



## Avaliação do Efeito da Adição de Enzimas Comerciais sobre o Extrato de Bagaço de Caju

Renata Débora Pinto Rodrigues<sup>1,2</sup>, Manuella Macêdo Barbosa<sup>1,3</sup>, Gustavo Adolfo Saavedra Pinto<sup>1,3</sup>, Edy Sousa de Brito<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical - Laboratório de Bioprocessos

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270 CEP: 60511-110 Fortaleza-CE - E-mail: gustavo@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Universidade Federal do Ceará – Depto. de Engenharia de Alimentos

Caixa Postal 12168 – 60356-000 Fortaleza – CE - E-mail: redebdriguez@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal do Ceará – Depto. de Engenharia Química

### RESUMO

*O caju é rico em carotenóides e compostos antioxidantes que permanecem no bagaço mesmo após a extração do suco. A Embrapa Agroindústria Tropical desenvolveu um processo, para a obtenção e a concentração de um extrato que contém esses compostos, que podem ser empregados na indústria como corantes naturais. Um fator limitante de sua aplicação é o alto teor de sólidos em suspensão no extrato que promovem turbidez excessiva e com o passar do tempo precipitam. Neste trabalho, avaliou-se o impacto da adição de enzimas comerciais sobre a redução das partículas presentes no extrato de bagaço de caju. Os resultados demonstraram que há redução no tamanho dos polissacarídeos do extrato com o tratamento enzimático. As enzimas mais eficientes foram a Viscozyme L e a AMG 300L, na temperatura de 35°C, concentração de 1000 ppm e após 4 horas de maceração.*

**Palavras-chave:** caju, bagaço, carotenóides, antioxidantes, turbidez, enzimas.

### INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma planta tropical, originária do Nordeste do Brasil, dispersa em quase todo o seu território. A agroindústria do caju representa atualmente uma parcela significativa da economia do Nordeste do Brasil (Embrapa, 1992) e apresenta destacada importância sócio-econômica para a região, tanto em termos de geração de renda, quanto em termos de emprego.

O caju é composto por duas partes distintas, correspondendo em média a uma distribuição em peso de 10% de castanha (fruto) e 90% de pedúnculo (pseudofruto). Destas, é o pedúnculo que possui menor percentagem de aproveitamento (Silva Neto, 2003).

O caju contém carotenóides e compostos fenólicos, sendo que muitos desses compostos permanecem no bagaço após a extração do suco. A Embrapa Agroindústria Tropical desenvolveu um processo, livre de solventes orgânicos, para a obtenção e a concentração de um extrato que contém esses compostos.

Atualmente, existe uma tendência para o uso de corantes naturais. Os carotenóides são uma classe de compostos que já são amplamente utilizados para esse fim. Outra tendência mundial é a dos alimentos funcionais, que na sua maioria contêm carotenóides e fenólicos, que



contribuem para a atividade antioxidante. Já é possível encontrar alimentos com alegações funcionais, com adição ou não de compostos antioxidantes (Embrapa, maio/junho 2007).

A obtenção do extrato a partir do bagaço do pedúnculo do caju ocorre por maceração dos tecidos em meio aquoso seguida por prensagem. Entretanto, os pigmentos no bagaço têm baixíssima solubilidade em água. Logo, enzimas são utilizadas, considerando que os carotenóides estão contidos nas células e que as paredes celulares têm estruturas complexas. O uso de enzimas com múltiplas atividades (celulase, hemicelulase e pectinase, principalmente), que hidrolisam os polissacarídeos estruturais das paredes celulares dos tecidos, favorece a liberação de seu conteúdo que inclui os pigmentos (Dominguez, Núñez, e Lema, 1994; Delgado-Vargas, Jiménez e Paredes López, 2000).

O extrato pode ser um ingrediente especial para produtos, conferindo-lhes cor ou ainda aumentando sua atividade antioxidante (Embrapa, julho/agosto 2007).

Um problema na utilização desse extrato é que ele, na forma bruta, apresenta um alto teor de sólidos em suspensão que promovem turbidez excessiva e com o passar do tempo precipitam. Limitando sua aplicação em determinados tipos de alimentos como, por exemplo, nos sucos de frutas que devem se apresentar de forma homogênea durante o seu tempo de vida útil (Pallet *et al.*, 2005).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o impacto da adição de enzimas com atividades distintas na redução do teor de sólidos em suspensão no extrato final.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### **Matéria-prima:**

As amostras de pedúnculo de caju CCP-76 provenientes da Estação Experimental de Pacajus/CE foram lavadas e sanitizadas com solução de cloro. A extração do suco foi realizada em prensa do tipo expeller, seguida por filtração do suco em peneira de 3 mm. A extração gerou o bagaço como subproduto (Azeredo *et al.*, 2006).

### **Obtenção do pigmento:**

O método compreende basicamente as seguintes etapas: (a) umidificação do bagaço com solução aquosa, na proporção de 1:1 (1 kg de bagaço: 1 kg de água), a uma temperatura de 27°C e a um pH de 3,0 a 7,0; (b) prensagem do bagaço úmido; (c) repetição das etapas (a) e (b) até a retirada de praticamente todo o pigmento do bagaço para obtenção de uma fase líquida total resultante da mistura dos extratos obtidos na prensagem; (d) filtração da fase líquida total em peneira de 3 mm para eliminação de partículas de fibra (Abreu, 2001).

### **Caracterização das enzimas:**

As preparações enzimáticas comerciais foram analisadas bioquimicamente com o objetivo de determinar as atividades das seguintes enzimas: Poligalacturonase (Pressey e Avants, 1973); Pectinametilesterase (Jen e Robinson, 1984); Pectinoliase (Zetelaki, 1998); Amilase (Martin, 1980); Xilanase (Gomes *et al.*, 1992); Invertase (Moura *et al.*, 2007) e Celulase (Wood e Garcia-Campayo, 1990).

### **Tratamento enzimático:**

A 10mL do extrato foram adicionados 10µL das seguintes enzimas: AMG 300L, Viscozyme L, Pectinex Ultra SP-L, Citrozym L, Pectinex AR, Celluclast e Shearzyme da Novozymes e



Biopectinase CCM e Biopectinase CT da Novo Nordisk. As amostras foram então homogeneizadas e incubadas em banho termostatizado na temperatura de 35°C sob constante agitação. As amostras foram retiradas após 1, 2 e 4 horas de maceração, e relacionadas ao controle sem adição de enzima.

### Análises:

A cada retirada foi determinada a cor instrumental no sistema CIELab e em seguida o extrato macerado foi centrifugado a 10.000 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos. Com o sobrenadante, determinou-se novamente a cor instrumental bem como a concentração de grupos redutores totais segundo Miller (1959). Já com o precipitado foram realizadas pesagens com o intuito de avaliar a eficiência dos tratamentos enzimáticos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização das enzimas:

As atividades das enzimas presentes nas formulações empregadas estão resumidas na tabela 1.

Tabela 1: Valores de atividade da Xilanase(XIL), Invertase(INV), Pectinoliase(PL), Pectinametilsterase(PME), Poligalacturonase(PG), Amilase(AMI), Celulase(CEL), respectivamente.

Formulação	Atividade (U.g <sup>-1</sup> )						
	XIL	INV	PL	PME	PG	AMI	CEL
Pectinex Ultra SP-L	71,6	94,1	17,2	18,9	500,9	24,9	19,5
Pectinex AR	167,2	18	1,5	3,6	408,5	20,2	29,7
Shearzyme	7756,3	6,8	0,3	8,5	947,7	25,9	53,9
Viscozyme L	88,8	232,5	25,3	61,3	548,7	171,6	8,2
AMG 300L	52,5	47,7	0,5	50,8	21,6	237,9	N.D.
Celluclast	183	0,2	0,2	17	N.D.*	1,4	248,1
Citrozym L	231,6	34,3	1	17,6	941,7	17,9	218,2
Biopectinase CT	27,1	42,9	0,9	5,2	1046,8	5,4	N.D.
Biopectinase CCM	90,5	42,4	0,2	18,3	1022,6	11,8	N.D.

\*N.D.: Não detectado.

O complexo enzimático que apresenta maior atividade de Pectinoliase e de Amilase é a Viscozyme L. As formulações em que se observa maior teor de Pectinametilsterase são a Viscozyme L e AMG, respectivamente. A Poligalacturonase está presente em grande quantidade em quase todas as enzimas, sendo a Biopectinase CT a que possui maior atividade desta.

### Hidrólise do extrato de bagaço de caju:

Observando-se a Figura 1, notamos que todas as enzimas com exceção da Shearzyme, da Celluclast e da Pectinex Ultra SP-L, tiveram a concentração de açúcares redutores aumentada.. Além disso, de todas as formulações testadas, as que apresentaram maiores

concentrações de açúcares redutores totais foram a Viscozyme L e a AMG 300L. Isto se deve ao fato de que tais enzimas hidrolisam melhor os polissacarídeos no extrato. Segundo Balischi *et al* (2002), o tratamento enzimático reduz o tamanho das macromoléculas presentes. Com isso obtém-se um produto mais límpido, menos turvo. De acordo com a Tabela 1, a AMG 300L e a Viscozyme L possuem grande atividade amilolítica e pectinolítica, logo espera-se que o extrato de bagaço de caju seja rico tanto em pectina quanto em amido.

A atividade da Viscozyme cresceu com o passar do tempo. Matta (1999), em estudos realizados com polpa de acerola afirmou que a viscosidade diminui com o tempo de tratamento e com a concentração das enzimas. Todavia o mesmo não ocorreu com a AMG, os dados obtidos demonstraram que praticamente não houve variação na concentração de açúcares redutores entre os tempos 1, 2 e 4 horas (Figura 2).

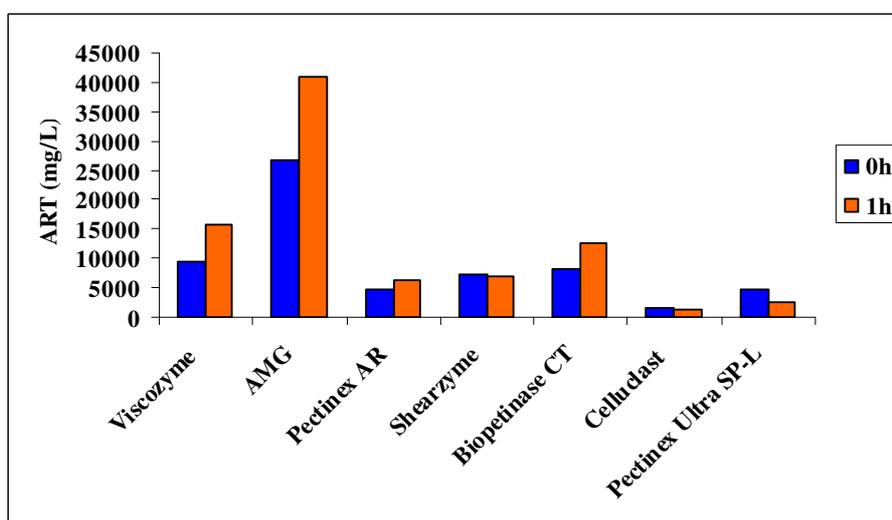


Figura 1- Histograma da concentração de açúcares redutores nos tempos zero e uma hora.

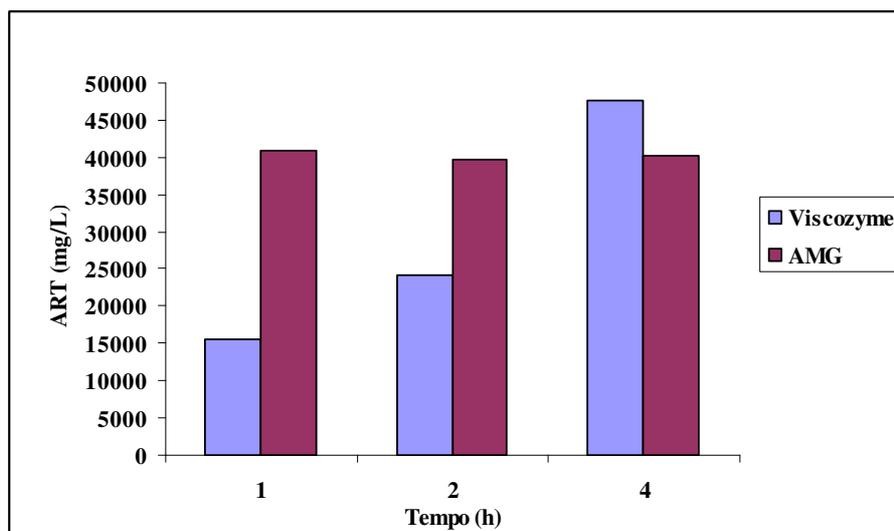


Figura 2- Histograma da concentração de açúcares redutores nos tempos 1, 2 e 4 horas.



A figura 2 nos mostrou ainda que utilizando-se a Viscozyme L há uma variação na concentração de ART de 38.214,29 mg/L. Quando a enzima utilizada é a AMG há variação de 13.600 mg/L. A maior concentração de açúcares foi obtida após 4 horas de maceração.

Sob as condições descritas no trabalho, fica então evidente que a Viscozyme L despolimeriza melhor os açúcares do extrato do que a AMG 300L. Entretanto, outros estudos devem ser realizados no sentido de otimizar as condições de temperatura, concentração enzimática e tempo de reação.

### Análise de cor:

A avaliação de cor nos extratos mostrou que o tratamento enzimático reduziu os valores do parâmetro “L”, indicando aumento da luminosidade, provavelmente devido à hidrólise dos sólidos em suspensão. O parâmetro “b”, que em sua escala positiva mede a intensidade da cor amarela, apresentou expressivo aumento após 4 horas de maceração, o que sinalizou que este foi muito expressivo para a liberação de substâncias pigmentadas para a fase aquosa (Figura 3).

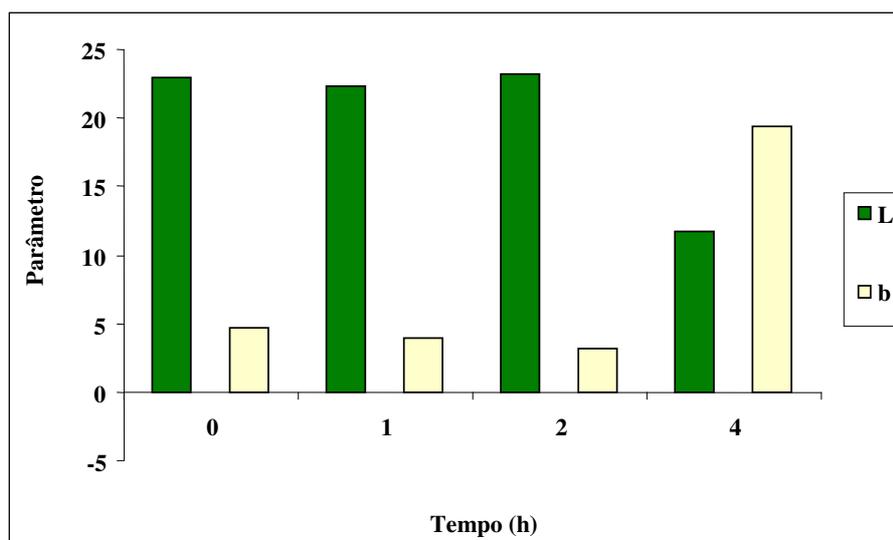


Figura 3: Avaliação colorimétrica pela escala CieLAB dos extratos submetidos a diferentes tempos de maceração enzimática e o controle.

## CONCLUSÃO

A melhor redução das partículas sólidas em suspensão no extrato de bagaço de caju foi obtida quando tratado com as enzimas Viscozyme L e AMG 300L na concentração de 1000 ppm, na temperatura de 35°C e no tempo de maceração de 4 horas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, Fernando Antonio Pinto de. (2001), Extrato de bagaço de caju rico em pigmento. EMBRAPA. *Embrapa Agroindústria Tropical* (Fortaleza). BR. n. PI 0103885-0, 19 jun.



Azeredo, H. M. C.; Abreu, F. A. P.; Sousa, L. L.; Souza, A. C. R.; Brito, E. (2006), Avaliação do impacto de pré-tratamentos sobre a extração de carotenóides por prensagem sequencial de bagaço de caju. *Boletim do CEPPA*, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 397-404.

Balisch, L.; Pereira N. C.; Lima, O. C.M.; Barros, S. T. D.; Damasceno, J. W.; Mendes, E. S. (2002), Influência do tratamento enzimático sobre as características reológicas e microscópicas da polpa de acerola. *Revista Acta Scientiarum*, Maringá, v. 24, n. 6, p. 1649-1658.

Castro, T. A.; Abreu, F. A. P.; Carioca, J. O. B. (2007), Obtenção de suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale*, L) utilizando processos de separação por membranas. *Revista Ciência Agronômica*, v.38, n.2, p.164-168.

EMBRAPA – CNPAT. Novas tendências. Fortaleza, maio/junho 2007 n° 122, p. 4 – 6.

EMBRAPA – CNPAT. Agropacto: Propostas para a cajucultura. Fortaleza, julho/agosto 2007 n° 123, p. 4.

Gomes, I., Gomes, J., Steiner, W. & Esterbauer, H. (1992), Production of cellulase and xylanase by a wild strain of *Trichoderma viride*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 36: 701-707.

Jen, J.J.; Robinson, M.L.P. (1984), Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science*, v.49, p.1045-1087.

Macêdo, M.; Pinto, G. A. S.; Brito, E. (2002), Análise Físico-Química do extrato do bagaço do pedúnculo do caju e avaliação da eficiência da concentração por evaporação e por centrifugação de compostos antioxidantes presentes no bagaço. IC- Encontro de Iniciação Científica- EMBRAPA – Agroindústria Tropical.

Martin, C.O. (1980), Produção de Preparações Amilásicas a Partir da Farinha de Mesocarpo do Fruto de *Orbygnia martiana* (babaçu). *Tese de Mestrado*. Escola de Química/UFRJ.

Matta, V.M. (1999), Estudo da utilização dos processos de separação por membrana para obtenção de suco de acerola clarificado e concentrado.. *Tese de Doutorado* -FEA/Unicamp, Campinas.

Miller, G.L. (1959), Use of dinitrosalicylic acid reagents for determination of reducing sugars. *Analytical Chemistry*.

Moura, C. L. A.; Pinto, G. A. S.; Rodrigues, S. (2007), Determinação da atividade de invertase (E.C. 3.2.1.26). Documentos: Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, CE, outubro.

Pallet, D.; Cabral, L.; Matta, V.; Pezoa-García, N. H.; Abreu, F. A. P.; Dornier, M.; Reynes, M. (2005), Applications des Technologies membranaires aux traitements de jus de fruits brésiliens. *Cahiers d'études et de recherches francophones/Agricultures*. Volume 14, Numéro 1, 159-163.

Pressey, R.; Avants, J.K. (1973), Separation and characterization the exopolygalacturonase e endopolygalactunonase from peaches. *Plant Physiology*, Baltimore, v.52, n.3, p.252-256.

Wood, T.M. & Garcia-Campayo, V. (1990), Enzymology of cellulose degradati. *Biodegradation* 1: 147-161.

Zetelaki, Z., Harváth. (1998), Factors affecting pectin lyase activity. *Acta Alimentaria*, v. 36, p. 701-707.