



AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE MACERAÇÃO ENZIMÁTICA NO BAGAÇO DO PEDÚNCULO DO CAJU PARA A OBTENÇÃO DE CAROTENÓIDES

M. M. BARBOSA^{1,2}, G. A. S. PINTO¹, E. S. de BRITO¹ e R. D. P. RODRIGUES¹

¹ Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270 – Planalto Pici, Fortaleza-CE, CEP: 60511-110, E-mail: gustavo@cnpat.embrapa.br

² Universidade Federal do Ceará/Departamento de Engenharia Química
E-mail: manuellamacedoalimentos@yahoo.com.br

RESUMO - O bagaço de caju constitui uma fonte de carotenóides. O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência de um complexo enzimático pectinolítico, temperatura e tempo de maceração na obtenção de carotenóides provenientes do caju. Para a seleção das melhores condições testou-se as temperaturas de 30°, 35° e 40°C, proporções de bagaço:água (1:1 e 1:2), com concentrações de 250, 500 ppm e o grupo controle sem enzimas, observados por uma, duas e três horas. O extrato foi obtido por prensagem sequencial do bagaço umidificado, totalizando-se cinco passagens pela prensa. Para a obtenção do extrato obtido com a adição de enzimas, adicionou-se 500 ppm de complexo enzimático pectinolítico antes da primeira prensagem. A melhor condição foi obtido na temperatura de 30°C, com adição de 500 ppm de enzimas, na proporção de 1:1 (bagaço:água), na qual houve um ganho de 48% no teor de carotenóides, em relação ao extrato obtido sem enzimas.

PALAVRAS-CHAVE: bagaço, caju, carotenóides, pectinolítica.

1.0 INTRODUÇÃO

O cajueiro é uma cultura de grande importância econômica para a região Nordeste, tanto pelo fato de ser consumido *in natura* como pela industrialização de seus frutos, resultando em sucos e outros produtos muito consumidos nos mercados interno e externo (PETINARI E TARSITANO, 2002). Grandes segmentos populacionais do Nordeste brasileiro têm no caju importante fonte de recursos, sendo para muitos

municípios a principal cultura geradora de divisas (MENEZES E ALVES, 1995).

A aparência de um alimento concorre grandemente para a sua aceitabilidade, por esta razão a cor é um dos principais atributos dos alimentos, tanto os naturais como os processados, tornando-os visualmente agradáveis e atrativos. A cor em alimentos resulta da presença de compostos coloridos já existentes no produto natural (pigmentos naturais), ou da adição de corantes sintéticos



(BOBBIO E BOBBIO, 2003). Contudo, os corantes artificiais têm sido questionados por certos segmentos da população, e esta tendência, aliada à publicidade contínua e adversa, tem aumentado o interesse pelos corantes naturais (ARAÚJO, 2004).

O bagaço, subproduto do processo de obtenção do suco de caju, representa cerca de 25% a 30% do peso do pedúnculo, sendo geralmente descartado ou utilizado para a elaboração de farinha para ração animal (LEITE, 1994). Tal destino para o bagaço pode ser considerado um grande desperdício, já que este subproduto da indústria do caju constitui uma fonte de polifenóis e carotenóides, compostos de alto valor agregado em função de suas propriedades funcionais em alimentos, além do poder corante dos carotenóides (ABREU, 2001).

Os pigmentos carotenóides localizam-se nos cromoplastos e também nos cloroplastos, associados com a clorofila. Com a degradação da clorofila, os carotenóides previamente presentes nos tecidos tornam-se visíveis, ou podem também ser sintetizados com o avanço da maturação dos frutos. Já as substâncias pécnicas constituem um grupo complexo de carboidratos extraídos de plantas. Com a evolução da maturação dos frutos ocorre a solubilização do polímero pécnico pela ação de duas enzimas específicas, denominadas, respectivamente, como pectinametilesterase (PME), responsável pelo rompimento das ligações metil-éster e poligalacturonase (PG), que transforma os polímeros de ácidos poligalacturônico em ácidos pécnicos, solúveis em água (CHITARRA E CHITARRA, 2005).

Enzimas, principalmente as pectinases, vêm sendo empregadas com os seguintes propósitos: aumentar o rendimento do suco devido à melhor prensagem da fruta; na liquefação da fruta para a máxima utilização

da matéria-prima; aumentar o rendimento de ácidos e substância que conferem sabor e aroma; na clarificação de sucos, visando o aumento da estabilidade; na quebra de carboidratos poliméricos, tais como pectinas, hemiceluloses e amido (COELHO *et al*, 2008).

A extração de pigmentos de tecidos vegetais ocorre geralmente com a utilização de solventes orgânicos. No entanto, o fato de muitos solventes emitirem gases poluentes e/ou carcinogênicos motivou a realização de pesquisas para a substituição de solventes durante a obtenção de pigmentos vegetais por processos mais limpos ambientalmente e que não promovam danos à saúde (ROSENTHAL, PYLE E NIRAJAN, 1996). O uso de enzimas com atividades mistas (celulases, hemicelulases e pectinases, principalmente), hidrolisam os polissacarídeos estruturais das paredes celulares dos tecidos, favorecendo a liberação de seu conteúdo, que inclui os pigmentos carotenóides (DOMINGUEZ, NÚÑEZ E LEMA, 1994); (DELGADO-VARGAS, JIMÉNEZ E PAREDES LÓPEZ, 2000).

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência da concentração de complexo enzimático pectinolítico, da temperatura e do tempo de maceração na obtenção de pigmentos carotenóides provenientes do caju.

2.0 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

O bagaço de caju foi gentilmente cedido pela indústria Jandaia-Sucos do Brasil, localizada em Pacajus no estado do Ceará. O bagaço foi armazenado em freezer a uma temperatura de -18°C até o momento do processamento.



2.2 Determinação de compressão aplicada pela mola

A compressão da mola foi medida comprimindo-se a mola em intervalos de 10 mm e medindo-se a respectiva força (N) em um Equipamento de Ensaio Universais da marca Instron e modelo 8802. O comprimento inicial da mola em repouso era de 242,45 mm.

2.3 Obtenção da condição ótima de concentração enzimática, tempo de maceração e proporção bagaço: água

Para a obtenção das melhores condições em escala laboratorial foram realizados quatro experimentos nos quais o bagaço permaneceu em banho-maria MARCONI com circulação de água à temperatura de 30°C (tabela 1).

Tabela 01- Condições dos ensaios iniciais para a obtenção de extrato do bagaço do pedúnculo do caju.

Ensaio	Condições			
	Peso de bagaço (Kg)	Proporção Bagaço: água	Enzimas (ppm)	Temperatura (°C)
1	3	1:1	500	30
2	3	1:1	S/E	30
3	3	1:2	250	30
4	3	1:2	S/E	30

S/E = enzimas

Esses experimentos foram observados visualmente quanto à intensidade da cor amarela por uma, duas e três horas.

2.4 Obtenção do extrato do bagaço do caju

Para a obtenção do extrato do bagaço do pedúnculo foram realizados três experimentos, onde o bagaço permaneceu em banho-maria, macerado por uma hora nas temperaturas 30, 35 e 40°C, na proporção de 1:1 (peso de bagaço: água). A obtenção do extrato do bagaço do caju foi realizada conforme metodologia descrita por ABREU (2001). O método compreende basicamente às seguintes etapas: (a) umidificação de 4,0 Kg de bagaço com água na proporção de 1:1; (b) prensagem do bagaço úmido com na prensa do tipo EXPELLER fabricada por CEIL com uma força de 804,61 N; (c) repetição das etapas (a) e (b), com umidificação do bagaço da prensagem anterior. Esse procedimento foi realizado, totalizando-se cinco passagens pela prensa.

2.5 Tratamento enzimático do extrato do bagaço do pedúnculo do caju

Para a obtenção do pigmento extraído com enzima, repetiu-se o procedimento acima nas três temperaturas e condições pré-estabelecidas até a quinta extração com uma concentração de 500 ppm do complexo enzimático pectinolítico acrescentada no primeiro bagaço umidificado.

2.6 Obtenção da fibra após a extração dos pigmentos

Pesou-se quinhentos gramas de bagaço após a extração do pigmento sem adição de complexo enzimático, lavou-se com nove litros de álcool comercial e com um litro de acetona P.A. Secou-se a fibra em exaustor e o material resultante foi peneirado em tamisador contendo peneiras com aberturas de 16; 8; 4; 1; 0,5; 0,25; 0,120 e abaixo de 0,120 mm. As frações foram agrupadas de acordo com a granulometria da seguinte maneira: fibra retida na peneiras com abertura de 16; 8;



4 e 2 mm; fibra retida em 1; 0,5 e 0,25 mm; e fibra retida em 0,120 e abaixo de 0,120 mm. Analisou-se o teor de pectina, celulose e hemicelulose nessas três frações. Repetiu-se esse procedimento para a obtenção da fibra com enzimas.

2.7 Análises

O teor de carotenóides totais foi realizado segundo HIGBY (1962). A quantidade de pectina, celulose e hemicelulose foi dosada segundo SCHIEBER (2005). Os açúcares redutores foram determinados segundo MILLER (1959). Todas as análises foram realizadas em duplicata segundo as metodologias citadas acima.

3.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A força aplicada na mola apresentou um comportamento linear em função da distância até a compressão de 80 mm, o que pode ser observado na equação 1 e tabela 2, a partir daí o comportamento passou a ser não linear. Neste trabalho utilizou-se 21,7 mm de deformação a mola, resultando em 804,61 N de força aplicada.

Tabela 2: Correlação entre a distância de compressão da mola utilizada com a força exercida sobre o sistema da prensa Expeller.

COMPRESSÃO (mm)	FORÇA (N)
10	361
20	739
30	1123
40	1512
50	1902
60	2298
70	2695
80	3159
90	3824
100	4608

$$\text{Força} = (44,811 * \text{Distância}) - 242,45 \quad (1)$$

As melhores condições de temperatura, concentração enzimática e tempo de maceração foram obtidos no experimento conduzido à 30°C, macerado por uma hora, com adição de 500 ppm de complexo enzimático pectinolítico antes da primeira prensagem, que apresentou maior intensidade de coloração amarela (figura 01).

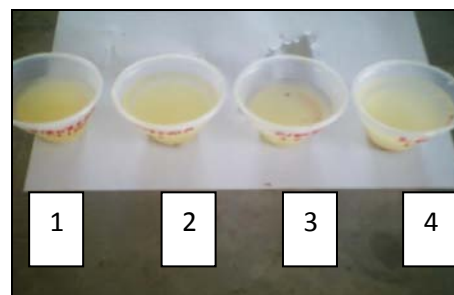


Figura 01- 1. Extrato do bagaço do pedúnculo do caju obtido à temperatura de 30°C, com 500 ppm de complexo enzimático pectinolítico, na proporção de 1:1 (peso de bagaço: água). 2. Extrato do bagaço do pedúnculo do caju obtido à temperatura de



30°C, sem enzimas, na proporção de 1:1 (peso de bagaço: água). 3. Extrato do bagaço do pedúnculo do caju obtido à temperatura de 30°C, com 250 ppm de complexo enzimático pectinolítico, na proporção de 1:2 (peso de bagaço: água). 4. Extrato do bagaço do pedúnculo do caju obtido à temperatura de 30°C, sem enzimas, na proporção de 1:2 (peso de bagaço: água).

Os teores de carotenóides cumulativos dos cinco extratos obtidos com complexo enzimas macerados por uma hora em mistura aquosa aquecido nas temperaturas de 30, 35 e 40°C encontram-se na figura 02.

Dentre os extratos obtidos com complexo enzimático pectinolítico os maiores valores de carotenóides cumulativos em D.O.(densidade óptica) foram observados nas temperaturas de extração de 30, 40 e 35°C, respectivamente. Todos os extratos obtidos com adição de enzimas obtiveram maiores valores de carotenóides do que os extratos obtidos sem enzimas. O aquecimento do bagaço causa o amolecimento dos tecidos e facilita a obtenção de pigmentos durante a prensagem, o que pode explicar o maior teor de carotenóides nos extratos obtidos à 40°C do que no extrato obtido à 35°C.

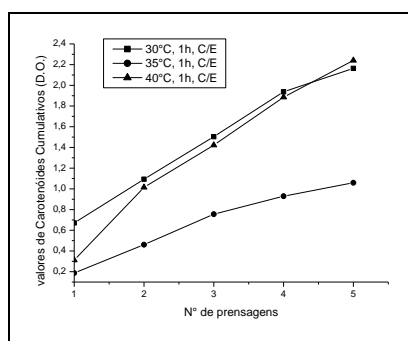


Figura 02- Teor de Carotenóides cumulativos em extratos obtidos com enzimas macerado por uma hora em mistura aquosa nas temperaturas de 30,35 e 40°C.

Dessa forma, a temperatura ótima da enzima aplicada em bagaço de pedúnculo de caju foi 30°C, pois houve maiores valores de carotenóides em D.O. nessa temperatura. Corroborando com os resultados obtidos no presente trabalho, BAILEY E PESSA (1990), afirmaram que a temperatura ótima de ação de pectinase do complexo pectinolítico Ultra SPL é de 30°C. Segundo a NOVOZYMES (2001) a faixa ótima de temperatura da enzima varia de 30 a 35°C.

Na figura 03 observa-se o valor de carotenóides cumulativos em D.O. dos cinco extratos obtidos sem enzimas macerados por uma hora em mistura aquosa aquecido nas temperaturas de 30, 35 e 40°C.

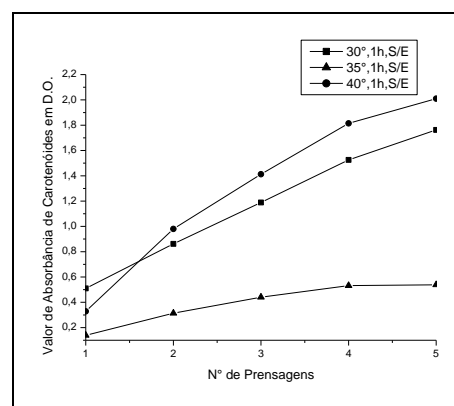


Figura 03- Teor de Carotenóides cumulativos em extratos obtidos sem enzimas macerado por uma hora em solução aquosa nas temperaturas de 30,35 e 40°C.

Observou-se que o maior teor de carotenóides foi obtido nas temperaturas de 40,30 e 35°C, respectivamente, nos extratos obtidos sem enzimas. O teor de carotenóides nos extratos obtidos sem enzimas se deve, em parte, à dilaceração da parede celular do bagaço do pedúnculo do caju pela força mecânica durante a prensagem seqüencial do bagaço (figura 03).



Os resultados obtidos para açúcares redutores ao longo de cada extração condizem com os resultados encontrados para os teores de carotenóides nos extratos com enzimas. Observou-se que houve um maior teor de açúcares redutores no extrato obtido na temperatura de 30°C, enquanto que nas temperaturas de 35° e 40°C, os valores de açúcares redutores em mg/l foram próximos (figura 04).

As pectinases hidrolisam as ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica das substâncias pécticas, aumentando assim o teor de açúcares redutores (figura 04), o que não ocorre nos extratos obtidos sem adição de complexo enzimático pectinolítico.

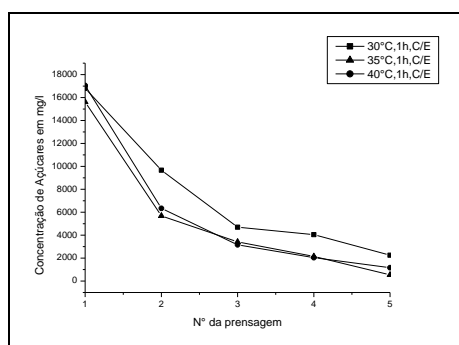


Figura 04 - Quantidades de Açúcares Redutores (mg/l) em extratos obtidos com enzimas macerado por uma hora em solução aquosa nas temperaturas de 30,35 e 40°C.

Os teores de pectina, celulose e hemicelulose após a extração do pigmento da quinta passagem pela prensa com e sem adição de complexo enzimático pectinolítico encontram-se nas tabelas 03, 04 e 05.

Tabela 03- Teores de pectina após a extração de pigmentos e quinta passagem pela prensa de fibra de caju com e sem tratamento enzimático

Resultado de Pectina em g/100g

Abertura da peneira em mm	% Pectina (sem enzima)	% Pectina (com enzima)
2< θ <16	78,82%	51,75%
0,25< θ <1	59,26%	56,21%
θ <0,120	40,29%	46,91%

Tabela 04- Teores de hemicelulose após a extração de pigmentos e quinta passagem pela prensa de fibra de caju com e sem tratamento enzimático.

Resultado de Hemicelulose em g/100g

Abertura da peneira em mm	% Hemicelulose (sem enzima)	% Hemicelulose (com enzima)
2< θ <16	18,51%	26,75%
0,25< θ <1	21,48%	25,28%
θ <0,120	44,71%	40,03%

Tabela 05- Teores de celulose após a extração de pigmentos e quinta passagem pela prensa de fibra de caju com e sem tratamento enzimático.

Resultado de Celulose em g/100g

Abertura da peneira em mm	% Celulose (sem enzima)	% Celulose (com enzima)
2< θ <16	2,67%	21,50%
0,25< θ <1	19,26%	18,51%
θ <0,120	15%	13,06%



Observou-se que o teor de pectina e hemicelulose das frações sem enzimas, retidas nas peneiras de abertura entre 16 e 1 mm, foi maior do que o teor das frações com enzimas.

Isso se deve à ação das enzimas pectinolíticas sobre a pectina e hemicelulose presentes na parede celular da fibra adicionada de enzima, que diminui o teor desses componentes na parede. A ação dessas enzimas foi maior nas frações de maior granulometria, aberturas de 16 à 2 mm e entre 1 à 0,25 mm, pois essas frações estão mais expostas à ação dessas enzimas (tabelas 03 e 04).

Já o teor de celulose foi maior na fibra com enzimas retida na peneira de abertura entre 16 e 2 mm do que na fibra sem enzima, isso se deve ao menor teor de celulose no complexo enzimático pectinolítico, já que a principal enzima é a pectinase. Isso pode ser observado pelo teor de celulose nas aberturas das peneiras retidas entre 0,25 e menor do que 0,120 mm, que foram semelhantes nas fibras com e sem enzimas.

4.0 CONCLUSÃO

A aplicação de enzimas pectinolíticas no extrato obtido à temperatura de 30°C, macerado por uma hora, resultou em um ganho percentual global de 48% em relação ao extrato obtido sem enzimas, indicando que houve uma ação considerável do complexo enzimático sobre a fibra do caju, facilitando a extração desses pigmentos. Já os extratos obtidos à temperatura de 35° e 40°C, apresentaram um ganho percentual global de 98% e 42%, em relação aos extratos obtidos sem enzimas.

O ganho percentual global do extrato obtido na temperatura de 30°C, macerado por uma hora com enzimas foi de 146% e 17% em relação aos extratos obtidos nas mesmas condições nas temperaturas de 35 e 40°C, respectivamente.

Os teores de pectina e hemicelulose das fibras retidas nas peneiras de aberturas entre 16 e 2 mm, sem tratamento enzimático, superaram os teores desses componentes de parede celular em 18,83% em relação a fibra de mesma granulometria obtida com enzima.

5.0 NOMENCLATURA

Os símbolos utilizados neste trabalho foram os seguintes:

°C: graus Celsius

D.O.: densidade óptica

g: gramas

mg/l: miligramas por litro

mm: milímetros

N: Newton

ppm: partes por milhão

6.0 REFERÊNCIA

ABREU, F.A.P. *Extrato de bagaço de caju rico em pigmento*. PI 0103885-0. 19 de junho de 2001.

ARAÚJO, J. M. A. *Química de Alimentos: teoria e prática*. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004. p. 331-332.



BAILEY, M.J.; PESSA, E. Strain and process for production of polygalacturonase. *Enzyme Microbiol. Technol.*, Atlanta, v. 12, p. 266–71, 1990.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. *Introdução à química de Alimentos*. 3. ed., São Paulo: Varela, 2003. p. 202-215.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A.B. *Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio*. 2. Ed. Lavras: UFLA, 2005.

COELHO, M. A. Z. *et al. Tecnologia enzimática*. 1. ed. Rio de Janeiro: FAPERJ, 2008. p. 147-148.

DELGADO-VARGAS, F.; PAREDES-LÓPEZ, O. Effects of enzymatic treatments on carotenoid extraction from marigold flowers (*Tagetes erecta*). *Food Chem.*, v. 58, n. 3, p. 255-258, 1997.

DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.J.; LEMA, J.M. Enzyme-assisted hexane extraction of soya bean oil. *Food Chem.*, v. 54, n. 2, p. 223-231, 1995.

HIGBY, W. K. A. A simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natural and carotene fortified orange juice. *Journal of Food Science*, v. 27, p. 42-49, 1962.

LEITE, L.A.S. *A agroindústria do caju no Brasil. Políticas públicas e transformações*

econômicas. Fortaleza: EMBRAPA – CNPAT, 1994. 195 p.

MENEZES, J.B.; ALVES, R.E.; *Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita do Pedúnculo do Caju*. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1995. P.20. (EMBRAPA, CNPAT, Documentos, 17). ISSN 0103-5797.

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

NOVOZYMES *Manual, Product Sheet, Fruit & Vegetable- 07212-02*. Araucária: Novozymes Latin America Limited. 2001.

PETINARI, R.A.; TARSITANO, M.A.A. Comercialização de Caju *in natura* na região Noroeste do estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, V.24, n. 3, p. 700-702. Dez. 2002.

ROSENTHAL, A.; PYLE, D.L.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme Microb. Technol.*, Atlanta, v. 19, n. 6, p. 402-420, 1996.

SCHIEBER, A.; FÜGEL, R.; HENKE, M.; CARLE, R.; Determination of the fruit content of strawberry fruit preparations by gravimetric quantification of hemicelluloses; *Food Chemistry*, n.91, 2005, p. 365-377.

