,43 ^a	30,03 ^a	-
Croma	18,67 ^a	19,47 ^a	16,9 ^b
Hue (°)	1,12 ^a	1,20 ^a	78,5 ^b

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra numa mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância.

A pectina extraída com ácido cítrico apresentou baixo grau de metoxilação (DM < 50 %) enquanto que a extraída com AOOA não diferiu significativamente ($p > 0,05$) da amostra comercial, apresentando alto grau de metoxilação (DM \geq 50 %). Assim, as últimas requerem concentrações elevadas de açúcar para a formação de géis enquanto a primeira pode ser empregada na produção de alimentos com redução de açúcar. Tais resultados estão de acordo com os encontrados na literatura: Koubala e colaboradores (2008) obtiveram maior grau de metoxilação entre pectinas extraídas com AOOA e Pinheiro e colaboradores (2008) demonstraram que baixas concentrações de ácido cítrico (0,08 - 0,5 %) proporcionaram pectinas de alto grau de esterificação, enquanto as concentrações mais elevadas extraem pectinas de baixo grau de esterificação.

Quanto ao grau de acetilação, não foram observadas diferenças significativas entre as pectinas extraídas da casca de banana ($p > 0,05$), entretanto estas pectinas diferiram significativamente ($p > 0,05$) da pectina

comercial. Geralmente, alto teor de grupos acetílicos na estrutura pectínica é indesejável, por promover impedimento estérico e a interação entre as cadeias poliméricas, o que dificulta a formação do gel.

A capacidade de um polissacarídeo atuar como agente espessante está diretamente relacionado à viscosidade intrínseca ($[\eta]$) que pode variar de acordo com a origem botânica e as condições de extração (BAGHERIAN et al., 2011). A viscosidade intrínseca das três pectinas analisadas apresentaram diferenças significativas entre si ($p < 0,05$). Segundo Canteri e colaboradores (2012) as pectinas com maior valor de viscosidade intrínseca possuem maior linearidade e maior massa molar. Assim, as pectinas obtidas a partir da casca de banana, quando comparadas à pectina comercial, apresentam $[\eta]$ menores

Na Figura 3 são apresentados os cromatogramas sobrepostos obtidos de detectores de índice de refração e espalhamento de luz (90°) das pectinas da casca de banana e da amostra comercial, obtidos por cromatografia de exclusão estérica de alta pressão usando detectores de espalhamento de luz e índice de refração (HPSEC-MALLS). O detector de espalhamento de luz (MALLS) fornece um sinal proporcional à massa molar, enquanto que a resposta de índice de refração (RI) depende da concentração do analito. Para todas as amostras analisadas, a presença de um pico principal em torno de 38 min, detectado pelo espalhamento de luz, indica a existência de polímeros de elevada massa molar. A massa molar média determinada para a amostra comercial foi de $1,85 \cdot 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ (dn/dc 0,148), o qual encontra-se na faixa de valores citados na literatura, que é de $3,5-1,2 \cdot 10^5 \text{ g mol}^{-1}$ para pectinas comerciais (PINHEIRO, 2007; CANTERI et al., 2012). Entretanto, para as pectinas extraídas da casca de banana não foi possível determinar a massa molar média, devido às amostras apresentarem tendência a formar agregados em meio aquoso. Apesar de o espalhamento de luz ser um método absoluto para determinação da massa molar média de macromoléculas, a presença de impurezas prejudica as medidas, pois os contaminantes podem levar a interpretações errôneas (DERVILLY et al., 2002).

As pectinas podem ser encontradas na forma de pó, de coloração branca, amarela clara, acinzentada ou levemente escurecida. Com relação à cor, observou-se que o método de extração não influenciou na coloração das pectinas. O valor de ΔE^* que indica a magnitude da diferença de cor entre duas amostras é considerada muito distinta quando ΔE^* possui valor superior 3,0

(PATHARE et al., 2013). Quanto à saturação ou intensidade da cor (croma) verificou-se que as pectinas da casca de banana apresentaram valores maiores que a mostra comercial ($p < 0,05$). Os valores de tonalidade (hue) obtidos nas pectinas extraídas com ácido cítrico e AOOA foram menores que 2,0 o que representa coloração mais próxima da vermelha, entretanto a amostra comercial apresentou valor de tonalidade mais próxima da amarela. Assim, é possível afirmar que tanto a tonalidade quanto a saturação contribuíram para os elevados valores de ΔE^* e que as pectinas da casca de banana apresentam coloração extremamente diferente da amostra comercial.

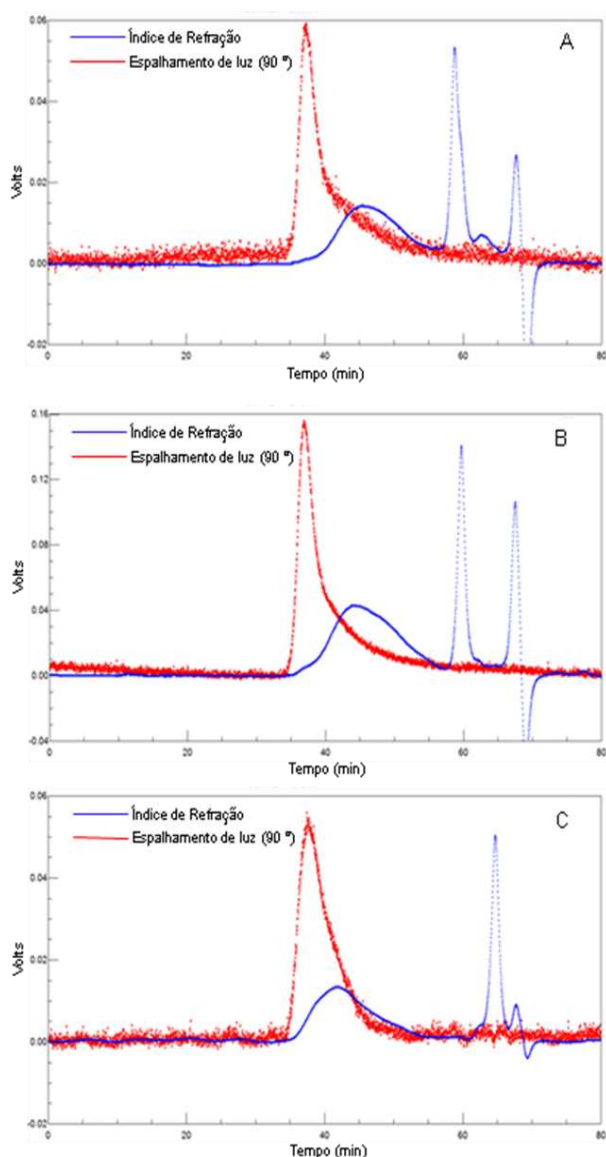


Figura 3 - Perfis de eluição obtidos por HPSEC-MALLS das amostras de pectina extraídas da casca de banana utilizando ácido cítrico (A), AOOA (B) e da pectina comercial (C).

4. CONCLUSÃO

A farinha de casca de banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish apresenta potencial de utilização como ingrediente funcional em produtos alimentícios ou alimentos para fins especiais, vindo contribuir para minimizar os problemas ambientais relativos ao descarte deste resíduo. E, devido ao seu alto teor de fibras, pode ser uma ótima alternativa para o enriquecimento de produtos alimentícios na tentativa de elevar seu valor nutricional com uma matéria-prima de baixo custo.

Os métodos de extração utilizados tiveram grande influência no rendimento e nas propriedades físicas e químicas das pectinas extraídas.

A partir dos modelos ajustados não foi possível determinar uma condição ótima para as respostas avaliadas. Todavia, uma condição adequada pôde ser determinada considerando conjuntamente o rendimento e grau de esterificação das pectinas extraídas nas diferentes condições. Estas condições foram as seguintes: ácido cítrico (80 °C, 0,7 %, 80 min) e ácido oxálico-oxalato de amônio (0,25 % de oxalato de amônio, 75 °C, pH 2,8, utilizando ácido oxálico, 50 min).

Apesar de as pectinas extraídas nas condições utilizadas neste estudo não atendem às exigências da FAO para pectinas de padrão comercial não se exclui a possibilidade de utilização das mesmas.

A partir das análises de HPSEC-MALLS, observou-se que as pectinas da casca da banana apresentaram perfil altamente heterogêneo de eluição.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G. A. Complete acid hydrolysis. **Methods in Carbohydrates Chemistry**, v. 5, p. 269-276, 1965.

ARGANDOÑA, E. J. S. **Goiabas desidratadas osmoticamente e secas: Avaliação de um sistema osmótico semicontínuo, da secagem e da qualidade**. Campinas, 2005, 157p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. 2005.

BAGHERIAN, H.; ASHTIANI, F. Z.; FOULADITAJAR, A.; MOHTASHAMY, M. Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. **Chemical Engineering and Processing**, v. 50, n. 11-12, p. 1237-1243, 2011.

BIERMANN, C. J. Hydrolysis and the other cleavage of glycosidic linkages. In: BIERMANN, C. J.; MCGINNIS, G. D. **Analysis of Carbohydrates by GLC and MS**. Florida: CRC Press, 1989. p. 27-41.

BORGES, A de M.; PEREIRA, J.; LUCENA, E. M. P. de. Caracterização de farinha de banana verde. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 29(2): 333-339 abr.-jun. 2009.

BRASIL, Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução RDC nº 263. Aprova regulamentos técnicos para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 22 set. 2005.

CANTERI, M. H. G.; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; SCHEER, A. P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.

CANTERI-SCHEMIN, M.H.; FERTONANI, H.C.R., WASZCZYNSKYJ, N.; WOSIACKI, G. Extraction of pectin from apple pomace. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p. 259-266, 2005.

CRUZ, M.A.R.F.; GUERRA, A.R.; ISHIKAWA, D.N.; ALFAYA, R.V.S.; ALFAYA, A.A.S. Farinha da casca da banana um biosorvente para metais pesados de baixo custo. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 32. 2009. Fortaleza. **Anais eletrônicos...**Fortaleza: Sociedade Brasileira de Química, 2009. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T0837-1.pdf>>. Acesso em: 28 jul. 2011.

DAMIANI, C. R. Avaliação nutricional e aceitabilidade de alimentos formulados utilizados em programas institucionais. 1989. 79 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1989.

DERVILLY, G., LECLERCK, C., ZIMMERMANN, D., ROUE, C., THIBAUT, J.F., SAULNIER, L. Isolation and characterization of high mass water soluble arabinoxylans from barley and barley malt. **Carbohydrate Polymers**, v.47, p. 143-149, 2002.

EMAGA, T. H.; RONKART, S. N.; ROBERT, C.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. **Food Chemistry**, v. 108, p. 463-471, 2008.

FASOLIN, L.H.; ALMEIDA, G.C.; CASTANHO, P.S.; NETTO-OLIVEIRA, E.R. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, p. 524-529, 2007.

FERNANDES, M.S.; WANG, S.H.; ASCHERI, J.L.R.; OLIVEIRA, M.F.; COSTA, S.A.J. Efeito da temperatura de extrusão na absorção de água, solubilidade e dispersibilidade da farinha pré-cozida de milho-soja (70:30). *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.23, n.2, 2003.

FISHMAN, M.L.; WALKER, P.N.; CHAU, H.K.; HOTCHKISS, A.T. Flash extraction of pectin from orange albedo by steam Injection. **Biomacromolecules**, v. 4, p. 880-889, 2003.

FILISSETTI-COZZI, T.M.C.C.; CARPITA, N.C. Measurement of uronic acid without interference for neutral sugars. **Analytical Biochemistry**, v. 197, n. 1, p. 157-162, 1991.

FISSORE, E. N.; PONCE, N. M.; WIDER, E. A.; STORTZ, C. A.; GERSCHENSON, L. N.; ROJAS, A. M. Commercial cell wall hydrolytic enzymes for producing pectin-enriched products from butternut (*Cucurbita moschata*, Duchesne ex Poiret). **Journal of Food Engineering**, v. 93, n. 3, p. 293-301, 2009.

FISSORE, E. N.; PONCE, N. M. A.; PLA, M. E.; STORTZ, C. A.; ROJAS, A. M.; GERSCHENSON, L. N. Characterization of Acid-Extracted Pectin-Enriched Products Obtained from Red Beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) and Butternut (*Cucurbita moschata* Duch ex Poiret). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 6, p. 3793-3800, 2010

FISSORE, E. N.; ROJAS, A. M.; GERSCHENSON, L. N.; WILLIAMS, P. A. Butternut and beetroot pectins: Characterization and functional properties. **Food Hydrocolloids**, v. 31, p. 172-182, 2013.

FRAEYE, I.; DUVETTER, T.; DOUNGLA, E.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Fine-tuning the properties of pectinecalcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 5, p. 219-228, 2010.

FUNAMI, T.; NAKAUMA, M.; ISHIHARA, S.; TANAKA, R.; INOUE, T.; PHILLIPS, G. O. Structural modifications of sugar beet pectin and the relationship of structure to functionality. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 221-229, 2011.

GUILHERME, F.F.P. & JOKL, L. Emprego de fubá de melhor qualidade protéica em farinhas mistas para produção de biscoito. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.25, n.1, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4ª ed., São Paulo, 2004. 1004p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 25 maio 2004.

JESUS, D.M.A.; ROCHA, J.F.; ALFAYA, A.A.S. Utilização da farinha da casca de banana na remoção de corante têxtil em solução aquosa. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 34., 2011, Florianópolis. **Anais eletrônicos...** Florianópolis: Sociedade Brasileira de Química, 2011. Disponível em: <<http://www.sbq.org.br/34ra/cdrom>>. Acesso em: 28 jul. 2011.

KAR, F.; ARSLAN, N. Characterization of Orange peel pectin and effect of sugars, L-ascorbic acid, ammonium persulfate, salts on viscosity of Orange peel pectin solutions. **Carbohydrate Polymers**, v.40, p. 285-291, 1999.

KJONIKSEN, A. L., HIORTH, M., NYSTROM, B. Association under shear flow in aqueous solutions of pectin. **European Polymer Journal**, v.41, p. 761-771, 2005.

KLIEMANN, E. **Extração e caracterização da pectina da casca do maracujá amarelo (*passiflora edulis flavicarpa*)**. Florianópolis-SC, 2006, 74p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. 2006.

KLIEMANN, E.; SIMAS, K. N.; AMANTE, E. R.; PRUDÊNCIO, E. S.; TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C.; AMBONI, R. D. M. C. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 476-483, 2009.

KOUBALA, B. B.; KANSCI, G.; GARNIER, C. ; MBOME, I.L.; DURAND, S. ; THIBAUT, J. F.; RALET, M. C. Rheological and high gelling properties of mango (*Mangifera indica*) and ambarella (*Spondias cytherea*) peel pectins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 1809–1817, 2009.

KOUBALA, B. B.; KANSCI, G.; MBOME, L. I.; CRÉPEAU, M. J.; THIBAUT, J. F.; RALET, M. C. Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from “Améliorée” and “Mango” mango peels. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 7, p. 1345-1351, 2008.

KULKARNI, S. G.; VIJAYANAND, P. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa* L.). **Food Science and Technology**, v. 43, p. 1026-1031, 2010.

KURITA, O.; FUJIWARA, T.; YAMAZAKI, E. Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 725-730, 2008.

LEAL, R.S.; PIMENTA, M.E.de.S.; TAVARES, L.S.; PIMENTA, C.J.; BASTOS, S.C.; MATTOS, B.O. Determinação de fibra alimentar solúvel e insolúvel em hambúrguer de carne bovino com reduzido teor de gordura. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 19., 2010, Lavras. **Anais eletrônicos...** Lavras: UFLA, 2010. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/lavras/resumos/784.pdf>> Acesso em: 28 jul. 2011.

LEITE, J.C.A.; SILVA, M.M; GOUVEIA, J.P.G.; ALMEIDA, F.A.C.; PEDROZA, J.P. Calor isostérico da polpa de banana variedades maçã e nanica. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.6, p.171-178, 2004.

LEVIGNE, S., RALET, M. C., THIBAUT, J. F. Characterization of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 145-153, 2002.

LIANG, R-H.; CHEN, J.; LIU, W.; LIU, C-M.; YU, W.; YUAN, M.; ZHOU, W-Q. Extraction, characterization and spontaneous gel-forming property of pectin from creeping fig (*Ficus pumila* Linn.) seeds. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 1, p. 76-83, 2012.

MIN, B.; LIM, J.; KO, S.; LEE, K-G.; LEE, S. H.; LEE, S. Environmentally friendly preparation of pectins from agricultural byproducts and their structural/rheological characterization. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 4, p. 3855-3860, 2011.

MOHAPATRA, D.; MISHRA, S.; SUTAR, N. Banana and its by-product utilization: an overview. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 69, p. 323-329, 2010.

MORAES NETO, J. M. et al. Componentes químicos da farinha de banana (*Musa* spp.) obtida por meio de secagem natural. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 316-318, 1998.

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**, 2011.

PAGÁN, J; IBARZ, A.; LIORCA, M; PAGÁN, A; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. **Food Research International**, v.34, p. 605-612, 2001.

PAIVA, E.P.; LIMA, M.S.; PAIXÃO, J.A. Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. **Revista Iberoamericana de Polímero**, v. 10, p. 196-211, 2009.

- PARK, K.; ANTONIO, G.C. **Análises de materiais biológicos**. Campinas: Unicamp, 2006. 21p.
- PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A.-J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 1, p. 36-60, 2013.
- PINHEIRO, E.R.; SILVA, I.M.D.A.; GONZAGA, L.V. AMANTE, E.R.; TEÓFILO, R.F.; FERREIRA, M.M.C.; AMBONI, R.D.M.C. Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. **Bioresource Technology**. v. 99, p. 5561-5566, 2008.
- QIU, L.; ZHAO, G.; WU, H.; JIANG, L.; LI, X.; LIU, J. Investigation of combined effects of independent variables on extraction of pectin from banana peel using response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 326-331, 2010.
- RAMLI, S.; ALKARKHI, A. F. M.; YONG, Y.S. EASA, A.M. Utilization of banana peel as a functional ingredient in yellow noodle. **Asian Journal of Food and Agrindustry**. v.2, p. 321-329, 2009.
- REYES, S.E.H. **Utilização da casca de banana, *Musa cavendishii*, Var. Lamb, madura, para produção de álcool e vinagre**. Viçosa – MG, 1991, 102p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa. 1991.
- RODRIGUEZ, R., JIMENEZ, A., FERNANDEZ-BOLANOS, J., GUILLEN, R. AND HEREDIA, A. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. **Trends in Food Science and Technology**. v.17, p.3-15, 2006.
- ROSSO, S.R. **Aproveitamento do resíduo da agroindústria da banana: caracterização química e levantamento de parâmetros termodinâmicos** Florianópolis-SC, 2009, 144p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia de alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. 2009.
- SANTOS, J. D. G.; ESPELETA, A. F.; BRANCO, A.; ASSIS, S. A. Aqueous extraction of pectin from sisal waste. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 1997-2001, 2013.
- SENA, R.F.; NUNES, M.L. Utilização de resíduos agroindustriais no processamento de rações para carcinicultura. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v.7, n.2, p.94-102, 2006.
- SILVA, M.B.de L.; RAMOS, A.M. Comunicação - Composição química, textura e aceitação sensorial de doces em massa elaborados com polpa de banana e banana integral. **Revista. Ceres**, Viçosa, v. 56, n.5, p. 551-554, set/out, 2009.
- SLONEKER, J. H. Gas-liquid chromatography of alditol acetates. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 6, p. 20-24, 1972.

SUHAILA, M., & ZAHARIAH, H. (1995). Extraction and characterisation of pectin from various tropical agrowastes. **ASEAN Food Journal**, v.10, p.43–50, 1995.

TEÓFILO, R.F.; FERREIRA, M.M.C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, p. 338-350, 2006.

TORRES, L. L. G.; EL-DASH, A. A.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R.;GERMANI, R.; MIGUEZ, M. Efeito da umidade e da temperatura no processamento de farinha de banana verde (*Musa acuminata*, Grupo AAA) por extrusão termoplástica. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 273-290, 2005.

TORREZAN, R.; JÚNIOR, M.F.; CORRÊA, T.B.S. **Aproveitamento de cascas de banana para a produção de farinha**. EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, 1999, p.16.

TRAVAGLINI, D.A.; NETO, M.P.; BLEINROTH, E.W.;LEITÃO, M.F.F. **Banana-passa: princípios de secagem, conservação e produção industrial**. Campinas, SP:Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, 1993. 73p. (Manual Técnico nº 12).

VORAGEN, A. G. J.; PILNIK, W.; THIBAUT, J.-F.; AXELOS, M.A.V; RENARD, C.M.C. Pectins. In: **Food polysaccharides and their applications**, STEPHEN, A.M., ed. Marcel Dekker Inc: New York, 1995, p. 287-340.

VRIESMANN, L. C.; TEÓFILO, R. F.; PETKOWICZ, C. L. O. Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid. **Food Science and Technology**, v. 49, n. 1, p. 1-9, 2012.

VRIESMANN, L. C.; TEÓFILO, R. F.; PETKOWICZ, C. L. O. Optimization of nitric acid-mediated extraction of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) using response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 4, p. 1230-1236, 2011.

WACHIRASIRI, P.;JULAKARANGKA, S.; WANLAPA, S. The effects of banana peel preparations on the properties of banana peel dietary fibre concentrate. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**. v. 31 (6), p. 605-611, 2009.

WESTERENG, B.; MICHAELSEN, T. E.; SAMUELSEN, A. B.; KNUTSEN, S. H. Effects of extraction conditions on the chemical structure and biological activity of white cabbage pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 1, p. 32-42, 2008.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97-104, 2006.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Acetilation. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 2, p. 211, 1963a.

WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydrate. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 2, p. 65, 1963b.

YAPO, B. M. Pectin quantity, composition and physicochemical behaviour as influenced by the purification process. **Food Research International**, v. 42, n. 8, p. 1197-1202, 2009.

YAPO, B. M.; ROBERT, C.; ETIENNE, I.; WATHELET; B.; PAQUOT, M. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1356-1364, 2007.

YEOH, S.; SHI, J.; LANGRISH, T.A.G. Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels. **Desalination**, v. 218, p. 229–237, 2008.

ZHANG, J; WANG, Z.; YUC, W.; WU, J. Pectins from *Canna edulis* Ker residue and their physicochemical characterization. **Carbohydrate Polymers**, v.83, p. 210–216, 2011.

3. CAPÍTULO II* - Flour of banana (*Musa AAA*) peel as a source of antioxidant phenolic compounds

* Artigo aceito Food Research International sob nº: FOODRES-D-13-02328R1

Flour of banana (*Musa* AAA) peel as a source of antioxidant phenolic compounds

Abstract

Banana peel is an underused by-product that can be processed to obtain flour that is more easily stored for further uses. The extracts of banana peel flour exhibited a high total phenolic content (around 29 mg/g, as GAE) due to the occurrence of important amounts of flavonoid phenolics: highly polymerized prodelphinidins (around 3952 mg/kg), followed by decreasing lower contents of flavonol glycosides (mainly 3-rutinosides and predominantly quercetin-based structures, accounting for around 129 mg/kg), B-type procyanidin dimers and monomeric flavan-3-ols (jointly around 126 mg/kg). The high total phenolic content of extracts of banana peel flour is likely responsible for the very high antioxidant activity ($\mu\text{M/g}$, as Trolox equivalents) measured by three different methods: FRAP, around 14 $\mu\text{M/g}$; ABTS, around 242 $\mu\text{M/g}$; ORAC, around 436 $\mu\text{M/g}$. All these results suggest the interest in going in depth of the good use of banana peel as a profitable source of bioactive phenolic compounds.

Keywords: banana; phenolic compounds; flavonols; proanthocyanidins; antioxidant activity

1. INTRODUCTION

The banana peel is household and industrial food waste discarded in large quantities in nature. It represents about 35 % of the total fresh mass of ripe fruit (Emaga et al., 2008; Reyes, 1991) and there is not further involved in remarkable industrial applications (Aurore et al., 2009; Qiu et al, 2010). Brazil was the second world producer of banana over the last two decades, accounting for overall production of 6.3 million tons per year (FAOSTAT, 2012). Around 53 % of Brazilian production of banana is industrially processed, thus representing a potential generation of 1.2 million tons of banana peel waste (IBGE, 2009). Bananas are one of the fruit most produced and consumed worldwide and the potential use of the peel would be of great relevance. Some researchers have revealed that the banana peel has compounds and nutrients important for food and for food industry. The banana peel is rich in dietary fiber, protein, essential amino acids, polyunsaturated fatty acids and potassium (Emaga et al., 2007). It also contains antioxidant compounds including polyphenols, catecholamines and carotenoids (Nguyen et al., 2003; Someya et al., 2002; Kanazawa & Sakakibara, 2000; Subagio, Morita, & Sawada, 1996). Antioxidant compounds present in banana peel, particularly their polyphenols, could contribute positively to human health. Dietary polyphenols, by means of their well-known antioxidant properties that go beyond the modulation of oxidative stress, play an important role in the prevention of degenerative diseases, particularly cardiovascular diseases and cancers (Scalbert, Johnson & Salmarsh, 2005).

With the development of orcharding sector in Brazil, the increase in the number of food industries and the intensification of fruit processing arises the problem of waste production (Qiu et al., 2010). Consequently, it becomes necessary the use of these residues because their current destination is associated with inappropriate environmental problems as well economic losses (Cordenunsi et al., 2008; Sena & Nunes, 2006). In the processing to obtain pulps and nectars, for example, about 40 % are waste, such as bagasse, peel, seeds and parts improperly processed. These byproducts are discarded into the environment without any form of treatment or, in some cases, may be used as formulation for animal feeding (Sena & Nunes, 2006). According Babbar et al.(2011), wastes of food industry should be considered as potential sources of

bioactive compounds that are of importance both for the food industry and pharmaceuticals due to its antioxidant capacity, low cost and easy availability .

In order to minimize the problem, is indispensable to develop technology that enables the rational utilization of waste generated in food processing industries, contributing even to the sustainable development of the country. Therefore, is necessary the study of the composition of the waste through scientific and technological research in order to create possibilities for turning them into profitable processing industry and use by potential consumers. Thus, when considering the importance of the phenolic compounds and the high volume of waste generated during the processing of banana, this study aimed to examine the *in vitro* antioxidant activity of flour banana peel (*Musa AAA*) and identify and quantify the phenolic compounds responsible for such activity.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Chemicals

All solvents were of HPLC quality, and all chemicals were analytical grade (> 99 %). Water was of ultrapure quality (Milli-Q). The following commercial standards from Phytolab (Vestenbergsgreuth, Germany) were used: (-)-epigallocatechin and (-)-gallocatechin. Commercial standards from Extrasynthese (Genay, France) were used: procyanidins B1 and B2; kaempferol, quercetin, isorhamnetin, myricetin, syringetin; the 3-glucosides of kaempferol, quercetin, isorhamnetin, and syringetin; and the 3-rutinoside of quercetin. The following commercial standards from Sigma (Tres Cantos, Madrid, Spain) were used: gallic acid, (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin 3-gallate, and (-)-gallocatechin 3-gallate. Finally, a sample of procyanidin B4 was kindly supplied by Prof. Fernando Zamora (Department of Biochemistry and Biotechnology, Universitat Rovira i Virgili, Spain).

All the above mentioned standards were used for identification in HPLC analysis. Quantification (in mg/kg of banana peel flour) was done as equivalents of the most representative compounds for each family of phenolic compounds: quercetin 3-rutinoside for all flavonol 3-glycosides; (+)-catechin for polymeric flavan-3-ols (total proanthocyanidins); individual flavan-3-ol monomers and dimers by their corresponding standards, but their total sum as (+)-catechin equivalents.

The chemicals: 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS), 2,4,6-tripyridyltriazine (TPTZ), 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) and gallic acid were from ALDRICH. Buffer salts and all other chemicals were of analytical grade.

2.2. Sample

Approximately 300 kg of banana (*Musa* AAA) Cavendish type were purchased in market of Viçosa-MG (Brazil), with "degree of skin color, 5" (yellow with green tip), according to Von Loesecke scale. In the Science Lab of Fruit and Vegetable Products, Federal University of Viçosa, bananas were washed and sanitized by spraying with a solution of chlorine at 50 mg L⁻¹ for 15 min. The

peels were manually removed from the pulp, cut into pieces of about 5 cm² and bleached at 95 °C for 5 min in jacketed pan (Groen MGF Co., USA, model ALL 20) to inactivate endogenous enzymes and subjected to drying at 55 °C in a tray drier with forced air up to reach constant weight. After drying, the peels were ground in a Wiley mill the Brabender (Duisburg, Germany, model WI). The obtained flour, called 'banana peel flour', was stored at -18 °C in polyethylene bags and used as feedstock for all experiments in this study.

2.3. Sample preparation

A previously described method for grape phenolic extraction was adapted (Castillo-Muñoz et al., 2009). The samples (ca. 2.5 g) were immersed in 50 mL of a solvent mixture of methanol, water, and formic acid (50:48.5:1.5 v/v/v), the extraction was assisted by homogenization for 2 min and subjected to an ultrasonic bath for 5 min and subsequent centrifugation at 2500g at 5 °C for 10 min. Two more extractions were performed with the resulting pellets using the same volume of the solvent mixture (50 mL), and the combined supernatants for each sample were maintained at -18 °C until analysis.

To analyze flavonols 10 mL of extract was dried in a rotary evaporator (35 °C) and re-dissolved in 1 mL of 20 % methanol in water and directly injected onto the HPLC equipment.

The flavan-3-ols (monomers, B-type dimers, and polymeric proanthocyanidins) were isolated from banana peel flour extracts by SPE on C18 cartridges (Sep-pak Plus C18, Waters Corp., Mildford, MA; cartridges filled with 820 mg of adsorbent). A mixture of 2 mL of extract with 12 mL of water was passed through the C18 cartridge, which had been previously conditioned with methanol (5 mL) and water (5 mL); after the cartridge was dried, methanol (15 mL) and ethyl acetate (5 mL) were added in order to recover adsorbed phenolics; after the solvent was evaporated in a rotary evaporator (35 °C), the residue was dissolved in methanol (2 mL) and stored at -18 °C for subsequent analyses.

2.4. HPLC-DAD-ESI-MSⁿ Identification of Occurring Flavonols in Banana Peel Flour

Flavonols were analyzed after adaptation of previously described method (Castillo-Muñoz et al., 2009) to the use of narrow bore, smaller particle size, chromatography columns (Rebello et al., 2013). The diluted extracts were injected (20 µL) for the analysis after filtration (0.20 µm, polyester membrane, Chromafil PET 20/25, Machery-Nagel, Düren, Germany) on a reversed-phase column Zorbax Eclipse XDB-C18 (2.1 × 150 mm; 3.5 µm particle; Agilent, Germany), thermostated at 40 °C. Flow rate was 0.19 mL/min. The solvents were: solvent A (acetonitrile/water/formic acid, 3:88.5:8.5, v/v/v), solvent B (acetonitrile/water/formic acid, 50:41.5:8.5, v/v/v), and solvent C (methanol/water/formic acid, 90:1.5:8.5, v/v/v). The linear solvents gradient was: initially, 98 % A and 2 % B; 8 min, 96 % A and 4 % B; 37 min, 70 % A, 17 % B and 13 % C; 51 min, 50 % A, 30 % B and 20 % C; 51.5 min, 30 % A, 40 % B and 30 % C; 56 min, 50 % B and 50 % C; 57 min, 50 % B and 50 % C; 64 min, 96 % A and 4 % B. For identification, ESI-MS/MS was used in negative ionization mode, setting the following parameters: dry gas, N₂, 8 L/min; drying temperature, 325 °C; nebulizer, N₂, 50 psi; ionization and fragmentation parameters were optimized by direct infusion of appropriate standard solutions (quercetin-3-rutinoside in negative ionization mode); scan range, 50–1200 *m/z*. Identification was mainly based on spectroscopic data (UV-vis and MS/MS) obtained from authentic standards or previously reported (Castillo-Muñoz et al., 2009; Lago-Vanzela et al. 2011a and 2011b). For quantification, DAD-chromatograms were extracted at 360 nm. In the case of overlapping peaks in the DAD-chromatograms (peaks 6 and 7 in **Figure 1A**), quantification was made with the help of extracted ion chromatograms (EIC) at the *m/z* values of the corresponding pseudomolecular ions of each overlapping compound: the EIC integral value was used for an estimation of the contribution of each individual overlapping compound to the joint DAD peak. All analyses were performed in triplicate.

2.5. Identification and Quantification of Occurring Flavan-3-ols in Banana Peel Flour by HPLC-ESI-MS/MS Using Multiple Reaction Monitoring (MRM)

For the identification and quantification of diverse flavan-3-ols we used standards of: the monomers (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-gallocatechin, and (-)-epicatechin 3-gallate; the dimers procyanidins B1, B2 and B4. The total polymeric proanthocyanidins content was also quantified as (+)-catechin equivalents and their structural features were characterized (molar percentage of extension and terminal subunits; mean degree of polymerization; molar percentage of galloylation; and molar percentage of prodelfinidins). We followed a previously developed method (Rebello et al., 2013) based on the use of the -EMS (enhanced mass spectrum; MS conditions) scan mode for identification, MRM (multiple reaction monitoring; MS/MS conditions) scan mode for quantification, (+)-catechin as external standard, and acid-catalyzed depolymerization induced by pyrogallol for structural characterization of proanthocyanidins.

In the analysis of flavan-3-ol monomers and B-type dimer procyanidins, 0.25 mL of the SPE-C18 extract was diluted with 4.75 mL of water:formic acid (98.5:1.5 v/v) in a chromatographic vial that was sealed, and the extract was then injected. The structural information of proanthocyanidins was obtained after acid-catalyzed depolymerization induced by pyrogallol. In this study, 0.50 mL of pyrogallol reagent solution (100 g/L of pyrogallol and 20 g/L ascorbic acid in methanolic 0.3 N HCl) was added to 0.25 mL of SPE-C18 extract, and the mixture was then maintained at 30 °C for 40 min. After the reaction was finalized with the addition of 2.25 mL of 67 mM sodium acetate and 2 mL water, the reaction mixture was then injected.

The analysis was performed using an Agilent 1200 series system equipped with DAD (Agilent, Germany), and coupled to an AB Sciex 3200 Q TRAP (Applied Biosystems) electrospray ionization mass spectrometry system (ESI-MS/MS). The chromatographic system was managed by the Agilent Chem Station (version B.01.03) data-processing station. The mass spectra data was processed with the Analyst MSD software (Applied Biosystems, version 1.5).

Analysis of samples before depolymerization allowed the determination of the concentration of monomeric flavan-3-ols and B-type procyanidin dimers.

Data of initial concentrations of flavan-3-ol monomers, obtained before depolymerization reaction, was used for correction of the concentrations of released flavan-3-ol monomers (terminal subunits of polymeric proanthocyanidins) during the depolymerization reaction of proanthocyanidins.

2.6. Determination of Total Phenolics (TPH)

The total phenolic content in the samples was determined using the Folin-Ciocalteu colorimetric method (Singleton et al. 1999). The standard curve ranges of 0.01-0.07 mg of gallic acid per mL. The absorbance was measured at 740 nm after 120 min at environment temperature. The absorbance values were then compared with those of standards of known gallic acid concentrations. All values were expressed as the mean (milligrams of gallic acid equivalents per 100 g of dry sample) \pm SD for three replications.

2.7. Antioxidant capacity

2.7.1. Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay

The FRAP assay was carried out according to the procedure described in the literature (Benzie & Strain, 1996). Briefly, the FRAP reagent was prepared from sodium acetate buffer (300 mM, pH 3.6), 10 mM TPTZ solution (40 mM HCl as solvent) and 20 mM iron(III) chloride solution in a volume ratio of 10:1:1, respectively. The FRAP reagent was prepared freshly daily and warmed to 37 °C in a water bath before use. The 240 μ L water, 80 μ L of the diluted sample was added to 2400 μ L of the FRAP reagent. The absorbance of the mixture was measured at 593 nm in Pró-Análise UV 1600 spectrophotometer, after 15 min. The standard curve was constructed using Trolox (160-720 μ M) solution.

2.7.2. 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) assay

The ABTS assay was carried out according to the method established in the literature (Re et al., 1999). Briefly, the ABTS⁺ stock solution was prepared from 7 mM ABTS in potassium persulphate (2.45 mM), and then incubated in the dark for 16 h at room temperature. The ABTS⁺ working solution was prepared by diluting the stock solution with ethanol to an absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm (Pró-Análise UV 1600 spectrophotometer). All samples were diluted approximately to provide 20–80 % inhibition of the blank

absorbance. The 30 μL of the diluted sample were mixed with 3.0 mL ABTS⁺ working solution. The absorbance of the mixture was measured at 734 nm after 25 min of incubation at 30 °C temperature, and the percent of inhibition of absorbance at 734 nm was calculated. The standard curve was constructed using Trolox (2000- 20 μM) solution.

2.7.3. Oxigen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay

The ORAC procedure used an automated plate reader with 96-well plates (Dávalos, Gómez-Cordovéz & Bartolomé, 2004). Analyses were conducted in system composed of one probe, fluorescein; a peroxy radical generator, 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH); and Trolox as a control standard. All reagents were prepared in 75 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) just before analysis. After addition of 20 μL of diluted samples, it was added 120 μL of fluorescein (0.378 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and 60 μL of AAPH (0.108 g/L) in each well, 80 minutes for reaction completion at 37 °C in automated microplate reader BMG Labtech. Fluorescence conditions were as follows: excitation at 485 nm and emission at 520 nm. The standard curve was constructed using Trolox (80- 1500 μM) solution. The area under de curve (AUC), relative fluorescence *versus* incubation time, was calculated as showed in *Equation 1*. The AUC differences between the extract and blank were taken and used for calculations.

$$AUC = 1 + \frac{f_2}{f_1} + \frac{f_3}{f_1} + \frac{f_4}{f_1} + \frac{f_n}{f_1}, \text{ where } f \text{ is the fluorescence reading.} \quad \text{Equation 1}$$

3. RESULTS AND DISCUSSION

The antioxidant activity of banana peel flour determined by three different methods (FRAP, ABTS and ORAC) and total phenolic content are presented in **Table 1**. Comparing the values obtained by the different methods used for the determination of antioxidant activity, one can observe the highest value for the ORAC method, followed by ABTS and FRAP. This fact may indicate that the compounds present in the flour act more efficiently by the mechanism of hydrogen atom transfer (HAT) than electron for cation radical ABTS and the ferric ion. Because of the lack of data dealing with ripe banana peel flour, we were only able to compare our results with those obtained for green (unripe) banana flour. Thus, results of antioxidant activity by FRAP and ORAC methods obtained for unripe banana flour, *nanicão* variety, were lower (Menezes et al., 2011): 3.59 mM Trolox eq/g DW for FRAP; and 2.61 mM Trolox eq/g DW for ORAC. Moreover, the ABTS antioxidant activity data obtained for green banana flour was also lower (Sarawong et al., 2014): 34.10 mM Trolox eq/g DW. These differences could be attributed to two reasons: on one hand, antioxidant activity values are expected to be lower for green (unripe) banana peel, since the content of bioactive compounds and therefore the antioxidant activity are usually increased over fruit maturation (Barcia et al. 2010); on the other hand, the reference found data corresponded to flour obtained from banana pulp, that is, free of solid parts (e.g., peel and bark) that usually are richer in antioxidant compounds (Someya et al., 2002; Sulaiman et al., 2011).

Table 1 - Total phenolic content (TP) and antioxidant activity (mean value \pm standard deviation; n = 3) by FRAP, ABTS and ORAC methods found in banana peel flour. Units: GAE, gallic acid equivalents; Trolox-Eq, Trolox equivalents.

TP	FRAP	ABTS	ORAC
(mg GAE/g)	(μ M Trolox-Eq/g)	(μ M Trolox-Eq/g)	(μ M Trolox-Eq/g)
29.17 \pm 0.8	14.04 \pm 1.7	242.17 \pm 34.8	435.51 \pm 60.2

Gonzalez-Montelongo et al. (2010) evaluated the antioxidant activity and the presence of bioactive compounds in extracts of banana (*Musa acuminata* Colla AAA) noting that the high content of catecholamines, dopamine and L-

dopa provide antioxidant activity to the extract. Other bioactive compounds were analyzed as potentially responsible for the antioxidant activity (ascorbic acid, tocopherols and phytosterols) but were not detected in the extraction conditions used. These researchers also showed that factors such as time and extraction temperature affected the levels of bioactive compounds, thus suggesting more research is needed on the influence of bioactive compounds on the antioxidant activity showed by banana flour.

Kanazawa and Sakakibara (2000) studied the presence of dopamine in *Musa Cavendish* revealing that dopamine occurs in large amounts in both the pulp and peel (80 to 560 mg/100g and 2.5-10 mg/100 g banana, respectively) and banana can be considered a rich source of antioxidants. They also observed that dopamine had greater antioxidative potency than glutathione, food additives such as butylated hydroxyanisole and hydroxytoluene, flavone luteolin, flavonol quercetin, and catechin, and similar potency to the strongest antioxidants gallic acid and ascorbic acid.

In addition, research has demonstrated that extracts of banana bark showed significant antioxidant activity, and this residue may be a source for extraction of antioxidant compounds, especially flavanols (Gonzalez-Montelongo et al. 2010; Someya et al., 2002; Kanazawa & Sakakibara, 2000). Studies conducted in order to identify the compounds present in banana peel extracts showed that these byproducts are a potential source of provitamin A (carotenoids like *trans*- α -carotene, *trans*- β -carotene and β -cryptoxanthin) and antioxidant compounds including carotenoids, catecholamines and phenolic compounds (Gonzalez-Montelongo et al., 2010; Nguyen et al., 2003; Someya et al., 2002; Kanazawa & Sakakibara, 2000; Subagio et al., 1996).

Among the antioxidant compounds present in banana peel are phenolic compounds which have been intensively studied in the last two decades with regards to the effects of dietary polyphenols on human health. These studies strongly support their role in the prevention of degenerative diseases, particularly cardiovascular diseases and cancers; the well-known antioxidant properties of polyphenols have been widely studied, but it has become clear that the mechanisms of action of polyphenols go beyond the modulation of oxidative stress (Scalbert et al. 2005). Flour banana peel evaluated in this study showed a higher content of phenolic compounds of 29.17 mg GAE/g DW, which is considered quite high since it is higher than the total phenolic content of fruits

known for their high content phenolics, such as blackberry (Jacques et al., 2010), blueberry (Moraes et al., 2007) and grapes (Yang et al., 2009) and even higher than 3.8 mg GAE/g DW found in banana residue (Babbar et al., 2011).

Phenolic compounds, including catecholamines, phenolic acids and flavonoids (anthocyanins; flavan-3-ols monomers and polymers, the latter also known as tannins) have been found in banana, considering different fruit parts (pulp and peel) and other plant parts like the pseudostem (Emaga et al., 2007; Aurore et al., 2009; Bennet et al., 2010; González-Montelongo et al., 2010; Saravanan & Aradhya, 2011). The content of phenolic compounds in banana peel is generally greater than that found in banana pulp: gallic catechin was more abundant in peel (158 mg/100 g DW) than in pulp (29.6 mg/100 g DW) (Someya et al., 2002); total phenolic content was higher in aqueous extracts of dried peel (3.98-13.00 mg of GAE/ g DW) than in dried pulp (0.24-7.77 mg of GAE/g DW) in seven Malaysian banana cultivars, with the only exception of Raja cultivar (76.37 vs. 12.27 mg of GAE/g DW for pulp and peel, respectively) (Sulaiman et al., 2011). Some studies have reported on the phenolic content of banana peel, but we did not find literature dealing with the phenolic content of banana peel flour. As banana peel flour is obtained by drying with heated air flow, it is expected that phenolic content was diminished by well-known thermal degradation of phenolic compounds.

In our study, we only found two types of flavonoids within the phenolic compounds of banana peel flour: flavan-3-ols and flavonols. With regards to flavan-3-ols the following single compounds were identified (**Table 2**): three monomers, namely, (+)-catechin, (-)-epicatechin and (-)-gallocatechin; and three B-type procyanidin dimers, namely, procyanidins B1, B2 and B4. The latter compounds accounted for a total amount of around 126 mg/kg as (+)-catechin equivalents. B-type procyanidins accounted for higher molar proportions than monomeric flavan-3-ols, the most abundant single compounds being procyanidin B2 and (-)-gallocatechin, respectively. Gallocatechin has been reported to account in banana peel extracts (158 mg/100 g DW, vs. 29.6 mg/100 g DW in pulp) and positively correlated to the antioxidant potential of the extracts (Someya et al., 2002).

Table 2 - Total content (as (+)-catechin equivalents) and molar percentage (mean \pm standard deviation; n = 3) of monomeric flavan-3-ols and B-type procyanidin dimers found in banana peel flour.

flavan-3-ols	molar %
(+)-catechin	1.34 \pm 0.27
(-)-epicatechin	2.55 \pm 0.09
(-)-gallocatechin	4.20 \pm 0.39
procyanidin B1	1.27 \pm 0.49
procyanidin B2	81.95 \pm 0.01
procyanidin B4	7.90 \pm 0.62
total (mg/kg)	125.8 \pm 7.7

Flavan-3-ols of polymeric nature, known as tannins or proanthocyanidins, were also present in banana peel flour, accounting for a total concentration of around 3952 mg/kg, as (+)-catechin equivalents, the content being much higher than that of respective flavan-3-ol monomers and dimers (**Table 3**). These proanthocyanidins were structurally characterized, showing a high degree of polymerization (mDP, average of around 19) and a high contribution of prodelfphinidin-type units: in the case of extension units, (-)-epigallocatechin was the dominant structural unit (molar percentage of around 70 %); in contrast, (-)-epicatechin dominated within terminal units (molar percentage of around 65 %) although (-)-gallocatechin and (-)-epigallocatechin contributions were remarkable (molar percentage of around 24 and 8 %, respectively). It is well established that the higher the polymerization degree of proanthocyanidins the higher the perceived feel-in-mouth known as astringency. To the best of our knowledge, this is the first time that the occurrence of B-type procyanidins and the structural characterization of proanthocyanidins have been reported for banana peel.

Table 3 - Structural characterization of the proanthocyanidins (molar percentages: mean \pm standard deviation) found in banana peel flour.

proanthocyanidins characteristics*	
total PA (mg/kg)	3952 \pm 405
mDP	19.20 \pm 2.8
% terminal-prodelphinidin	31.74 \pm 2.06
% terminal-C	3.22 \pm 0.44
% terminal-EC	65.05 \pm 1.75
% terminal-GC	24.23 \pm 1.41
% terminal-EGC	7.51 \pm 0.67
% extension-prodelphinidin	72.12 \pm 5.66
% extension-C	0.66 \pm 0.18
% extension-EC	27.21 \pm 5.51
% extension-GC	1.76 \pm 0.13
% extension-EGC	70.36 \pm 5.53

*total PA, total concentration of proanthocyanidins, as (+)-catechin equivalents, calculated by total sum of the concentrations of all the extension and terminal subunits; mDP, mean degree of polymerization; % prodelphinidin, % of epigallocatechin subunits; and % of each of the flavan-3-ol monomers found as terminal and extension subunits; C, (+)-catechin; EC, (-)-epicatechin; GC, (-)-gallocatechin; EGC, (-)-epigallocatechin.

Flavonols are a type of flavonoid phenolic compounds easily found in many fruits, but there is a lack of literature data dealing with their identification in banana. These compounds were detected in the studied banana peel flour (**Table 4**) in amounts around 129 mg/kg (as quercetin-3-rutinoside equivalents). Their identification was mainly based on UV-vis and MSⁿ data and the suggested assignments corresponded to only glycosides (**Figure 1**). The complete series of 3-rutinosides of the six common flavonoid structures within flavonols was found: the B-ring monosubstituted, kaempferol; the B-ring disubstituted, quercetin and isorhamnetin; and the B-ring trisubstituted, myricetin, laricitrin and syringetin. The assignment of flavonol structures was suggested on the basis of the matching of chromatographic and spectral

properties of an authentic standard of quercetin-3-rutinoside and the rest of rutinoside series derivatives were assumed to be also 3-rutinosides. In addition, two minor rutinoside isomers of kaempferol and quercetin were found and they were assigned as 7-rutinosides (**Figures 2B, 2C, 2E and 2F**), since these compounds have been found in other plant materials (Williams, 2006). Finally, other two glycosides of kaempferol and quercetin were assigned as 3/7-rutinoside-3/7-rhamnosides (**Figures 2A and 2D**; the linking positions of rutinoside and rhamnoside moieties were suggested to be also C-3 or C-7 and may be interchanged). Quercetin-based glycosides were the most important flavonols in banana peel flour, accounting for around of the half of total flavonol pool.

Table 4 - Chromatographic and spectroscopic (UV-vis and MS/MS spectra) characteristics of the flavonols identified in flour banana peel by HPLC-DAD-ESI-MS/MS (negative ionization mode), molar proportions (mean value \pm standard deviation, n=3), and total concentration (as quercetin 3-rutinoside equivalents) Peak numbers as in **Figure 1**.

peak	assignment*	Rt (min)	UV-vis (nm)	pseudomolecular ion; product ions (<i>m/z</i>)	% molar
1	M-3-rutinoside	20.84	260, 305(sh),357	625; 317, 316	22.50 \pm 0.50
2	Q-3/7-rutinoside-3/7-rhamnoside ^b	21.81	~ 355	755; 609, 301, 300	12.91 \pm 0.14
3	K-3/7-rutinoside-3/7-rhamnoside ^b	25.95	265, 290, 351	739; 593, 285, 284	5.32 \pm 0.10
4	Q-7-rutinoside	26.40	253, 265 (sh), 300 (sh), 343	609; 301, 300	8.78 \pm 0.15
5	Q-3-rutinoside	28.11	256, 264 (sh), 295 (sh), 352	609; 301, 300	29.87 \pm 0.07
6 ^a	K-7-rutinoside	30.88	~ 350	593; 447, 285, 284	4.12 \pm 0.01
7 ^a	L-3-rutinoside	30.88	265, 356	639; 331, 330	2.22 \pm 0.510
8	K-3-rutinoside	34.15	265, 295 (sh), 349	593; 285	12.35 \pm 0.20
9	I-3-rutinoside	37.11	~ 353	623; 315	1.31 \pm 0.09
10	S-3-rutinoside	38.70	~ 357	653; 345	0.63 \pm 0.01
total (mg/kg)					128.7 \pm 12.8

* Abbreviations: M, myricetin; Q, quercetin; L, laricitrin; K, kaempferol; I, isorhammetin; S, syringetin. ^a Overlapping peaks. ^b Substituents at positions 3 and 7 could be interchanged.

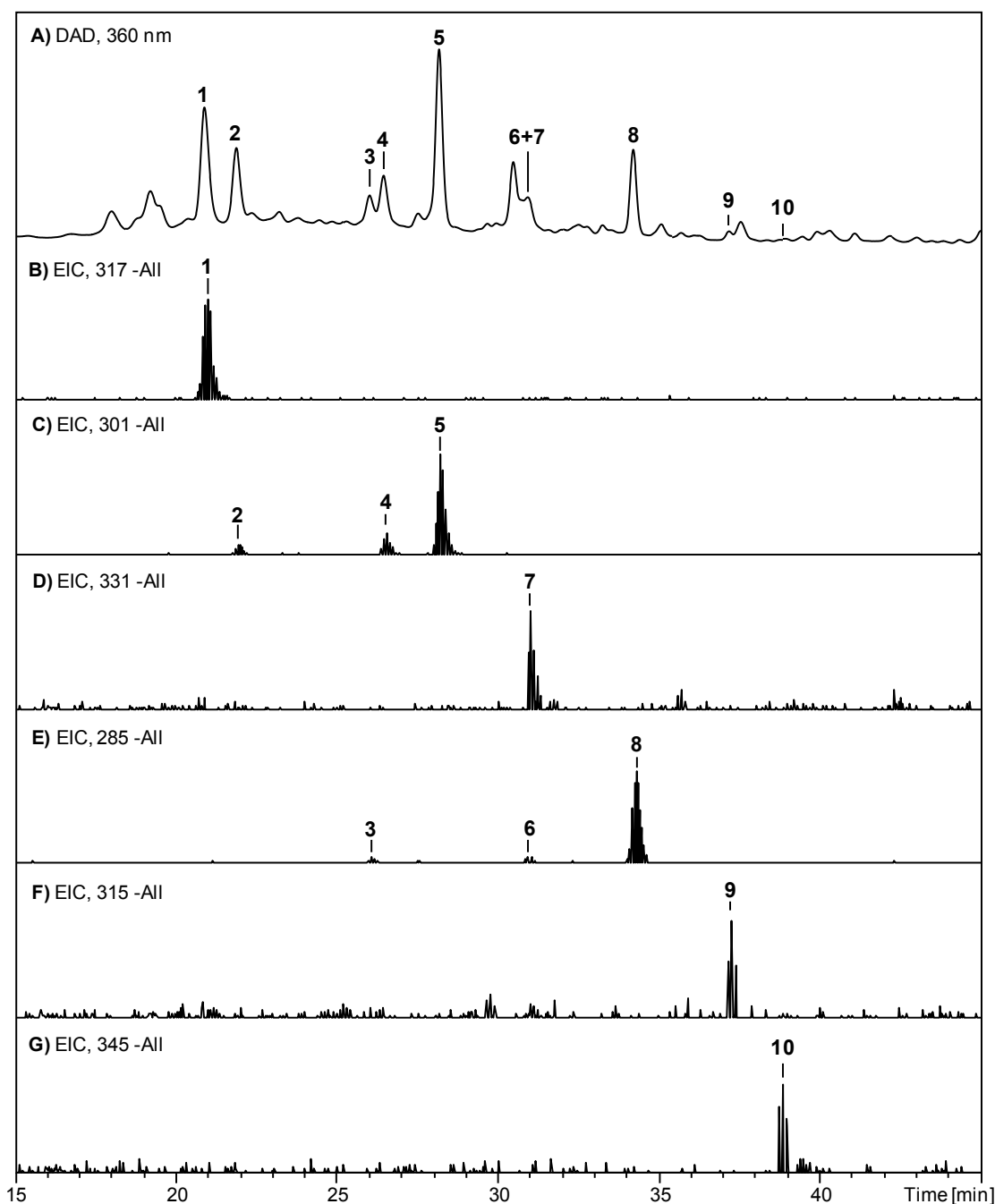


Figure 1 - HPLC-chromatographic profile of flavonols present in banana peel flour extracts: A) DAD-chromatogram at 360 nm; B) Extracted Ion Chromatogram (EIC) at $m/z = 317$, corresponding to myricetin-based flavonols; C) EIC at $m/z = 301$, corresponding to quercetin-based flavonols; D) EIC at $m/z = 331$, corresponding to laricitrin-based flavonols; E) EIC at $m/z = 285$, corresponding to kaempferol-based flavonols; F) EIC at $m/z = 315$, corresponding to isorhamnetin-based flavonols; G) EIC at $m/z = 345$, corresponding to syringetin-based flavonols.

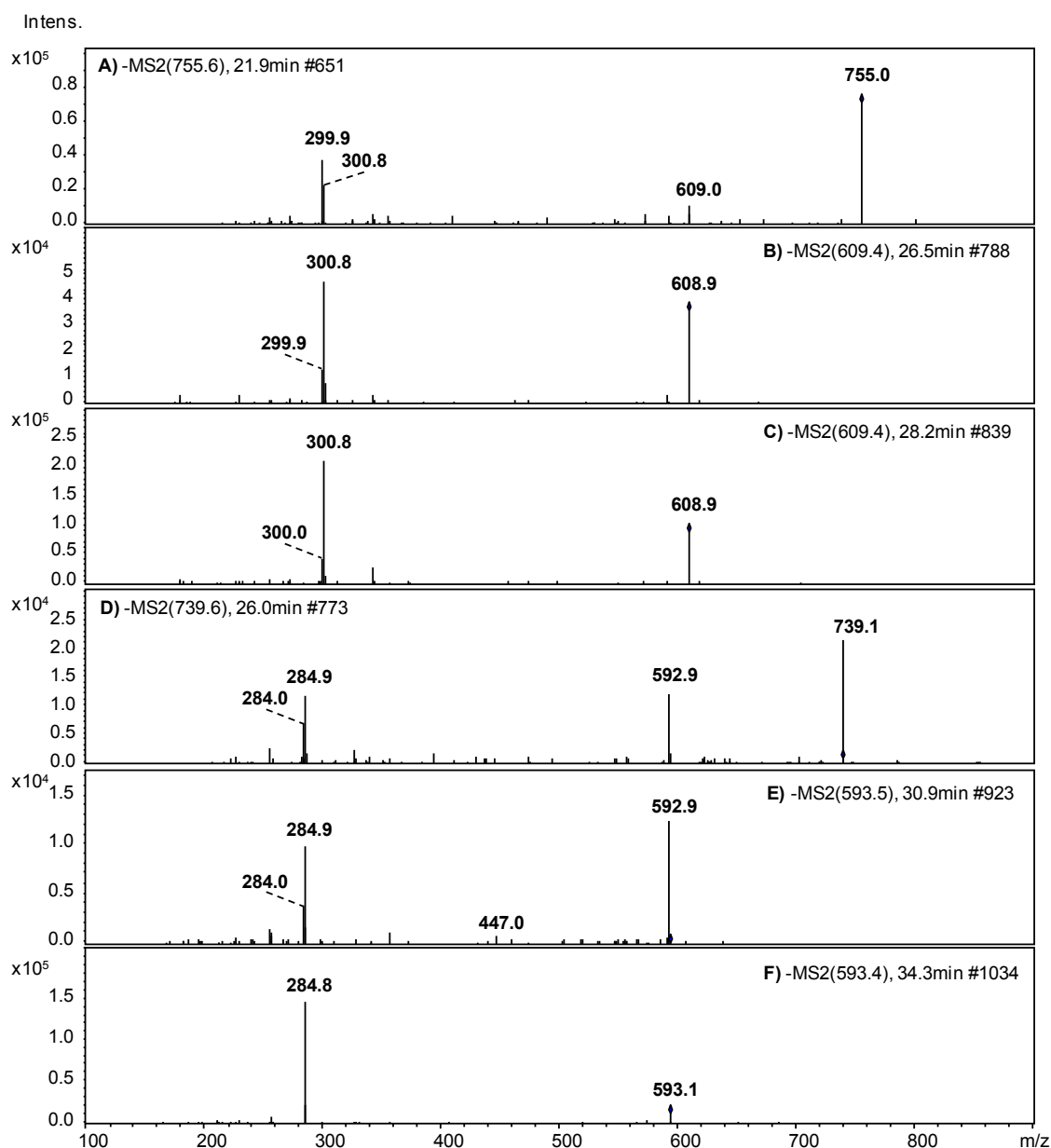


Figure 2 - MS/MS spectra in negative ionization mode (-MS2) obtained from the pseudo-molecular ($[M-H]^-$) parent ions corresponding to the quercetin- and kaempferol based flavonols found in banana peel flour extracts (the m/z value is indicated): A) quercetin 3/7-rutinoside-3/7-rhamnoside (pseudo-molecular parent ion, $m/z = 755$); B) quercetin 7-rutinoside ($m/z = 609$); C) quercetin 3-rutinoside ($m/z = 609$); D) kaempferol 3/7-rutinoside-3/7-rhamnoside ($m/z = 739$); E) kaempferol 7-rutinoside ($m/z = 593$); F) kaempferol 3-rutinoside ($m/z = 593$).

4. CONCLUSION

Banana peel is an underused by-product of industrial banana processing that is rich in total phenolic compounds. Banana peel can be processed to obtain flour that is more easily stored for further uses. The high phenolic content of extracts of banana peel flour are likely responsible for the very high antioxidant activity shown by it, as measured by three different methods (FRAP, around 14 $\mu\text{M/g}$; ABTS, around 242 $\mu\text{M/g}$; ORAC, around 436 $\mu\text{M/g}$; all of them as Trolox equivalents). The extracts of banana peel flour exhibited a high phenolic content due to the occurrence of important amounts of flavonoid phenolics: mainly, highly polymerized proanthocyanidins (around 3952 mg/kg, as (+)-catechin) and followed by decreasing lower contents of flavonol glycosides (around 129 mg/kg, as quercetin 3-rutinoside), B-type procyanidin dimers and monomeric flavan-3-ols (jointly around 126 mg/kg, as (+)-catechin). As far as we known, the phenolic composition of banana peel and related products (e.g., banana peel flour) has not been previously characterized in detailed knowledge as we do. The results have demonstrated that flavonoids are important phenolic compounds of banana peel flour, in agreement with other antioxidant-rich foodstuffs (e.g., berries and wine). All these results suggest the interest in going in depth of the good use of banana peel as a profitable source of bioactive compounds because it is a cheap by-product with a high content of antioxidant flavonoids.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors Rebello, L. P. G. and Barcia, M.T., thanks the following Brazilian institutions: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for their scholarship in the Program of Doctoral Sandwich Abroad (PDSE); the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq); and the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais. Author Castillo-Muñoz, N., thanks the Fondo Social Europeo and the Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha for co-funding his contract (project POII10-0061-4432). Author Hermosín-Gutiérrez, I. thank Spanish Ministerio de Economía y Competitividad for financial support (project AGL2011-29708-C02-02).

5. REFERENCES

- AURORE, G., PARFAIT, B., & FAHRASMANE, L. (2009). Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 78-91.
- BABBAR, N., OBEROI, H.S., UPPAL, D.S., PATIL, R.T. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues *Food Research International*, 44, 391–396.
- BARCIA, M. T., JACQUES, A. C., PERTUZATTI, P. B., & ZAMBIAZI, R. C. (2010). Determination by HPLC of ascorbic acid and tocopherols in fruits. *Semina: Ciências Agrárias*, 31, 381-390.
- BENNETT, R.N., SHIGA, T. M., HASSIMOTTO, N. M. A., ROSA, E. A. S., LAJOLO, F. M., & CORDENUNSI, B. R. (2010). Phenolics and Antioxidant Properties of Fruit Pulp and Cell Wall Fractions of Postharvest Banana (*Musa acuminata* Juss.) Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7991–8003.
- BENZIE, I. F. F., & STRAIN, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- CASTILLO-MUÑOZ, N., GÓMEZ-ALONSO, S., GARCÍA-ROMERO, E., GÓMEZ, M. V., VELDERS, A. H., & HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. (2009a). Flavonol 3-O-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 209-219.
- CORDENUNSI, B. R., SHIGA, T. M., & LAJOLO, F. (2008) Non-starch polysaccharide composition of two cultivars of banana (*Musa acuminata* L.: cvs Mysore and Nanicão). *Carbohydrate Polymers*, 71, 26-31.
- DÁVALOS, A., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., & BARTOLOMÉ, B. (2004). Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 48-54.
- EMAGA, T. H., ANDRIANAIVO, R. H., WATHELET, B., & PAQUOT, M. (2007). Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. *Food Chemistry*, 103, 590-600.
- EMAGA, T. H.; RONKART, S. N.; ROBERT, C.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. (2008). Characterization of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. *Food Chemistry*, 108, 463-471.
- FAOSTAT. *FAO Statistical Database*. Agricultural Data. 2012. Available in: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Accessed in: 20 October, 2013.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R., LOBO, M. G., & GONZÁLEZ, M. (2010). Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry*, 119, 1030-1039.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). *Produção Agrícola Municipal*, 2009. Available in: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=44>. Accessed in: 28 July, 2011.

JACQUES, A. C., PERTUZATTI, P. B., BARCIA, M. T., ZAMBIAZI, R. C., & CHIM, J. F. (2010). Stability of bioactive compounds in frozen pulp of blackberry (*Rubus fruticosus*) cv. Tupy. *Química Nova*, 33, 1720-1725.

KANAZAWA, K., & SAKAKIBARA, H. (2000). High content of dopamine, a strong antioxidant, in *Cavendish* banana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 844-848.

LAGO-VANZELA, E. S., DA-SILVA, R., GOMES, E., GARCÍA-ROMERO, E., & HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. (2011a). Phenolic composition of the Brazilian seedless table grape varieties BRS Clara and BRS Morena. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 8314-8323.

LAGO-VANZELA, E. S., DA-SILVA, R., GOMES, E., GARCÍA-ROMERO, E., & HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. (2011b). Phenolic composition of the edible parts (flesh and skin) of Bordô grape (*Vitis labrusca*) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 13136-13146.

MENEZES, E. W., TADINI, C. C., TRIBESS, T. B., ZULETA, A., BINAGHI, J., PAK, N., VERA, G., DAN, M. C. T., BERTOLINI, A. C., CORDENUNSI, B. R., & LAJOLO, F. M. (2011). Chemical composition and nutritional value of unripe banana flour (*Musa acuminata*, var. Nanicão). *Plant Foods for Human Nutrition*. 66, 231-237.

MORAES, J. O., PERTUZATTI, P. B., CORRÊA, F. V., & SALAS-MELLADO, M. M. (2007). Study of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) in the process of food products. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(supl), 18-22.

NGUYEN, T. B. T., KETSA, S., & VAN DOORN, W. G. (2003). Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, 30, 187-193.

QIU, L., ZHAO, G., WU, H., JIANG, L., LI, X., & LIU, J. (2010). Investigation of combined effects of independent variables on extraction of pectin from banana peel using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 80, 326-331.

REBELLO, L. P. G., LAGO-VANZELA, E. S., BARCIA, M. T., RAMOS, A. M., STRINGHETA, P. C., DA-SILVA, R., CASTILLO-MUÑOZ, N., GÓMEZ-ALONSO, S., & HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. (2013). Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea × IAC 1398-21) using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *Food Research International*, 54, 354-366.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., & RICE-EVANS, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.

REYES, S. E. H. *Utilização da casca de banana, Musa cavendishii, Var. Lamb, madura, para produção de álcool e vinagre*. Viçosa – MG, 1991, 102p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa. 199.

SARAVANAN, K., & ARADHYA, S. M. (2011). Polyphenols of Pseudostem of Different Banana Cultivars and Their Antioxidant Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 3613–3623.

SARAWONG, C., SCHOENLECHNER, R., SEKIGUCHI, K., BERGHOFER, E., & NG, P. K. W. (2014). Effect of extrusion cooking on the physicochemical properties, resistant starch, phenolic content and antioxidant capacities of green banana flour. *Food Chemistry*, 143, 33-39.

SCALBERT, A.; JOHNSON, I. T., & SALMARSH, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 215-217.

SENA, R. F., & NUNES, M. L. (2006) Utilização de resíduos agroindustriais no processamento de rações para carcinicultura. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Bahia, 7, n.2, 94-102.

SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., & LAMUELA-RAVENTOS, R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Others Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299,152.

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

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

SUBAGIO, A., MORITA, N., & SAWADA, S. (1996). Carotenoids and their fatty-acid esters in banana peel. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 42, 553–566.

YANG, J., MARTINSON, T. E., & LIU, R. H. (2009). Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes *Food Chemistry*. 116, 332–339.

WILLIAMS, C. A. Flavone and flavonol O-glycosides. In *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications*; Andersen, Ø. M., Markham, K.R., Eds.; CRC Press, Taylor & Francis Group: Boca Raton, Florida, 2006; 824-856.

4. CONCLUSÃO GERAL

Mediante os resultados pode-se concluir que:

- ✓ As cascas de banana podem ser processadas para obtenção de farinha que é mais facilmente armazenada para outras utilizações.
- ✓ Os métodos de extração utilizados tiveram grande influência no rendimento e nas propriedades físicas e químicas das pectinas extraídas.
- ✓ Não foi possível determinar uma condição ótima para as respostas avaliadas a partir dos modelos ajustados. Entretanto, foi determinada uma condição adequada considerando conjuntamente o rendimento e grau de esterificação das pectinas extraídas nas diferentes condições. Estas condições foram as seguintes: ácido cítrico (80 °C, 0,7 %, 80 min) e ácido oxálico-oxalato de amônio (0,25 % de oxalato de amônio, 75 °C, pH 2,8, utilizando ácido oxálico, 50 min).
- ✓ Os resultados obtidos indicam a farinha de casca de banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish como uma potencial fonte de pectina, entretanto as pectinas extraídas nas condições utilizadas neste estudo não atendem às exigências da FAO para pectinas de padrão comercial.
- ✓ Casca de banana é um resíduo do processamento industrial da banana, rico em compostos fenólicos e, pode contribuir de maneira importante na atividade antioxidante.
- ✓ Os extratos da farinha de casca de banana (*Musa AAA*) tipo Cavendish apresentaram um elevado conteúdo fenólico, destacando-se quantidades importantes principalmente de proantocianidinas altamente polimerizadas, seguido de um menor teor de glicósidos de flavonóis, dímeros procianidina tipo B e flavan -3- óis monoméricos.

✓ O alto teor de compostos fenólicos nos extratos de farinha de casca de banana são, provavelmente, o responsável pela sua atividade antioxidante elevada observada.

✓ Os resultados sugerem a utilização da casca de banana como fonte aproveitável de compostos bioativos.