UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição

Guilherme Pacheco Pereira

COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BANANAS (*Musa sp.*)

Araraquara, SP
2012

Guilherme Pacheco Pereira

COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BANANAS (*Musa sp.*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição, área de Ciências dos Alimentos.

Orientadora: Profª. Dra. Célia Maria de Sylos

Araraquara, SP
2012

Ficha Catalográfica
Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

Pereira, Guilherme Pacheco
P436c Compostos bioativos e atividade antioxidante em bananas (*Musa sp.*) / Guilherme Pacheco Pereira. – Araraquara, 2012
63 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição
Orientador: Célia Maria de Sylos

1. Banana. 2. Compostos fenólicos. 3. Antioxidante. I. Sylos, Célia Maria, orient. II.Título.

CAPES: 50700006

Guilherme Pacheco Pereira

COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BANANAS (*Musa sp.*)

COMISSÃO EXAMINADORA

Profª. Drª. Célia Maria de Sylos (Orientadora) - UNESP

Profª. Drª. Eliane Maria Ravasi Stéfano Simionato - USC

Prof. Dr. Luis Vitor Silva do Sacramento - UNESP

Araraquara, 31 de Agosto, de 2012

AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho fica expressa, aqui, a minha gratidão. Agradeço, em especial:

A toda minha família, pelo apoio e paciência.

À professora Drª. Célia Maria de Sylos, pela orientação, confiança e acolhimento.

À professora Drª. Eliane Maria Ravasi Stéfano Simionato e ao professor Luis Vitor Silva do Sacramento, por participarem da banca examinadora e por colaborar na melhoria deste trabalho.

Ao professor Dr. José Paschoal Batistuti e professora Drª. Daniela Cavallini, pelas ricas contribuições no exame geral de qualificação.

À Elizene, pelo apoio técnico e a grande amizade.

A todos meus amigos.

Aos funcionários e professores da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Secretaria de Pós-Graduação e do Departamento de Alimentos e Nutrição.
À Capes, pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

RESUMO 7
ABSTRACT 8
INTRODUÇÃO 7
OBJETIVOS 10
Geral 10
Específicos 10
REFERÊNCIAS 11
CAPITULO 1 13
1.1.Banana 14
1.2.Antioxidantes 17
1.2.1.Determinações de Atividade Antioxidante em frutas 19
1.3.Compostos fenólicos 22
1.3.1.Ácidos fenólicos 24
1.3.2.Flavonoides 26
1.4.Ácido ascórbico (vitamina C) 27
REFERÊNCIAS 29
CAPITULO 2 36
RESUMO 37
ABSTRACT 38
INTRODUÇÃO 39
MATERIAL E MÉTODOS 41
Amostras 41
Reagentes 42
Acidez titulável, sólidos solúveis totais e ácido ascórbico. 42
Extração dos compostos fenólicos 43
Compostos fenólicos totais e flavonoides totais 43
Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS e DPPH 44
Análise estatística dos resultados 45
RESULTADOS E DISCUSSÃO 45
Acidez, Sólidos Solúveis Totais e Ácido Ascórbico 45
Compostos fenólicos totais e flavonoides totais 47
Atividade antioxidante das variedades de banana 49
Correlação dos compostos bioativos 51
CONCLUSÃO 53
REFERÊNCIAS 53

RESUMO

A banana é uma fruta cultivada em diversos países, sua produção mundial anual é de cerca de 104 milhões de toneladas. No Brasil, a cultura da banana ocupa o segundo lugar em volume de frutas produzidas e a terceira posição em área colhida. A fruta é classificada como um alimento com alto valor nutricional, contudo, contém, em sua composição, polifenóis, como por exemplo, flavonoides e ácidos fenólicos. Atualmente, tem havido um aumento considerável em pesquisas com antioxidantes de fontes naturais como, por exemplo, compostos fenólicos. Os compostos fenólicos são substâncias características de alimentos de origem vegetal e são considerados os antioxidantes de maior ingestão. Além da atividade antioxidante que essa classe de compostos apresenta, possui também uma vasta gama de atividades biológicas atribuída a ela, incluindo efeito antibacteriano, efeito antitrombótico, efeito vasodilatador, efeitos antiinflamatórios e anticarcinogênico mediados por diferentes mecanismos. Assim, foram determinados os teores de ácido ascórbico, de sólidos solúveis totais, de acidez total titulável, de compostos fenólicos totais, de flavonoides totais e atividade antioxidante (capacidade sequestrante dos radicais DPPH e ABTS) de quatro variedades de banana de sobremesa: ouro, prata, nanica, maçã e de duas de bananas de cozinhar: figo e terra. Para os teores de ácido ascórbico, as variedades apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$), e as bananas de cozinhar obtiveram os maiores teores do composto, com níveis médios de 10,89mg/100g para banana da terra, e a variedade maçã apresentou o menor teor médio (5,62mg/100g). As concentrações de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais foram significativamente diferentes, a variedade ouro se destacou com o maior valor com teores máximos de 63,94mg EAG/100g e 4,58 mg EC/100g, para compostos fenólicos totais e flavonoides totais, respectivamente. A variedade ouro também mostrou maiores médias de porcentagem de redução nas determinações de atividade antioxidante para o radical DPPH (89,35%) e ABTS (91,48%). Existiu alta correlação positiva entre as determinações de compostos fenólicos totais, de flavonoides totais e da atividade antioxidante pelos radicais DPPH e ABTS, com destaque para os valores de r para fenólicos totais e atividade antioxidante por DPPH (0,98, $p \leq 0,05$) e ABTS (0,92, $p \leq 0,05$).

Palavras chave: banana; compostos fenólicos; flavonoides; antioxidante

ABSTRACT

Banana is a fruit grown in several countries. Its annual world production is around 104 million tonnes. In Brazil, banana culture sets the second place in volume of fruit produced and the third position in area harvested. This fruit is classified as a food with a high nutritional value, however it contains, in its composition, polyphenols, as for example, flavonoids and phenolic acids. Currently, there has been a considerable increase in researches with antioxidants from natural sources, such as phenolic compounds. The phenolic compounds are substances characteristics of foods of plant origin and are considered the most antioxidant intake. In addition to the antioxidant activity this class of compounds has, it also offers a wide range of biological activities assigned to it, including antibacterial effect, antithrombotic effect, vasodilatory effect, anti-inflammatory and anticarcinogenic effects mediated by different mechanisms. Thus, the dessert banana varieties: ouro, prata, nanica, maçã and bananas for cooking: figo and terra have been examined in relation to their ascorbic acid contents, total soluble solids, titratable acidity, phenolic compounds, flavonoids and total antioxidant activity (DPPH radical scavenger capacity and ABTS). For contents of ascorbic acid, the fruits showed significant difference ($p \leq 0,05$), and bananas for cooking had the highest levels of the compound, with average levels of 10, 89mg/100g for terra banana, in contrast, the variety maçã presented lower level (5,62 mg/100 g). The concentration of total phenolic compounds and total flavonoids had significant difference ($p = 0.05$), the variety ouro stood out with the largest value for the two determinations, with maximum residue levels of 63,94mg EAG/100g and 4,58mg EC/100g, for total flavonoids and phenolic compounds, respectively. The variety ouro also stood out with the highest average percentage reduction in antioxidant activity determinations for the radical DPPH (89.35%) and ABTS (91.48%). There was high positive correlation between the determination of total phenolic compounds, flavonoids and total antioxidant activity and DPPH radical ABTS, with emphasis on the r values for total phenolics and antioxidative activity by DPPH (0.98, $p = 0.05$) and ABTS (0.92, $p = 0.05$).

Keywords: banana; phenolic compounds; flavonoids; antioxidant

INTRODUÇÃO

A banana é uma das frutas mais populares do mundo (MEECHAONA, et al., 2007; SULAIMAN, et al., 2011), sendo consumida não somente *in natura*, mas também processada, podendo ser aproveitada em todas as fases de amadurecimento (AURORE et al., 2009). Apresenta um alto valor nutricional sendo uma importante fonte de carboidrato, para algumas das regiões mais pobres do mundo, incluindo África e Ásia, com consumo *per capita* que pode atingir a 400 kg por ano (DAVEY et al., 2009). No Brasil, o consumo médio *per capita* é de 30kg por ano (FAOSTAT, 2009).

A cada ano, a população em geral está mais consciente dos benefícios à saúde obtidos com o consumo de frutas e vegetais frescos (TOKUSOGLU e III, 2011). Assim, a pesquisa por compostos bioativos e o levantamento de informações nutricionais acerca desses dados vem crescendo entre pesquisadores de diferentes áreas.

Quando as defesas antioxidantes do organismo são dominadas por uma produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO), que são geradas em condições fisiológicas, uma situação de "estresse oxidativo" ocorre, no qual macromoléculas celulares e extracelulares podem sofrer um dano oxidativo, causando lesão tecidual (VASCONCELOS et al., 2007; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007; SERKEDJIEVA, 2010). Algumas patologias estão associadas a esses estresses oxidativos, tais como, câncer, inflamações em geral, diabetes, doenças cardiovasculares e envelhecimento (HALLIWELL, 1996; YANG et al., 2001; YOUNG e WOODSIDE, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007; SERKEDJIEVA, 2010).

Vários estudos têm sugerido que o consumo de antioxidantes naturais, como frutas frescas, verduras e chás tem efeito protetor contra as doenças já citadas. Essa função, em parte, tem sido atribuída à presença de vários componentes como vitamina C, vitamina E,

carotenoides e principalmente substâncias fenólicas (HALLIWELL et al., 1995; YOUNG e WOODSIDE, 2001; SCALBERT, et al., 2005).

À parte das propriedades biológicas, os antioxidantes naturais são também de interesse nas indústrias cosméticas, nas indústrias farmacêuticas e especialmente nas indústrias alimentícias, uma vez que são utilizados como substitutos de antioxidantes sintéticos, fornecendo proteção contra deterioração oxidativa de óleos e gorduras nos alimentos, já que a oxidação desses compostos pode ser responsável por odores e sabores desagradáveis, com uma consequente diminuição na aceitação sensorial e na qualidade nutricional dos alimentos (MOURE et al., 2001; HO, RAFI e GHAI, 2010).

Os compostos fenólicos são substâncias características de alimentos de origem vegetal e são considerados os antioxidantes de maior ingestão. Os grupamentos fenólicos presentes nos alimentos podem ajudar a limitar danos celulares, agindo diretamente sobre as espécies reativas de oxigênio ou estimulando sistemas endógenos de defesa. Os grupos fenólicos podem aceitar um elétron para formar complexos relativamente estáveis, inibindo reações de oxidação em cadeia de componentes celulares (MOURE et al., 2001; SCARLBERT et al., 2005). Com isso, sua atividade antioxidante está correlacionada com o número e a posição dos grupos hidroxílicos e conjugações. O potencial antioxidade dos polifénois é muito maior do que o de todos os outros antioxidantes conhecidos da dieta, e pode chegar a ser 10 vezes superior ao da vitamina C e 100 vezes superior ao da vitamina E e carotenoides (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000; CHINA et al., 2011). Além da atividade antioxidante que essa classe de compostos apresenta, diversos autores têm relatado uma vasta gama de atividades biológicas atribuída a eles, incluindo efeito antibacteriano, efeito antitrombótico, efeito vasodilatador, efeitos anti-inflamatório e anticarcinogênico mediados por diferentes mecanismos de ação, estão associados com os compostos fenólicos (KNEK et al., 2002; GIBELLINI et al., 2011).

Existe uma crescente preocupação e interesse em estudar compostos fenólicos e atividade antioxidante em frutas e vegetais. Embora esse fato se confirme com a quantidade de publicações sobre o assunto na literatura, é raro o estudo dessas substâncias nas principais variedades de bananas no Brasil. A banana é a segunda fruta mais consumida do país, ficando apenas atrás da laranja (FAOSTAT, 2012), da qual 61% são processados em forma de suco e, do suco, 81% são exportados (AGRIANUAL, 2011). Assim, com o alto consumo da fruta, o estudo dessa classe de compostos, é de grande importância.

OBJETIVOS

Geral

Quantificar os teores de compostos bioativos e a capacidade antioxidante em seis variedades de bananas.

Específicos

a) Quantificar os teores de sólidos solúveis totais, acidez total titulável, ácido ascórbico, compostos fenólicos totais e flavonoides totais.

b) Determinar a atividade antioxidante das variedades de banana pelos métodos de sequestro dos radicais DPPH e ABTS.

c) Correlacionar os teores de compostos bioativos com a atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL 2011: anuário de agricultura brasileira 2011. FNP consultoria & agroinformativos, São Paulo, 495 p. 2011.

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

CHINA, R. et al. *In vitro* Antioxidant Activity of Different Cultivars of Banana Flower (*Musa paradicicus* L.) Extracts Available in India. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 9, p. 1292 - 1299, 2011.

DAVEY, M. W. et al.Genetic variability in Musa fruit provitamin A carotenoids, lutein and mineral micronutrient contents. **Food Chemistry**, v. 115, p. 806 – 813, 2009.

FAOSTAT, 2009. On-Line Statistical Database of the Food and Agricultural Organization of the United Nations. Disponível em http://faostat.fao.org/ (acesso em 9 Fevereiro, 2012).

GIBELLINI, L. et al. Quercetin and Cancer Chemoprevention, **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1 - 5, 2011.

HALLIWELL, B. et al. The Characterization of Antioxidants, **Food and Chemical Toxicology,** v. 33, n. 7, p. 601 - 617, 1995.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease, **Annual Review of Nutrition,** v. 16, p. 33 - 50, 1996.

HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition; **Oxford University Press**, p. 268 - 340, 2007.

HO, C.; RAFI, M.M.; GHAI, G. Substâncias Bioativas: Nutracêuticas e Tóxicas. In: Damodaran, S.; Parkin, K.L.; FENNEMA, O. R. (Ed). **Química de Alimentos de Fennema, 4ªed.**, Porto Alegre: Artimed, 900 p., 2010.

KNEKT, P. et al. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. **American Journal of Clinical Nutrition,** v. 76, p. 560 – 568, 2002.

MEECHAONA, R. et al. Fatty acid content and antioxidant activity of Thai bananas. **Maejo International Journal of Science and Technology**, v. 1, p. 222 – 228, 2007.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources, **Food Chemistry**, v. 72, p. 145 - 171, 2001.

SCALBERT, A. et al. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 4, p. 287 - 306, 2005.

SCALBERT, A., WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **Journal of Nutrition,** v. 130, p. 2073 - 2085, 2000.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant Effects of Plant Polyphenols: A Case Study of a Polyphenol-rich Extract from *Geranium sanguineum L.* In: GUPTA, S. D. **Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants,** Science Publishers: Enfield, p. 275 - 293, 2010.

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

TOKUSOGLU, Ö.; III, C. H. Introduction to Bioactives in Fruits and Cereals, . In: TOKUSOGLU, Ö.; III, C. H. (Ed), **Fruit and Cereal Bioactives Sources. Chemistry and Applications**, CRC Press: Boca Raton, p. 3 – 8, 2011.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**., v. 30, n. 5, p. 1323 - 1338, 2007.

YANG, C. S. et al. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds, **Annual Review of Nutrition**, v. 21, p. 381 - 406, 2001.

YOUNG, I. S.; WOODSIDE, J. V. Antioxidants in health and disease. **Journal of Clinical Pathology**, v. 54, p. 176 – 186, 2001.

CAPITULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Banana

Originária da Ásia, a banana é um símbolo de tropicalidade. A expansão do islã levou a fruta ao Mediterrâneo e, em seguida, ela foi difundida na África. Nos séculos XV e XVI, os portugueses já cultivavam bananas na Ilha da Madeira e na costa ocidental africana – berço da palavra banana, hoje usada em muitas línguas. As primeiras mudas foram trazidas para o Brasil das Ilhas São Tomé e Príncipe (MIRANDA, 2007).

A banana é uma fruta climatérica cultivada em muitos países, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. A produção mundial anual de banana é de cerca de 104 milhões de toneladas. Os principais produtores de banana são Brasil, China, Equador, Filipinas e Índia (BELLO-PÉREZ et al., 2011).

As bananas pertencem à classe Monocotyledoneae, da ordem Scimitales. A família Musaceae possui três subfamílias, uma delas a Musoideae com o gênero *Musa*, na qual se encontram os frutos comestíveis e de interesse tecnológico e nutricional (JOLY, 1991).

O gênero *Musa* tem cerca de 40 espécies, sendo *Musa acuminata* e *Musa balbisiana* as espécies selvagens de banana e todas as variedades comestíveis são derivadas dessas duas espécies. As espécies de banana são taxonomicamente agrupadas de acordo com sua "ploidia", ou seja, de acordo com o número de cromossomos conjuntos que contêm e com a proporção relativa em seu genoma. Embora as duas espécies de *Musa* selvagens sejam diploides, nem todas têm o mesmo número de cromossomos. Quase todos os cultivares de bananas são poliploides, derivados da hibridização de *Musa acuminata* e *Musa balbisiana*. Geneticistas identificam basicamente como: *Musa acuminata* (AA) e (AAA); e *Musa balbisiana* (BB) (RUBATZKY e YAMAGUCHI, 1997; SULAIMAN et al., 2011).

A nomenclatura Musa foi criada por Linneu, em homenagem a Antonius Musa, médico de Otávio Augusto, primeiro imperador de Roma, entre 63 e 14 a. C. (JOLY, 1991). Porém, atualmente a classificação das variedades se dá segundo seus grupos cromossômicos, seguindo a classificação de SIMMONDS (ITAL, 1990; JOLY, 1991). A Tabela 1 mostra a classificação histórica segundo Linneu e segundo Simmonds, para as principais variedades comerciais de banana.

Os cultivares de bananeira podem ser divididos em dois grupos principais: bananas doces ou de sobremesa e bananas de cozinhar. O amadurecimento é o fator que determina as características das bananas de sobremesa quando esta é consumida fresca. A classificação que define o amadurecimento da fruta é composta por sete etapas com um índice de cor, conforme a Figura 1. Nas etapas de 1 a 3, a banana normalmente não é consumida como sobremesa, pois em geral se encontra muito rígida, com sabor adstringente, e com grande quantidade de amido. Já na etapa 7, a fruta está madura, mais doce e macia (AURORE et al., 2009).

Tabela 1 - Classificação e variedades de bananas, segundo LINNEU E SIMMONDS

CLASSIFICAÇÃO	**VARIEDADE**
Segundo LINNEU	
Musa cavendishii	Nanica (banana d´agua), Nanicão, Grand-naine, Baé, Anã, Caturra, China, Cambota, entre outras.
Musa sapientum	Figo, Marmelo, Ouro, Prata, Maçã, Branca, Caru-roxa, Caru-verde, São Tomé, Sta. Maria, entre outras.
Musa paradisiaca	Da terra, Farta-velhaco, Pacová, Comprida ou Chifre de boi, entre outras.
Segundo SIMMONDS	
Grupo Diplóide Acuminata AA	Banana Ouro
Grupo triplóide Acuminata AAA	Nanica, Nanicão, Gros-michel, Caru-roxa, Caru-verde.
Grupo triplóide hídrido natural AAB	Terra, Maçã, Pacová, Prata
Grupo triplóide hídribo natural ABB	Figo, Marmelo.

Fonte: (JOLY, 1991; ITAL, 1990)

No Brasil, a cultura da banana ocupa o segundo lugar em volume de frutas produzidas e a terceira posição em área colhida. Até novembro de 2011 a produção brasileira chegou a 6.711.705 toneladas, com uma área de plantio de 477.589 hectares (IBGE, 2011).

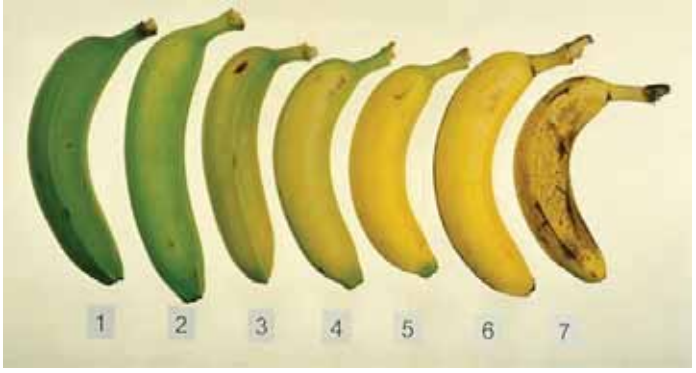


Figura 1: Classificação numérica dos estádios de maturação de bananas.

A banana está entre as frutas mais consumidas nas principais regiões metropolitanas do país, sendo superada apenas pela laranja, faz parte da alimentação das diversas camadas da população, e aparece na mesa dos brasileiros não apenas como sobremesa, mas como alimento, com um consumo *per capita* em torno de 30 kg ano^{-1} (FAO, 2012).

Segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), a banana fornece, em média, 100 calorias por 100 gramas de polpa, e é classificada como um alimento com alto valor nutricional (UNICAMP, 2011). A Tabela 2 apresenta valores nutricionais de banana, compilados pela TACO.

Outras pesquisas com a banana apontam que a fruta, além de ser altamente nutritiva, contem, em sua composição, polifenóis, como por exemplo, flavonoides e ácidos fenólicos (MOKBEL e HASHINAGA, 2005). Esses compostos são conhecidos pela sua atividade biológica, dentre as principais funções nos seres humanos, a literatura atual os destaca como poderosos agentes antioxidantes (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000; WATERHOUSE,

2002; PRIOR, 2003; BEHLING et al., 2004; SAHIDI e NACZK, 2004; GONZÁLEZ-MONTELONGO, LOBO e GONZÁLEZ, 2010).

Tabela 2 - Composição nutricional de banana por 100 gramas de parte comestível.

Nutriente	Figo	Maçã	Nanica	Ouro	Prata	Terra
Proteína	1,1 g	1,8 g	1,4 g	1,5 g	1,3 g	1,4 g
Lipídio	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,2 g	0,1 g	0,2 g
Carboidrato	26,17 g	22,3 g	23,8 g	29,3 g	26 g	33,7 g
Fibra Alimentar	2,8 g	2,6 g	1,8 g	2 g	2 g	1,5 g
Cinzas	0,8 g	0,6 g	0,8 g	0,8 g	0,8 g	0,8 g
Cálcio	6 mg	3 mg	3 mg	3 mg	8 mg	4 mg
Magnésio	30 mg	24 mg	28 mg	28 mg	26 mg	24 mg
Manganês	0,21 mg	0,60 mg	0,14 mg	0,09 mg	0,42 mg	0,16 mg
Fósforo	16 mg	29 mg	27 mg	22 mg	22 mg	26 mg
Ferro	0,2 mg	0,2 mg	0,3 mg	0,3 mg	0,4 mg	0,3 mg
Potássio	387 mg	264 mg	376 mg	355 mg	358 mg	328 mg
Cobre	0,06 mg	0,11 mg	0,10 mg	0,08 mg	0,05 mg	0,05 mg
Zinco	0,1 mg	0,1 mg	0,2 mg	0,3 mg	0,1 mg	0,2 mg
Tiamina	0,09 mg	Tr	Tr	Tr	Tr	0,03 mg
Riboflavina	Tr	Tr	0,02 mg	Tr	0,02 mg	0,02 mg
Piridoxina	0,3 mg	0,14 mg	0,14 mg	0,14	0,1 g	0,14 mg
RE	-	6 µg	14 µg	50 µg	32 µg	239 µg
ERA	-	3 µg	7 µg	25 µg	16 µg	119 µg
Vitamina C	17,5 mg	10,5	5,9 mg	7,6 mg	21,6 mg	15,87 µg

Fonte: UNICAMP, 2011

1.2. Antioxidantes

Antioxidantes são compostos que mesmo em pequenas concentrações, quando expostos num substrato oxidável, retarda ou inibe a oxidação desses substratos. Dentre os substratos oxidáveis encontrados em alimentos e tecidos celulares estão os lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e outras moléculas (YOUNG e WOODSIDE, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007).

Em geral, existem duas categorias básicas de antioxidantes, os naturais e sintéticos. Atualmente, tem havido um aumento considerável em pesquisas com antioxidantes de fontes

naturais para uso em alimentos ou fármacos, que estão sendo estudados na tentativa de substituir os antioxidantes sintéticos, que estão sendo restritos devido à sua toxicidade (VELIOGLU et al., 1998, MOURE et al., 2001).

Espécies reativas de oxigênio (ERO) são continuamente geradas em condições fisiológicas. Elas estão envolvidas no crescimento, na progressão, na diferenciação e na morte celular. Baixas concentrações de ERO podem ser benéficas, ou até mesmo indispensáveis em processos como a sinalização intracelular e defesa contra micro-organismos. No entanto, quando as defesas antioxidantes naturais do organismo são dominadas por uma produção excessiva de ERO, uma situação de "estresse oxidativo" ocorre, no qual macromoléculas celulares e extracelulares (proteínas, lipídios e ácidos nucleicos) podem sofrer o dano oxidativo, causando lesão tecidual (VASCONCELOS et al., 2007; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007; SERKEDJIEVA, 2010).

Há fatores de diversas ordens associados ao estresse oxidativo. Exemplos desses fatores são: hábitos de vida considerados inapropriados (consumo de álcool, tabagismo, dieta inadequada, exercício físico realizado de forma extrema e exposição à radiação não ionizante ultravioleta e outras ondas curtas); condições ambientais impróprias (temperatura elevada e poluição ambiental, domiciliar e ocupacional); envelhecimento e estados psicológicos que provoquem estresse emocional. Há também patologias crônicas (*diabetes mellitus*, hipertensão arterial, câncer, entre outras) e patologias degenerativas (Mal de Alzheimer e Mal de Parkinson) associadas a esse tipo de estresse (GUTTERIDGE, 1993; HALLIWELL, 1996; WILLCOX, ASH e CATIGNANI, 2004; OLIVEIRA et al., 2009).

O radical OH é o produto mais reativo de ERO formado por sucessivas reações no metabolismo celular e é o principal responsável pelos efeitos citotóxicos observados em organismos aeróbios que se estende desde bactérias às plantas e animais. A produção excessiva de radicais livres provenientes de fontes endógenas ou exógenas tem implicado em

várias doenças, incluindo câncer, condições pro inflamatórias, diabetes, doenças cardiovasculares e envelhecimento (HALLIWELL, 1996; YANG et al., 2001; YOUNG e WOODSIDE, 2001; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007; SERKEDJIEVA, 2010).

Em geral, alguns alimentos como as frutas contêm antioxidantes naturais que podem sequestrar esses radicais livres. Algumas moléculas têm essa capacidade antioxidante, tais como vitamina C, vitamina E, e carotenoides, os quais têm gerado particular interesse por serem defensores de doenças degenerativas. Entretanto, alguns estudos têm indicado que substâncias fenólicas, tais como flavonoides e ácidos fenólicos, são considerados antioxidantes mais potentes do que a vitamina C e a vitamina E. Outros estudos têm mostrado a alta correlação entre a atividade antioxidante total de algumas frutas e seu conteúdo fenólico (PRIOR, 2003; MOKBEL e HASHINAGA, 2005; GONZÁLEZ-MONTELONGO, LOBO e GONZÁLEZ, 2010; REDDY, SREERAMULU e RAGHUNATH, 2010). Também é reportada a ocorrência de substâncias fenólicas em legumes e sementes de legumes relacionando-as com a atividade antioxidante (ISMAIL, MARJAN e FOONG, 2004; SIDDHURAJU e BECKER, 2007; GARCIA-SALAS, 2010).

1.2.1. Determinações de Atividade Antioxidante em frutas

Atividade (capacidade ou potencial) antioxidante é utilizada como parâmetro integrado para caracterizar diferentes matrizes alimentícias e indiretamente avaliar os efeitos benéficos à saúde. Portanto, é desejável estabelecer e padronizar métodos que meçam a atividade antioxidante total (AAT) em níveis que possam ser analisados diretamente de extratos à base de plantas e de alimentos (APAK, 2011).

Os métodos mais comumente usados em frutas são aqueles em que um radical livre cromogênico sintético é usado para simular o radical livre natural. Assim, a presença de

antioxidantes do extrato a partir da amostra provoca a redução destes radicais cromogênicos. Desse modo, após a adição do extrato ao radical livre, o grau de mudança de cor (uma diminuição de absorbância a um comprimento de onda determinado) está correlacionado com a concentração de antioxidantes na amostra. Para que esse tipo de metodologia seja eficaz, é necessário obter radicais estáveis sintéticos que podem ser facilmente detectados por técnicas de fotometrias ou fluorimétrias (ARNAO et al., 2009).

Esses métodos podem ser baseados na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), no poder de redução do metal (FRAP; CUPRAC), na captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), na captura do radical orgânico (ABTS, DPPH), na quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do β-caroteno) (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Devido a fatores como: estabilidade, facilidade e simplicidade de procedimento, os radicais mais utilizados em determinações de atividade antioxidante em frutas são derivados do 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH•) e do ácido 2,2-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina)-6-sulfônico (ABTS) (ARNAO, 2000; ROGINSKY e LISSI, 2005).

O DPPH• é um radical estável, que pode ser obtido a partir da sua dissolução em meio orgânico, porém, é insolúvel em meio aquoso. A redução do DPPH• é acompanhada pelo monitoramento do decréscimo da absorbância a um determinado comprimento de onda. O DPPH• absorve a 515nm, porém, quando reduzido por um antioxidante ou espécies radiais, a absortividade é reduzida (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995; BONDET, BRAND-WILLIAMS e BERSET,1997; ARNAO, 2000).

No método DPPH•, a solução do radical apresenta coloração violeta, e quando está na presença de antioxidantes sequestrantes de radicais livres, se reduz tornando-se amarelo. Esta reação é amplamente utilizada para avaliar a atividade antioxidante de alimentos e extratos

vegetais (YAMAGUCHI et al., 1998). A Figura 2 ilustra a estrutura do radical DPPH• na cor violeta e após perder absortividade, na cor amarela.

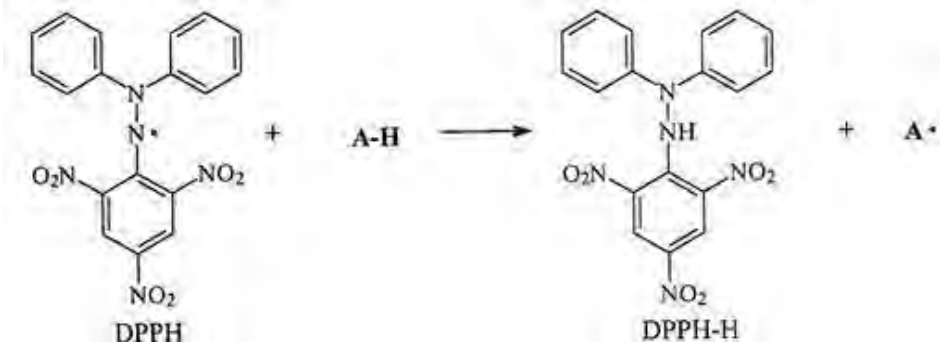


Figura 2: DPPH cor violeta e após sua reação com o antioxidante, a cor violeta passa a ser amarela.

O ensaio com ABTS• está fundamentado, primeiramente, na geração do radical, uma solução verde que é feita diretamente do seu precursor em meio aquoso por uma reação com um reagente químico, por exemplo, dióxido de carbono, manganês, ou persulfato de potássio; ou por uma reação enzimática, por exemplo, peroxidase, hemoglobina ou metamioglobina (CANO, ACOSTA e ARNAO, 2000).

O radical pré-formado ABTS•+ forma um cromóforo verde azulado de cor intensa com absorção máxima a 645, 734 e 815nm. A oxidação do ABTS começa imediatamente após a adição do reagente químico precursor, como o persulfato de potássio, por exemplo. Depois de formado, o ABTS•+ pode ser reduzido na presença de antioxidantes doadores de hidrogênio perdendo sua coloração. A Figura 3 ilustra a estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio. Através da redução do ABTS•+ será determinada a porcentagem de inibição em função da concentração do antioxidante (WALKER e EVERETTE, 2009).

A maioria dos métodos utilizados para analisar a atividade antioxidante de alimentos expressa seus resultados como a capacidade antioxidante equivalente Trolox (TEAC - *trolox equivalent antioxidant capacity*), valor de EC_{50} em unidades molares ou em porcentagem de

redução. O Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) é um potente antioxidante hidrossolúvel análogo à vitamina E (KIM et al., 2002).

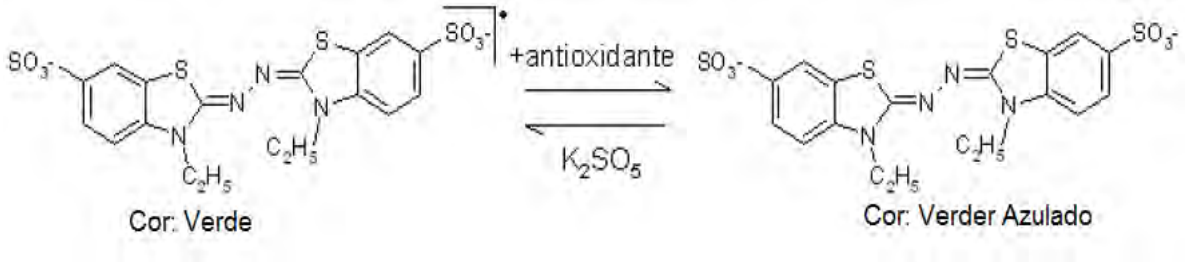


Figura 3: Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.

1.3. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias características de alimentos de origem vegetal e são considerados os antioxidantes de maior ingestão. Contudo, é impossível saber com precisão a natureza de todos esses compostos em uma dieta. Em contraste, é possível saber as principais classes dos polifenóis consumidos, os alimentos que os contêm e o seu conteúdo nesses alimentos (SCARLBERT e WILLIAMSON, 2000).

Esses compostos também contribuem para o aroma, o sabor e a cor dos alimentos, como, por exemplo, as antocianinas que são responsáveis pela cor vermelha, lilás, azul e violeta de legumes, frutas, sucos de frutas e vinhos. Outros flavonoides podem contribuir para a coloração marfim e alguns tons de amarelo pálido (SAHIDI e NACZK, 2004).

Já foram relatados aproximadamente 8000 compostos que contêm uma característica estrutural comum: um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula. Esta classe de compostos engloba fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, estilbenos, lignanas e ligninas (STALIKAS, 2007).

Os grupamentos fenólicos podem aceitar um elétron e formar radicais relativamente estáveis. Com isso, sua atividade antioxidante está correlacionada com o número e a posição

dos grupos hidroxílicos e conjugações. O potencial antioxidade dos polifénois é muito maior do que o de todos os outros antioxidantes conhecidos da dieta, e pode chegar a ser 10 vezes superior ao da vitamina C e 100 vezes superior ao da vitamina E e carotenoides (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000; CHINA et al., 2011).

Além da atividade antioxidante que essa classe de compostos apresenta, diversos autores têm relatado uma vasta gama de atividades biológicas atribuída a eles, incluindo efeito antibacteriano, efeito antitrombótico, efeito vasodilatador, efeitos anti-inflamatório e anticarcinogênico mediados por mecanismos diferentes estão associados com os compostos fenólicos (KNEK et al., 2002; GIBELLINI, et al., 2011).

A quantificação de compostos fenólicos é realizada por meio de uma variedade de métodos. Todavia, o método mais extensivamente realizado utiliza o reagente de Folin-Ciocalteau (ISMAIL, MARJAN e FOONG, 2004; MELO et al., 2006; LIM, LIM e TEE, 2007; KEVERS et al., 2007; NASCIMENTO JUNIOR et al., 2008; PATTHAMAKANOKPORN et al., 2008; ALOTHMAN et al., 2009; BENNET et al., 2010; BABBAR et al., 2011; SULAIMAN et al., 2011). O reagente Folin-Ciocalteau consiste na mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstico, na qual o molibdênio se encontra no estado de oxidação (VI) (cor amarela no complexo $Na_2MoO_42H_2O$); porém, na presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados complexos molibdênio-tungstênio azuis $[(PMoW_{11}O_4)^{4-}]$, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 (V) e 6 (VI) e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras (HUANG, OU e PRIOR, 2005; OLIVEIRA, et al., 2009). A Figura 4 mostra a desprotonação dos compostos fenólicos (no exemplo, o ácido gálico) em meio básico, que gera os ânions fenolatos. A partir daí, ocorre uma reação de oxirredução entre o ânion fenolato e o reagente de Folin, na qual, o molibdênio, componente do reagente de Folin, sofre redução e o meio reacional muda de coloração amarela para azul.

Nos últimos vinte anos, a técnica que tem dominado a separação e caracterização de compostos fenólicos tem sido a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Tradicionalmente, em separações utilizando cromatografia líquida são utilizadas colunas C18 e gradiente de solvente binário.

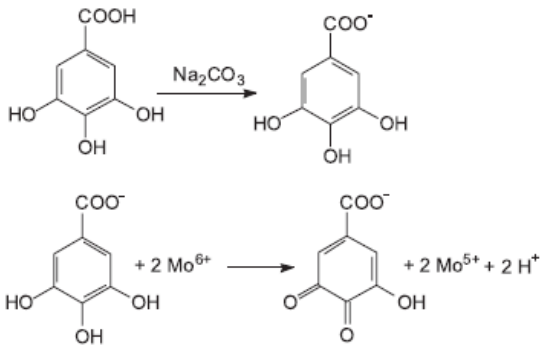


Figura 4. Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocaulteau.

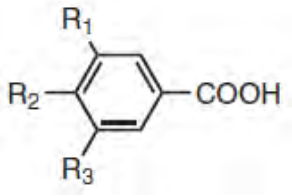
A fase móvel consiste em uma solução aquosa de ácido e um solvente orgânico (acetonitrila ou metanol). Nessas separações, os cromatógrafos são frequentemente acoplados com detectores de ultravioleta (UV) ou detectores de arranjo de diodos (DAD) (ROBBINS, 2003; SEGURA-CARRETERO et al., 2010).

1.3.1. Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são divididos em dois grupos. A estrutura química básica dos dois grupos é a mesma, porém, se diferenciam nos números e as nas posições das hidroxilas no anel aromático.

O primeiro grupo é composto pelos derivados de ácidos hidroxibenzoicos, que possuem sete átomos de carbono (C6-C1), são os mais simples encontrados na natureza; suas fórmulas gerais e denominações estão representadas na Figura 5. O segundo grupo é formado

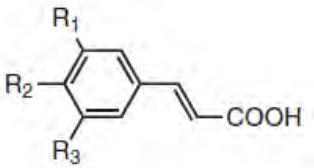
pelos derivados de ácidos hidroxicinâmicos, que possuem nove átomos de carbono (C6-C3), sendo sete os mais comumente encontrados no reino vegetal (Figura 6) (ROBBINS, 2003; SAHIDI e NACZAK, 2004).



ácido hidroxibenzoico - 4-hidroxibenzoico, $R_1 \rightarrow H$, $R_2 \rightarrow OH$,$R_3 \rightarrow H$
ácido protocatecuico - 3,4-di-hidroxibenzoico, $R_1 \rightarrow OH$, $R_2 \rightarrow OH$,$R_3 \rightarrow H$
ácido vanílico - 4-Hidroxi-3-metoxibenzoico, $R_1 \rightarrow OCH_3$, $R_2 \rightarrow OH$, $R_3 \rightarrow H$
ácido siríngico - 3, 5-di-metoxibenzoico, $R_1 \rightarrow OCH_3$, $R_2 \rightarrow OH$, $R_3 \rightarrow OCH_3$
ácido gálico 3,4,5-tri-hidroxibenzoico, $R_1 \rightarrow OH$, $R_2 \rightarrow OH$, $R_3 \rightarrow OH$

Figura 5: Estrutura básica do ácido hidroxibenzoico.

Os ácidos fenólicos, além de se apresentarem sob sua forma natural, podem também se ligar entre si ou com outros compostos. A combinação mais importante destes ácidos ocorre com o ácido caféico, o qual, associado a um álcool-ácido cíclico, denominado ácido quínico, origina o ácido clorogênico (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000; SOARES, 2002).



ácido cumárico - 4-hidroxicinâmico, $R_1 \rightarrow H$, $R_2 \rightarrow OH$, $R_3 \rightarrow H$
ácido cafeico - 3,4 di-hidroxicinâmico, $R_1 \rightarrow OH$, $R_2 \rightarrow OH$, $R_3 \rightarrow H$
ácido ferrúlico - 4-hidroxi-3-metoxicinâmico $R_1 \rightarrow OCH_3$, $R_2 \rightarrow OH$, $R_3 \rightarrow H$
ácido sinápico - 4-hidroxi-3,5-dimetoxicinâmico, $R_1 \rightarrow OCH_3$, $R_2 \rightarrow OH$, $R_3 \rightarrow OCH_3$

Figura 6: Estrutura básica do ácido hidroxicinâmico.

1.3.2. Flavonoides

Os flavonoides são conhecidos como um pigmento vegetal há mais de um século e constituem a maior e mais importante classe de compostos fenólicos (WATERHOUSE, 2002).

A estrutura básica de um flavonoide consiste em 15 átomos de carbono dispostos em três anéis (C6-C3-C6), conforme ilustra a Figura 7.

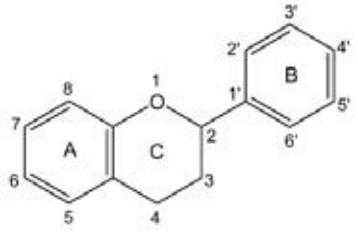


Figura 7: Estrutura básica de um flavonoide.

A variação estrutural dos flavonoides é classificada a partir de alguns fatores como o grau e o padrão de hidroxilação, metoxilação, glicosilação ou prenilação. Os flavonoides estão subdivididos em seis classes, dependendo do seu estado de oxidação e dos grupos funcionais, sendo eles: flavanóis (epicatequina, epigalocatequina), flavanonas (naringina, naringenina), antocianidinas (pelargonidina, malvidina, cianidina), flavonois (canferol, quercetina), isoflavonas (daidizina, genisteina) e flavonas (apigenina, rutina). A Figura 8 ilustra os tipos de flavonoides com sua estrutura química (ROSS e KASUM, 2002; STALIKAS, 2007, HO, RAFI e GHAI, 2010).

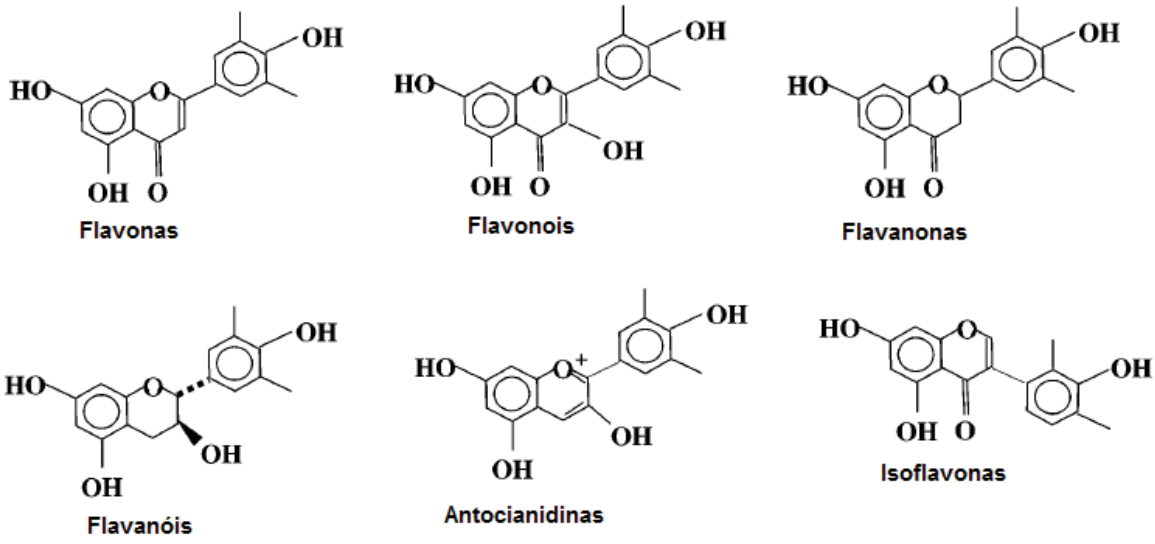


Figura 8: Estrutura dos principais tipos de flavonoides

1.4. Ácido ascórbico (vitamina C)

A vitamina C é o nome comum dado ao ácido 2,3-enediol-*L*-gulônico. O composto é um sólido branco, cristalino e solúvel em água. No estado sólido, é relativamente estável, porém, quando em solução, é facilmente oxidado reversivelmente a ácido dehidroascórbico que pode ser hidrolizado irreversivelmente ao 2,3 ácido diceto-L-gulônico com perda da atividade. A Figura 9 ilustra aos três estados do ácido ascórbico (HIGDON e FREI, 2002).

Os seres humanos fazem parte do grupo de seres vivos que não são capazes de sintetizar a enzima L-gulonolactona oxidase, que participa da biossíntese da vitamina C ou do ascorbato. Com isso, a ingestão dessa vitamina pela dieta alimentar se torna necessária por ela ser vital para a saúde e até mesmo para a sobrevivência do homem, pois o ácido ascórbico participa de inúmeras atividades fisiológicas (MOSER e BENDICH, 1991; HO, RAFI e GHAI, 2010).

Para o *Recommended Dietary Allowances* (RDA) a quantidade diária de ingestão recomendada de vitamina C para homens adultos é 90mg/ dia e para mulheres adultas 75mg/dia (RDA, 2000).

Figura 9: Os três estados do ácido ascórbico

A principal atividade vitamínica e também a mais conhecida do ácido ascórbico é a ação antiescorbútica. O escorbuto é uma doença que pode levar à morte e é causado pela deficiência nutricional de vitamina C (ROSA et al., 2007; PADAYATTY et al., 2002).

Entre suas múltiplas funções, o ácido ascórbico está envolvido na síntese e manutenção do colágeno e na síntese de importantes neurotransmissores, na facilitação de absorção de minerais como ferro e zinco, no auxílio da eliminação de metais como chumbo e níquel, nos processos de cicatrização e na promoção de resistência a infecções (JOHNSTON et al., 2007). O ácido ascórbico também tem a capacidade de ceder e receber elétrons, o que lhe confere um papel de antioxidante (JOHNSTON et al., 2007; HIGDON E FREI, 2002).

A vitamina C também pode atuar na prevenção do câncer pela inibição da formação de nitrosaminas cancerígenas, na diminuição do risco de doenças cardiovasculares e no tratamento da hipertensão. Porém, as associações encontradas entre vitamina C e câncer em estudos epidemiológicos são baseadas na existência de uma relação inversa entre frequência de tumores e consumo de alimentos ricos dessa vitamina (ZHU e FREI, 2002; LEE, OE e BLAIR, 2002; HELLER e WERNER, 2002).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil, **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155 - 2149, 2011.

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

AMORIM, E. P. et al. Caracterização de acessos de bananeira com base na concentração de compostos funcionais, **Ciência Rural,** v. 41, n. 4, p. 592 - 598, 2011.

APAK, R. et al. Antioxidant Activity/Capacity Assay Methods Applied to Fruit and Cereals. In: Tokusoglu, Ö.; III, C. H. (Ed), **Fruit and Cereal Bioactives Sources, Chemistry and Applications**, CRC Press: Boca Raton, p. 361 – 383, 2011.

ARNAO, M. B.; ACOSTA, M.; CANO, A. Antioxidant Activity: Measurement by HPLC. In: CAZES, J. (Ed), **Encyclopedia of Chromatography - Third Edition**, CRC Press: Boca Raton, p. 106 - 110, 2009.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Scie & Technol.**, v. 11, p. 419 - 421, 2000.

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

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

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

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

BEHLING, E. et al. Flavonóide quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285 - 292, 2004.

BELLO-PÉREZ, L. A. et al. Banana and Mango Flours. In: PREEDY, V.; WATSON, R.; PATEL, V.; (Ed) **Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention**. London: Elsevier Inc, p. 235 – 245, 2011.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• free radical method, **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 30, p. 609 – 615, 1997.

BRAND-WILLIANS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 22, p. 25 - 30, 1995.

CANO, M. P. et al. Differences among spanish and latin-american banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 59, n. 3, p. 411 - 419, 1997.

CANO, A.; ACOSTA, M.; ARNAO, M.B. A method to measure antioxidant activity in organic media: Application to lipophilic vitamins. **Redox. Report Journal**. v. 5, p. 365 – 370, 2000.

COHEN, K. O. et al. Vitamina C, carotenóides, compostos fenólicos e atividade antioxidante em genótipos de banana, **EMBRAPA – Comunicado técnico**, 2009.

CHINA, R. et al. *In vitro* antioxidant activity of different cultivars of banana flower (*Musa paradicicus* L.) extracts available in India, **Journal of Food Science**, v. 76, n. 9, p. 1292 - 1299, 2011.

GARCIA-SALAS, P. et al. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples, **Molecules**, v. 15, p. 8813 - 8826, 2010.

GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. A cultura da bananeira na região norte do Brasil, Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) **Informação Tecnológica**, 310 p., 2010.

GIBELLINI, L. et al. Quercetin and Cancer Chemoprevention, **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1 - 15, 2011.

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.

GUTTERIDGE, J. M. C.; Invited Review Free Radicals in Disease Processes: A Compilation of Cause and Consequence. **Free Radical Research. Communications**, v. 19, p. 141, 1993.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease, **Annual Review of Nutrition**, v. 16, p. 33 - 50, 1996.

HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition; **Oxford University Press**; p. 268 – 340, 2007.

HALLIWELL, B. et al. The Characterization of Antioxidants, **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601 - 617, 1995.

HELLER, R.; WERNER**,** E. R.; **Ascorbic Acid and Endothelial NO Synthesis In:** PACKER, L.; TRABER, M. G.; KRAEMER, K.; FREI B. (Ed) The Antioxidant Vitamins C and E**.** Proceedings of a symposium on vitamins C and E, held March 6-9, 2002 at the 2002 World Congress of the Oxygen Club of California, Santa Barbara, California, AOCS Press: Illinois, 2002.

HIGDON, J. V.; FREI, B. **Vitamin C: An Introduction.** In: PACKER, L.; TRABER, M. G.; KRAEMER, K.; FREI B. (Ed) The Antioxidant Vitamins C and E**.** Proceedings of a symposium on vitamins C and E, held March 6-9, 2002 at the 2002 World Congress of the Oxygen Club of California, Santa Barbara, California, AOCS Press: Illinois, 2002.

HO, C.; RAFI, M.M.; GHAI, G. Substâncias Bioativas: Nutracêuticas e Tóxicas. In: Damodaran, S.; Parkin, K.L.; FENNEMA, O. R. (Ed). **Química de Alimentos de Fennema, 4ªed.**, Porto Alegre: Artimed, 900 p., 2010.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841 − 1856, 2005.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) **Levantamento. Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro v. 24, n. 11, p. 1 - 82, 2011.

IMSABAI, W.; KETSA, S.; VAN DOORN, W. G. Physiological and biochemical changes during banana ripening and finger drop, **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, p. 211 – 216, 2006.

ISMAIL, A.; MARJAN, Z. M.; FOONG, C. W. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chemistry**, v. 87 p. 581 – 586, 2004.

ITAL. INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Banana - Série Frutas Tropicais.** ITAL: Campinas. n. 3, 89 p, 1990.

JOHNSTON, C. S.; STEINBERG, F. M.; RUCKER, R. B.; Ascorbic Acid, In: ZEMPLENI, J.; RUCKER, R. B.; MCCORMICK, D. B.; SUTTIE, J. W. (Ed) - **Handbook of Vitamins, 4ªEd**, Taylor & Francis Group: Boca Raton, 2007.

JOLY, A. B. **Botânica - Introdução à taxonomia vegetal 10ª Ed**. Companhia Editora Nacional. São Paulo, 779 p, 1991.

KIM, et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** v. 50, p. 3713 - 3717, 2002.

KNEKT, P. et al. Flavonoid intake and risk of chronic diseases, **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, p. 560 - 568, 2002.

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

LEE, S. H.; OE, T.; BLAIR, I. A. **Vitamin C and Cancer,** In: PACKER, L.; TRABER, M. G.; KRAEMER, K.; FREI B. (Ed) The Antioxidant Vitamins C and E**.** Proceedings of a

symposium on vitamins C and E, held March 6-9, 2002 at the 2002 World Congress of the Oxygen Club of California, Santa Barbara, California, AOCS Press: Illinois, 2002.

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

LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p .496 – 502, 2003.

MATTOS, L. A. et al. Agronomic, physical and chemical characterization of banana fruits, **Crop Breeding and Applied Biotechnology,** v. 10, p. 225 - 231, 2010.

MÉLO, E. A. et al. Teores de Polifenóis, Ácido Ascórbico e Carotenóides Totais em Frutas e Hortaliças Usualmente Consumidas, **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 2, p. 89 - 94, 2006.

MIRANDA, E. E. A invenção do Brasil. **National Geographic Brasil**, v. 86, 2007.

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

MEECHAONA, R. et al. Fatty acid content and antioxidant activity of Thai bananas, **Maejo International Journal of Science and Technology**, v. 1, p. 222 – 228, 2007.

MOKBEL, M. S.; HASHINAGA, F. Antibacterial and Antioxidant Activities of Banana (*Musa, AAA cv. Cavendish*) Fruits Peel**, American Journal of Biochemistry and Biotechnology,** v**.** 1, n. 3, p. 126 - 132, 2005.

MOSER, U.; BENDICH, A. Vitamin C. In: MACHLIN. L. J. **Handbook of vitamins**. 2º ed. New York: Marcel Dekker Inc., p. 195 - 232, 1991.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources, **Food Chemistry**, v. 72, p. 145 - 171, 2001.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes, **Química. Nova**, v. 32, n. 3, p. 689 - 702, 2009.

PADAYATTY, S. J. et al. Vitamin C: From Molecular Actions to Optimum Intake. In: PACKER, L.; CADENAS, E. (Ed), **The Handbook of Antioxidants**, Nova Iorque: Marcel Dekker Inc, 2002.

PATTHAMAKANOKPORN, O. et al. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits, **Journal of Food Composition and Analysis,** v. 21, p. 241 – 248, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v. 41, n. 3, p. 274 – 285, 2008.

PRIOR, R. L. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage, **American Journal of Clinical Nutrition,** v. 78, p. 570 - 578, 2003.

RDA - DIETARY REFERENCE INTAKES. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids**. Washington, D. C.: National Academy, p. 95 - 185, 2000.

REDDY, C. V. K.; SREERAMULU, D.; RAGHUNATH, M. Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India, **Food Research International**, v. 43, p. 285 - 288, 2010.

RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M.; CARRARO, F. Chemical composition and antioxidant activity of juices from mature and immature acerola (*Malpighia emarginata DC.*). **Food Science Technology International**, v. 11, n. 4, p. 315 - 321, 2005.

ROBBINS, R. J**.** Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2866 - 2887, 2003.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chem**., v. 92, n. 2, p. 235 - 254, 2005.

ROSA, J. S. et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 837 - 846, 2007.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety, **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 19 - 34, 2002.

RUBATZKY, V. E.; YAMAGUCHI, M. **World Vegetables: principles, production, and nutritive values – 2nd Ed**., Aspen Publisher, Inc, p. 253 - 272, 1997.

SAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals**, CRC Press: Boca Raton, 2004.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International,** v. 8, p. 121 - 137, 2002.

SCALBERT A, MONTIES B, JANIN G. Tannins in wood: Comparison of different estimation methods, **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 37, p. 1324 - 1329, 1989.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols, **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073 - 2085, 2000.

SEGURA-CARRETERO, A. et al. LC-(Q) TOF-MS Characterization of Phenolic Antioxidants In: Gupta, S. D. **Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants,** Enfield: Science Publishers, p. 275 - 293, 2010.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant Effects of Plant Polyphenols: A Case Study of a Polyphenol-rich Extract from *Geranium sanguineum L.* In: GUPTA, S. D. **Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants,** Science Publishers: Enfield, p. 275 - 293, 2010.

SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata (L.) Walp.)* seed extracts, **Food Chemistry**, v. 101, p. 10 – 19, 2007.

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

STALIKAS, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids, **Journal of Separation Science,** v. 30, p. 3268 - 3295, 2007.

STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBÁŇ, V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals, **Talanta**, v. 71, n. 4, p. 1741 – 1751, 2007.

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

SULAIMAN, S. F. et al. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw Vegetables **Journal of Food Composition and Analysis,** v. 24, p. 506 – 515, 2011.

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

SWAIN, T.; HILLIS, W. T. The phenolic constituents of *Prunnus domestica*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, p. 135 - 144, 1959.

TOKUSOGLU, Ö.; III, C. H. Introduction to Bioactives in Fruits and Cereals, . In: TOKUSOGLU, Ö.; III, C. H. (Ed), **Fruit and Cereal Bioactives Sources, Chemistry and Applications**, CRC Press: Boca Raton, p. 3 - 8, 2011.

UNICAMP (Universidade Estadual de Campinas): Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA, **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO 4ª Ed.**, Campinas – SP, 161 p. 2011.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação**. Química Nova**., v. 30, n. 5, p. 1323 - 1338, 2007.

VELIOGLU, Y. S. et al. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits,Vegetables, and Grain Products, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4113 - 4117, 1998.

WALKER, R. B.; EVERETTE, J. D. Comparative Reaction Rates of Various Antioxidants with ABTS Radical Cation, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1156 – 1161, 2009.

WATERHOUSE, A. L. The Phenolic Wine Antioxidant. In: PACKER, L.; CADENAS, E. (Ed) **The Handbook of Antioxidants**, Nova Iorque: Marcel Dekker Inc, 2002.

WILLCOX, J. K.; ASH, S. L.; CATIGNANI, G. L. Antioxidants and Prevention of Chronic Disease, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition,** v. 44, p. 275 – 295, 2004.

YAMAGUCHI, T. et al. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry,** v. 62, p. 1201 - 1204, 1998.

YANG, C. S. et al. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds**, Annual Review of Nutrition**, v. 21, p. 381 - 406, 2001.

ZIN, Z. M. et al. Antioxidative activities of chromatographic fractions obtained from root, fruit, and leaf of Mengkudu (*Morinda citrifolia L*.). **Food Chemistry**, v. 94, p. 169 – 178, 2006.

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

ZHU B.; FREI, B. **Biochemical and Physiological Interactions of Vitamin C and Iron: Pro - or Antioxidant?** In**:** PACKER, L.; TRABER, M. G.; KRAEMER, K.; FREI B. (Ed) The Antioxidant Vitamins C and E**.** Proceedings of a symposium on vitamins C and E, held March 6-9, 2002 at the 2002 World Congress of the Oxygen Club of California, Santa Barbara, California, AOCS Press: Illinois, 2002.

CAPITULO 2

Compostos bioativos e atividade antioxidante em bananas (*Musa sp.*)

Trabalho submetido à revista Alimentos e Nutrição

RESUMO

A cultura da banana é praticada em diversos países, cuja produção mundial anual atinge cerca de 104 milhões de toneladas. No Brasil, ocupa o segundo lugar em volume de frutas produzidas e a terceira posição em área colhida. Neste trabalho, seis variedades de bananas, sendo quatro variedades de sobremesa (ouro, prata, nanica e maçã) e duas variedades de cozinhar (figo e terra) foram analisadas quanto aos seus teores de ácido ascórbico, de sólidos solúveis totais, de acidez total titulável, de compostos fenólicos totais, de flavonoides totais e atividade antioxidante (capacidade sequestrante dos radicais DPPH e ABTS). Para os teores de ácido ascórbico, as frutas apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$), e as bananas de cozinhar obtiveram os maiores teores, com média de 10,89mg/100g para banana da terra, em contra partida, a variedade maçã apresentou teor médio de 5,62mg/100g. Os resultados das determinações de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais, apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$), sendo que a variedade ouro obteve o maior valor para as duas determinações, com teores de máximos de 63,94mg EAG/100g e 4,58mg EC/100g, respectivamente. A variedade ouro apresentou maiores médias de porcentagem de redução para atividade antioxidante pelo radical DPPH (89,35%) e ABTS (91,48%). Houve alta correlação positiva entre os teores de compostos fenólicos totais, de flavonoides totais e da atividade antioxidante pelos, com destaque para fenólicos totais e atividade antioxidante por DPPH (0,98, $p \leq 0,05$) e ABTS (0,92, $p \leq 0,05$). De acordo com os resultados, a banana ouro apresentou teores superiores de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais, e também maiores porcentagens de redução nas determinações da atividade antioxidante em relação às outras três variedades de sobremesa e as duas variedades de cozinhar.

Palavras chave: banana; compostos fenólicos; antioxidante.

ABSTRACT

Banana crop is practiced in several countries, which annual world production reaches around 104 million tonnes. In Brazil, it sets the second place in volume of fruit produced and the third position in area harvested. In this work, six varieties of bananas were analyzed: four varieties of dessert (ouro, prata, nanica and maçã) and two varieties for cooking (figo and terra) have been examined in relation to their ascorbic acid contents, total soluble solids, titratable acidity, phenolic compounds, flavonoids and total antioxidant activity (DPPH radical scavenger capacity and ABTS). For contents of ascorbic acid, fruit showed significant differences ($p \leq 0,05$), and bananas for cooking had the highest levels, with average levels of 10,89mg/100g for terra banana. On the other hand, the variety maçã presented average content of 5,62mg/100g. The results of determination of total phenolic compounds and total flavonoids had significant difference ($p = 0.05$), the variety ouro stood out with the largest value for the two determinations, with maximum residue levels of 63,94mg EAG /100g and 4,58mg EC/100 g, respectively. The variety ouro also stood out with the highest average percentage reduction in antioxidant activity for the radical DPPH (89,35%) and ABTS (91,48%). There was high positive correlation between the levels of total phenolic compounds, flavonoids and total antioxidant activity and DPPH radical ABTS, with emphasis on the r values for total phenolics and antioxidative activity by DPPH (0,98, $p = 0.05$) and ABTS (0,92, $p = 0.05$). According to the results, ouro banana presented higher levels of total phenolic compounds, total flavonoids and either higher perceptual of reduction in the determination of antioxidant activity than the other three varieties of dessert and the two varieties for cooking.

Keywords: banana; compound phenolics; antioxidant

INTRODUÇÃO

A banana é uma das frutas mais populares do mundo,[31 43] sendo consumida não somente *in natura*, mas também processada, podendo ser aproveitada em todas as fases do seu amadurecimento.[5] Apresenta alto valor nutricional, sendo importante fonte de carboidrato para algumas das regiões mais pobres do mundo, incluindo África e Ásia, com consumo *per capita* que pode atingir 400 kg por ano.[13] No Brasil, o consumo médio *per capita* é de 30kg por ano.[14]

Quando as defesas antioxidantes do organismo são dominadas por uma produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO), que são geradas em condições fisiológicas, uma situação de "estresse oxidativo" ocorre, no qual macromoléculas celulares e extracelulares podem sofrer um dano oxidativo, causando lesão tecidual. [20, 42, 48] Algumas patologias estão associadas a esses estresses oxidativos, tais como, câncer, condições pro inflamatórias em geral, diabetes, doenças cardiovasculares e envelhecimento.[18, 20, 42, 51, 52]

Vários estudos têm sugerido que o consumo de antioxidantes naturais, em frutas frescas, verduras e chás, proporciona um efeito protetor contra as doenças já citadas. Essa função, em parte, tem sido atribuída à presença de vários componentes como vitamina C, vitamina E, carotenoides e principalmente substâncias fenólicas.[19, 39, 51]

Os antioxidantes naturais são também de interesse nas indústrias cosméticas, nas indústrias farmacêuticas e especialmente nas indústrias alimentícias, uma vez que são utilizados como substitutos de antioxidantes sintéticos, fornecendo proteção contra deterioração oxidativa de óleos e gorduras nos alimentos, já que a oxidação desses compostos pode ser responsável por odores e sabores desagradáveis, com uma consequente diminuição na aceitação sensorial e na qualidade nutricional dos alimentos.[21, 33]

Os compostos fenólicos são substâncias características de alimentos de origem vegetal e são considerados os antioxidantes de maior ingestão. Os grupamentos fenólicos presentes nos alimentos podem ajudar a limitar danos celulares, agindo diretamente sobre as espécies reativas de oxigênio ou estimulando sistemas endógenos de defesa. Os grupos fenólicos podem aceitar um elétron para formar complexos relativamente estáveis, inibindo reações de oxidação em cadeia de componentes celulares. [33, 39] Com isso, sua atividade antioxidante está correlacionada com o número e a posição dos grupos hidroxílicos e conjugações. O potencial antioxidade dos polifénois é muito maior do que o de todos os outros antioxidantes conhecidos da dieta e pode chegar a ser 10 vezes superior ao da vitamina C e a 100 vezes superior ao da vitamina E e carotenoides. [11, 41] Além da atividade antioxidante que essa classe de compostos apresenta, diversos autores têm relatado uma vasta gama de atividades biológicas atribuída a eles, incluindo efeito antibacteriano, efeito antitrombótico, efeito vasodilatador, efeitos anti-inflamatório e anticarcinogênico mediados por diferentes mecanismos de ação, estão associados com os compostos fenólicos. [16, 27]

Dentre os ensaios de atividade antioxidante mais usados estão: o ensaio por ácido 2,2´-azino-bis-(3-etilbenzoatiazolina)-6-sulfônico (ABTS) e o ensaio por 2,2-difenil-2-picrilidrazilo (DPPH). Esses métodos diferem em seus princípios e em condições experimentais de ensaio. Como os mecanismos de reação envolvidos são diferentes, um único ensaio não refletirá com precisão todos os antioxidantes num extrato obtido do alimento. Assim, para elucidar totalmente um perfil completo de capacidade antioxidante, diferentes ensaios de capacidades antioxidantes são necessários.[15, 17, 33]

Existe uma crescente preocupação e interesse em estudar compostos fenólicos e atividade antioxidante em frutas e vegetais. Embora esse fato se confirme com a quantidade de publicações sobre o assunto na literatura, é raro o estudo dessas substâncias nas principais variedades de bananas no Brasil. A banana é a segunda fruta mais consumida do país, ficando

apenas atrás da laranja, [14] da qual 61% são processados em forma de suco e, do suco, 81% são exportados.[1]

Assim, com o alto consumo da fruta, o objetivo desse trabalho é quantificar os teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis totais, acidez total titulável, compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante (capacidade sequestrante dos radicais DPPH e ABTS) de 6 variedades de banana.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Três lotes diferentes de seis variedades de banana, sendo quatro de sobremesa: prata, ouro, nanica e maçã; e duas de cozinhar: figo e terra foram analisadas. As amostras foram selecionadas no estágio de maturação entre 6 e 7, dentro de uma escala descrita por AURORE et al.,[5] que varia de 1 a 7 de acordo com a coloração da casca. As amostras foram adquiridas em supermercados e varejões no município de Araraquara, no Estado de São Paulo. As variedades das bananas estão descritas na Tabela 1, juntamente com o grupo genético.

Tabela 1. Variedades de banana, nome cientifico e grupo genético.

Variedade	Nome Científico	Grupo
Banana Figo	*Musa acuminata* Colla *x Musa balbisiana* Colla	ABB
Banana da Terra	*Musa acuminata* Colla *x Musa balbisiana* Colla	AAB
Banana Maçã	*Musa acuminata* Colla *x Musa balbisiana* Colla	AAB
Banana Nanica	*Musa acuminata* Colla *x Musa balbisiana* Colla	AAA
Banana Ouro	*Musa acuminata* Colla	AA
Banana Prata	*Musa acuminata* Colla *x Musa balbisiana* Colla	AAB

Fonte: UNICAMP[47]

As amostras foram descascadas e trituradas em processador antes da realização das análises.

Reagentes

Catequina, 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH•) e ácido 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico (ABTS) - *Sigma-Aldrich* (St. Louis, Mo, USA); metanol e etanol - Quemis (Jundiaí, SP, Brasil); 2-6 diclorofenolindolfenol e nitrito de sódio - Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brasil); carbonato de sódio, persulfato de potássio e ácido oxálico - Labysynth (Diadema, SP, Brasil); ácido L ascórbico e ácido gálico - *Mallinckrodt Baker* (Phillipsburg, NJ, USA); hidróxido de sódio e reagente de Folín-Ciocalteu - Dinamica Química, (Diadema, SP, Brasil).

Acidez titulável, sólidos solúveis totais e ácido ascórbico.

A acidez titulável foi determinada de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz.[22] Os resultados foram expressos por % de ácido málico por 100 g de fruta.

As concentrações de sólidos solúveis totais em ºBrix, foram realizadas por refratometria.[22]

A extração do ácido ascórbico foi realizada com ácido oxálico a 2% e quantificação realizada por titulação com 2-6 diclorofenolindolfenol. Os resultados foram expressos por mg de ácido ascórbico por 100g de fruta.[22]

Extração dos compostos fenólicos

A extração foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Reddy et al.,[37] com algumas modificações. Em um tubo de centrifuga, 9,6g da amostra homogeneizada com 10mL de solução aquosa de etanol (40:60, $v.v^{-1}$) foram submetidas a agitação em agitador de tubos por 1 minuto, em seguida, mantidas ao abrigo da luz por uma hora para posterior centrifugação a 8.000rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido e uma nova extração com a mesma amostra foi realizada. Os sobrenadantes foram misturados para posterior análise. O extrato foi utilizado nas determinações de atividade antioxidade, de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais.

Compostos fenólicos totais e flavonoides totais

Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteau de acordo com Scalbert et al.,[40] com algumas modificações. Para a reação colorimétrica, uma alíquota de 500µL da solução de extrato etanólico foi adicionada de 2,5mL de solução de Folin-Ciocalteau a 10%. Após 5 minutos adicionavam-se 2,0mL de carbonato de sódio a 7,5% e a mistura foi incubada por 5 minutos em banho-maria a 50°C. A absorbância foi medida a 760nm em espectrofotômetro Beckman DU 640 e a quantidade total de fenólicos de cada extrato foi realizada por meio de uma curva de calibração de ácido gálico nas concentrações de 8, 16, 24, 32.5 e 40µg. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 gramas de amostra fresca.

As determinações de flavonoides totais foram realizadas de acordo com o procedimento descrito por Zhishen et al.,[49] 5mL do extrato etanólico era adicionado de uma solução de 300µL de $NaNO_2$ a 5%, após 5 minutos adicionavam-se 600µL de $AlCl_3$ a 10% e,

passados mais 6 minutos, adicionavam-se 2mL de NaOH 1M. O volume final era completado com água destilada para que se atingisse 10mL. As soluções eram agitadas e em seguida media-se a absorbância em espectrofotômetro Beckman DU 640 a 510nm. A quantidade total de flavonoides de cada extrato foi quantificada por meio de uma curva padrão preparada usando como padrão a catequina nas concentrações de 9, 13, 18, 24 e 36µg/mL. Os resultados foram expressos em miligramas de catequina (EC) por 100 gramas de amostra fresca.

Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS e DPPH

As determinações da atividade antioxidante pelo método de ABTS foram seguidas de acordo com procedimento descrito por Almeida et al.,[2] com algumas adaptações. O radical ABTS (ABTS +) foi gerado pela reação de 5mL de solução aquosa ABTS (7mM) e 88µl de uma solução de persulfato de potássio de 140mM (2,45mM de concentração final). A mistura foi mantida fora de incidência direta de luz durante 16h antes de ser utilizada e, em seguida, diluída com etanol a fim de obter uma absorbância de 0,8 ± 0,05 em 734nm. Para determinação da atividade antioxidante, numa cubeta, 30µL do extrato etanólico da fruta eram adicionados de 3mL da solução do radical ABTS com absorbância a 0,8. A leitura da absorbância a 734nm era medida no ponto final de 6 min.

Nas determinações da atividade antioxidante pelo método DPPH, foi seguida pelo método Brand-Williams[9] com algumas adaptações. O radical DPPH foi obtido diretamente por dissolução do reagente em metanol. Para determinação da atividade antioxidante, numa cubeta, foram adicionados 100µL do extrato etanólico juntamente com solução de DPPH com absorbância 0,8 ± 0,05 a 515nm. As soluções foram deixadas em repouso por 30 minutos em ambiente sem incidência direta de luz, com posterior leitura em espectrofotômetro a 515nm.

O percentual de decréscimo na absorbância foi medido e a capacidade de sequestrar radicais livres foi calculada com base no decréscimo da absorbância observada. A capacidade antioxidante foi expressa como a porcentagem DPPH e ABTS reduzido, expressa pela equação 1.

$$\% \text{ de redução} = \frac{\text{absorbância do controle} - \text{absorbância da amostra)} \times 100}{\text{absorbância do controle}}$$

Equação 1 – Cálculo da porcentagem de redução da absorbância

Análise estatística dos resultados

Os resultados obtidos das análises de compostos bioativos, de acidez, de sólidos solúveis totais e da atividade antioxidante das amostras foram submetidos à análise de variância (Anova) e tiveram as médias das variedades comparadas através do teste de Tukey, que estão apresentados em triplicata. Os resultados das determinações de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS foram correlacionados, empregando os testes de correlação de Pearson.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Acidez, sólidos solúveis totais e ácido ascórbico

Estão apresentados na Tabela 2, os dados obtidos para acidez total titulável (ATT), ácido ascórbico e sólidos solúveis totais das seis amostras de bananas. Houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os valores de ATT das seis amostras, que variaram entre 0,19% para a banana prata a 0,11% para banana ouro. Valores relatados por Nascimento Junior et al.,[34] descrevem teores médios de ATT para banana nanica madura de 0,36%. A banana no

estádio verde caracteriza-se por apresentar uma baixa acidez, aumentando com o decorrer do amadurecimento, até atingir um máximo, quando a casca está totalmente amarela, para posteriormente decrescer.[34]

Para sólidos solúveis, os valores médios variaram de 15,33 a 23,41°Brix, para banana figo e banana ouro, respectivamente. Valores próximos aos obtidos no presente trabalho são encontrados na literatura[10, 23] com valores entre 19,72 e 22,36 °Brix para bananas maduras.

Tabela 2 - Valores de acidez titulável, ácido ascórbico e sólidos solúveis das variedades de banana.[1,2]

Amostra	Acidez total titulável (% ac. málico)	Ácido ascórbico (mg/100g)	SST (°Brix)
Banana Figo	0,12 ± 0,04[ab]	9,51 ± 1,67[ab]	15,33 ± 0,68[c]
Banana da Terra	0,17 ± 0,02[ab]	10,89 ± 0,30[a]	20,44 ± 1,12[ab]
Banana Maçã	0,14 ± 0,01[ab]	5,62 ± 0,34[c]	18,88 ± 1,05[bc]
Banana Nanica	0,12 ± 0,03[ab]	8,54 ± 0,01[abc]	18,82 ± 3,14[bc]
Banana Ouro	0,11 ± 0,01[b]	9,16 ± 1,92[ab]	23,41 ± 0,34[a]
Banana Prata	0,19 ± 0,02[a]	6,58 ± 0,75[bc]	17,03 ± 0,70[bc]

[1]Média ± desvio padrão de três repetições; e [2] Médias com letras minúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

Os resultados das determinações de ácido ascórbico variaram com diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre 10,89mg e 5,62mg/100g para as variedades terra e maçã, respectivamente. Lim et al.,[28] em pesquisa de compostos bioativos em diversas frutas, relatam quantidades inferiores ao presente trabalho, de ácidos ascórbico em bananas (variedade *Pisang Mas*, mesma morfologia e grupo genômico da variedade Ouro) de 4,9mg/100g de amostra. Num trabalho com bananas de diferentes regiões, Cano et al.,[11] apresenta resultados superiores, quando comparados ao presente trabalho, de ácido ascórbico em bananas (grupo genômico AAA) de 29,3 a 33,5mg/100g de amostra fresca. Melo et al.,[32] avaliaram diversas amostras de frutas brasileiras quanto a níveis de compostos bioativos e publicaram valores próximos ao presente trabalho, com teores de 9,83 e 4,63mg/100g de ácido ascórbico em bananas das variedades comprida e pacovan, respectivamente. Os valores obtidos nas

determinações de ácido ascórbico também estão próximos aos descritos para banana pela Tabela TACO[47] e por Johnston et al.,[25] que relatam o teor médio de ácido ascórbico de diversas variedades de banana de 11,25mg/100g e de 8–16mg/100g, respectivamente.

Compostos fenólicos totais e flavonoides totais

Os resultados das determinações de fenólicos totais e flavonoides totais foram expressos em miligrama equivalente de ácido gálico por 100 gramas de amostra (mg EAG/100g) e miligramas equivalente de catequina por 100 gramas de amostra (mg EC/100g), respectivamente, e estão dispostos na Tabela 3.

Os valores obtidos das determinações de fenólicos totais variaram de 23,98 mg EAG/100g para a banana prata a 63,94mg EAG/100g para a banana ouro, com diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as variedades.

Tabela 3 - Teores de fenólicos totais e flavonoides totais das variedades de banana [1,2]

Amostra	Fenólicos Totais (mg EAG/100g)	Flavonoides Totais (mg EC/100g)
Banana Figo	$24,76 \pm 2,05^{cd}$	$2,38 \pm 0,03^{c}$
Banana da Terra	$43,48 \pm 2,34^{b}$	$3,67 \pm 0,15^{b}$
Banana Maçã	$27,67 \pm 1,87^{c}$	$3,40 \pm 0,40^{b}$
Banana Nanica	$19,90 \pm 0,84^{d}$	$2,22 \pm 0,29^{c}$
Banana Ouro	$63,94 \pm 1,97^{a}$	$4,58 \pm 0,51^{a}$
Banana Prata	$23,98 \pm 0,94^{cd}$	$2,22 \pm 0,27^{c}$

[1]Média ± desvio padrão de três repetições; e [2] Médias com letras minúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

Os teores de fenólicos totais encontrados para as variedades de banana, no presente estudo, foram superiores aos descritos por Patthamakanokporn et al.,[35] e Sulaiman et al.,[44] que relataram teores de 14mg EAG/100g e 5,48mg EAG/100g em pesquisa com bananas realizado na Ásia.

Em levantamento de dados de compostos bioativos de frutas tropicais na Malásia, Lim et al.,[28] relataram resultados que indicam proximidades com os valores do presente trabalho, pois obtiveram média de 51mg EAG/100g para bananas da variedade *pisang mas*.

Em pesquisa de compostos fenólicos totais com variedades de bananas brasileiras, Nascimento Junior et al.,[34] descrevem níveis médios de 11mg EAT/100g (equivalente ácido tânico) para banana prata e 12mg EAT/100g para banana ouro. Em outros estudos com variedades da fruta no Brasil, Bennet et al.,[8] mostram níveis de compostos fenólicos de 8,1, 9,9, 6,5, 9,8, e 6,7mg EAG/100g para as variedades figo, nanicão, terra, mysore e pacovan. Entretanto, Melo et al.,[32] em estudo com variedades no Brasil, relatam teores de compostos fenólicos de 44,46 e 52,02mg EC/100g, para as variedades de banana comprida e banana pacovan, respectivamente, valores esses que são mais aproximados com as quantidades descritas no presente trabalho.

Outros valores aproximados são descritos por Mattos et al.,[30] em trabalho realizado com 26 variedades de bananas brasileiras, que descrevem concentrações médias de 45,31mg/100g, com teores que variaram de 12,84 a 257,8mg/100g, e também de Amorim et al.,[4] que publicaram concentrações médias de 37,05mg/100 de amostra de banana.

Para as determinações de flavonoides totais, os valores variaram de 2,22 a 4,58mg EC/100g. Entre as variedades analisadas, conforme os resultados de fenólicos totais, a banana ouro também se destacou com o maior teor de flavonoides totais e diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) de todas as outras variedades.

Em trabalhos com vegetais realizado no Brasil, Mélo et al.,[32] apresentam valores médios de 1,13 e 1,02mg equivalente quercetina (EQ)/100 de flavonoides totais para as variedades de banana comprida e banana pacovan. No mesmo estudo, Mélo et al.,[32] analisam teores de flavonoides totais em diversas frutas e vegetais e descreve proximidade aos teores encontrados com o presente trabalho, por exemplo, para caju, pepino, manga espada, manga

rosa e tomate, que obtiveram teores de 3,36, 2,06, 1,52, 2,77 e 3,48mg EQ/100. Outras pesquisas realizadas no Brasil, descrevem teores de flavonoides totais bastante próximos aos relatados no presente trabalho, como os trabalhos de Amorim et al.,[4] e Mattos et al.,[30] que analisaram bananas de diferentes variedades, e relatam concentrações médias de 2,25 e 2,57mg/100 de flavonoides totais, respectivamente.

Existem grandes variações entre as quantidades de compostos fenólicos totais de vegetais. Essas diferenças podem ser observadas para o mesmo vegetal em trabalhos de diferentes autores, por exemplo, Sun et al., [45] reportam concentrações de 90,4 mg EAG/100g, enquanto Luximon-Ramma et al.,[29] relatam níveis de 11,8 mg EAC/100g. Essas diferenças podem ser explicadas devido à complexidade destes grupos de compostos e aos métodos de extração e análise. Além disso, as quantidades desses compostos dependem de fatores intrínsecos (gênero, espécie, cultivares) e extrínsecos (manejo agronômico, manuseio, armazenamento).[7, 43]

Atividade antioxidante das variedades de banana

Uma vez que a capacidade antioxidante de alimentos é determinada por uma mistura de antioxidantes diferente, com diferentes mecanismos de ação e com interações sinérgicas entre eles, é necessário combinar mais do que um método para determinar in vitro, a capacidade antioxidante de alimentos.[36] Portanto, duas metodologias analíticas foram empregadas no presente trabalho, que envolveu a medição do desaparecimento de cor do extrato etanólico da amostra com adição dos radicais livres DPPH ou ABTS.

Os resultados das determinações de atividade antioxidade total expressos em porcentagem de redução estão apresentados na Tabela 4.

Nas análises da capacidade antioxidante com o radical DPPH, as porcentagens de redução tiveram valores mínimos e máximos de 28,72% e 89,35% (com diferença significativa em nível de 5%), para as variedades nanica e ouro, respectivamente. Em escala decrescente foi possível observar a seguinte ordem de porcentagem de redução em DPPH: banana ouro (89,35%) > banana da terra (63,68%) > banana maçã (40,48%) > banana prata (39,09%) > banana figo (33,27%) > banana nanica (28,72%). Os valores obtidos no presente estudo foram bem próximos dos publicados por Alothman et al.,[3] em estudo com determinação da capacidade antioxidante em bananas da variedade *pisang mas*, que relatam porcentagens de até 79,1% de redução em DPPH.

Tabela 4 - Atividade antioxidante das variedades de banana. [1,2]

Amostra	DPPH (% redução)	ABTS (% redução)
Banana Figo	33,27 ± 1,85[d]	16,34 ± 0,19[e]
Banana da Terra	63,68 ± 2,62[b]	28,45 ± 1,70[c]
Banana Maçã	40,48 ± 0,57[c]	31,65 ± 2,02[b]
Banana Nanica	28,72 ± 0,73[d]	15,80 ± 0,14[e]
Banana Ouro	89,35 ± 0,56[a]	91,48 ± 0,33[a]
Banana Prata	39,09 ± 2,97[c]	19,70 ± 0,52[d]

[1]Média ± desvio padrão de três repetições; e [2] Médias com letras minúsculas diferentes nas colunas diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

Para ABTS, as variedades tiveram diferença significativa ($p \leq 0,05$). A fruta com maior porcentagem de redução foi a variedade ouro, com média de 91,48%, e a banana nanica com 15,80%, com a menor porcentagem. Em ordem de % de redução, é possível classificar as variedades na seguinte ordem: banana ouro (91,48%) > banana maçã (31,65%) > banana da terra (28,45%) > banana prata (19,70%) > banana figo (16,34%) > banana nanica (15,80%).

A variação encontrada entre as variedades também é reportada por Cohen et al.,[12] que em pesquisa com atividade antioxidade pelo radical ABTS em 3 variedades de banana, relata teores de 6,32 até 119,19 µM trolox/g.

A atividade antioxidante por redução em ABTS das variedades foi escassamente comparada com os achados de outros estudos, pois, apesar de existirem estudos similares, diferenças na concentração, no tipo de extratos, nas condições de análise e principalmente forma de expressão de resultados tornaram as comparações inadequadas. Estudos com bananas ou outras frutas, nas mesmas condições de análise, são necessários para efeito de comparação. Stratil et al.,[46] relatam que a comparação de resultados referentes à capacidade antioxidante publicados nos métodos individuais é de difícil entendimento. Para Almeida et al.,[2] é de extrema importância que se compare resultados de determinações de capacidade antioxidante com autores que se tenham utilizado no mínimo, os mesmos solventes no decorrer da análise.

Quando se comparam os dois métodos utilizados, o tempo de reação da análise é uma variável muito importante. Nos casos em questão, a etapa mais demorada da análise é o tempo que o radical fica em contato com o extrato da amostra, dessa ótica, o método DPPH é desvantajoso, pois esse tempo é de 30 minutos, o que se pode considerar desvantajoso quando comparado com o método ABTS, cujo tempo de reação é de apenas 6 minutos. Estudos indicam que a contribuição de compostos antioxidantes de frutas pode depender do método escolhido e também das características hidrofílicas e hidrofóbicas do sistema analítico.[38]

Correlação dos compostos bioativos

A correlação entre os compostos fenólicos totais, flavonoides totais, DPPH e ABTS estão apresentados na Tabela 5. Em todas as situações, os valores de “r” foram positivos e apresentaram alta correlação.

Tabela 5 - Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre os compostos bioativos das variedades de banana.

Amostra	Coeficiente de correlação (r)		
	ABTS	DPPH	Flavonoides Totais
DPPH	0,90*	-	-
Flavonoides Totais	0,83*	0,89*	-
Fenólicos Totais	0,92*	0,98*	0,89*

* com significância em nível de $p \leq 0,05$

Foi possível observar que os maiores coeficientes são dos resultados das determinações de compostos fenólicos totais com as determinações das atividades antioxidantes, que tiveram o r de 0,92 e 0,98 ($p \leq 0,05$) para ABTS e DPPH, respectivamente.

Os compostos fenólicos são considerados os compostos antioxidantes de origem vegetal de maior importância. Eles possuem grupos funcionais que se ligam facilmente com radicais livres devido à sua forte habilidade de doar átomos de hidrogênio a esses radicais.[50] A correlação entre essas duas variáveis é largamente estudada em diversas frutas e vegetais por diversos autores e esses estudos vêm comprovando a alta correlação linear entre esses compostos e a atividade antioxidante. [3, 7, 24, 26, 28, 35, 43,] Assim, para as variedades de banana, justifica-se o aumento da correlação existente entre as quantidades dos compostos fenólicos e os resultados das porcentagens de redução dos radicais ABTS e DPPH.

Os resultados obtidos pelos dois métodos de atividade antioxidante (DPPH e ABTS) também apresentaram forte correlação (0,90, $p \leq 0,05$), uma vez que os dois testes demonstraram comportamento semelhantes nas determinações da atividade antioxidante das amostras.

No presente trabalho obteve-se alta correlação entre os compostos fenólicos e os resultados das análises de capacidade antioxidante, porém, é importante ressaltar que existem outros compostos presentes nos alimentos que também contribuem para essa funcionalidade. Assim, embora os compostos fenólicos tenham um efeito antioxidante isoladamente, eles podem reagir sinergicamente com outros compostos e contribuir com essa função.[7]

CONCLUSÃO

Em geral, pode-se concluir que as seis variedades de bananas usadas no trabalho variaram de acordo com o teor de todos os compostos analisados.

As correlações se apresentaram alta entre as determinações de capacidade antioxidante, compostos fenólicos totais e flavonoides totais o que indica contribuição dessa classe de compostos para essa funcionalidade, nesse caso.

De acordo com os resultados obtidos, a banana ouro apresentou teores superiores de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais e também de porcentagem de redução nas determinações da atividade antioxidante em relação às outras três variedades de sobremesa e as duas variedades de cozinhar.

REFERÊNCIAS

1. **AGRIANUAL 2011: anuário de agricultura brasileira 2011**. FNP consultoria & agroinformativos, São Paulo, 2011. p.255-266.

2. ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil, **Food Research International**, v.44, n.7, p.2155-2149, 2011.

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

4. AMORIM, E. P. et al. Caracterização de acessos de bananeira com base na concentração de compostos funcionais, **Ciência Rural,** v.41, n.4, p.592-598, 2011.

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

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

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

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

9. BRAND-WILLIANS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie,** v. 22, p.25-30, 1995.

10. CANO, M. P. et al. Differences among spanish and latin-american banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 59, n. 3, p.411-419, 1997.

11. CHINA, R. et al. *In vitro* Antioxidant Activity of Different Cultivars of Banana Flower (*Musa paradicicus* L.) Extracts Available in India. **Journal of Food Science**, v.76, n.9, p.1292-1299, 2011.

12. COHEN, K. O. et al. Vitamina C, Carotenóides, Compostos Fenólicos e Atividade antioxidante em genótipos de banana, **EMBRAPA – Comunicado técnico**, 2009.

13. DAVEY, M. W. et al. Genetic variability in Musa fruit provitamin A carotenoids, lutein and mineral micronutrient contents. **Food Chemistry**, v.115, p.806–813, 2009.

14. FAOSTAT, 2009. **On-Line Statistical Database of the Food and Agricultural Organization of the United Nations**. Disponível em http://faostat.fao.org. Acesso em 9 Fevereiro, 2012.

15. GARCÍA-PARRILLA, M. C. Antioxidantes en la dieta mediterránea. **Nutrición Clínica en Medicina**, v.3, p.129–140, 2008.

16. GIBELLINI, L. et al. Quercetin and Cancer Chemoprevention, **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2011, p.1-5, 2011.

17. GÜLÇIN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview, **Archives of Toxicology**, v.86, p.345–391, 2012.

18. HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease, **Annual Review of Nutrition**, v.16, p.33-50, 1996.

19. HALLIWELL, B. et al. The Characterization of Antioxidants, **Food and Chemical Toxicology**, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

20. HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition; **Oxford University Press**, p.268-340, 2007.

21. HO, C.; RAFI, M. M.; GHAI, G. Substâncias Bioativas: Nutracêuticas e Tóxicas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O. R. (Ed). **Química de Alimentos de Fennema, 4ªed.**, Porto Alegre: Artimed, 2010. p.585-609.

22. Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto, Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo (SP): IMESP, 2005

23. IMSABAI, W.; KETSA, S.; VAN DOORN, W. G. Physiological and biochemical changes during banana ripening and finger drop, **Postharvest Biology and Technology**, v.39, p.211–216, 2006.

24. ISMAIL, A.; MARJAN, Z. M.; FOONG, C. W. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chemistry**, v.87 p.581–586, 2004.

25. JOHNSTON, C. S.; STEINBERG, F. M.; RUCKER, R. B.; Ascorbic Acid, In: ZEMPLENI, J.; RUCKER, R. B.; MCCORMICK, D. B.; SUTTIE, J. W. (Ed) - **Handbook of Vitamins, 4ªEd**, Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2007. p.490-509.

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

27. KNEKT, P. et al. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p.560-568, 2002.

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

29. LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, p.496–502, 2003.

30. MATTOS, L. A. et al. Agronomic, physical and chemical characterization of banana fruits, **Crop Breeding and Applied Biotechnology,** v.10, p.225-231, 2010.

31. MEECHAONA, R. et al. Fatty acid content and antioxidant activity of Thai bananas. **Maejo International Journal of Science and Technology**, v.1, p.222–228, 2007.

32. MÉLO, E. A. et al. Teores de Polifenóis, Ácido Ascórbico e Carotenóides Totais em Frutas e Hortaliças Usualmente Consumidas, **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n.2, p.89-94, 2006.

33. MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources, **Food Chemistry**, v. 72, p.145-171, 2001.

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

35. PATTHAMAKANOKPORN, O et al. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits, **Journal of Food Composition and Analysis,** v.21, p.241–248, 2008.

36. PÉREZ-JIMÉNEZ, J., ARRANZ, S., TABERNERO, M., DÍAZ-RUBIO, E., SERRANO, J., GOÑI, I., SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results, **Food Research International**, v.41, n.3, p.274–285, 2008.

37. REDDY, C. V. K.; SREERAMULU, D.; RAGHUNATH, M. Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India, **Food Research International**, v.43, p.285–288, 2010.

38. RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M.; CARRARO, F. Chemical composition and antioxidant activity of juices from mature and immature acerola (*Malpighia emarginata DC.*), **Food Science Technology International**, v.11, n.4, p. 315-321, 2005.

39. SCALBERT, A. et al. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.45, n.4, p.287-306, 2005.

40. SCALBERT, A; MONTIES, B; JANIN, G. Tannins in wood: Comparison of different estimation methods, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, p.1324-1329, 1989.

41. SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols, **Journal of Nutrition**, v.130, p.2073-2085, 2000.

42. SERKEDJIEVA, J. Antioxidant Effects of Plant Polyphenols: A Case Study of a Polyphenol-rich Extract from *Geranium sanguineum L.* In: GUPTA, S. D. **Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants,** Enfield: Science Publishers, 2010. p. 275-293.

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

44. SULAIMAN, S. F. et al. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw Vegetables, **Journal of Food Composition and Analysis,** v.24, p.506–515, 2011.

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

46. STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBÁŇ, V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals, **Talanta**, v.71, n.4, p.1741–1751, 2007.

47. UNICAMP (Universidade Estadual de Campinas): Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA, **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO 4ª Ed.**, Campinas – SP, 161p. 2011.

48. VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação**. Química Nova**., v.30, n.5, p.1323-1338, 2007.

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

50. ZIN, Z. M. et al. Antioxidative activities of chromatographic fractions obtained from root, fruit, and leaf of Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). **Food Chemistry**, v.94, p.169–178, 2006.

51. YANG, C. S. et al. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds**,** **Annual Review of Nutrition,** v.21, p.381-406, 2001.

52. YOUNG, I. S.; WOODSIDE, J. V. Antioxidants in health and disease. **Journal of Clinical Pathology**, v.54, p.176–186, 2001.