



# AVALIAÇÃO DO TEOR DE FLAVONÓIDES EM EXTRATO DO BAGAÇO DO PEDÚNCULO DO CAJU OBTIDO POR MACERAÇÃO ENZIMÁTICA

M. M. BARBOSA<sup>1,2</sup>, G. A. S. PINTO<sup>1</sup>, E. S. de BRITO<sup>1</sup>, R. D. P. RODRIGUES<sup>1</sup> e V.M. de SOUSA

<sup>1</sup> Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270 – Planalto Pici, Fortaleza-CE, CEP: 60511-110, E-mail: [gustavo@cnpat.embrapa.br](mailto:gustavo@cnpat.embrapa.br)

<sup>2</sup> Universidade Federal do Ceará/Departamento de Engenharia Química  
E-mail: [manuellamacedoalimentos@yahoo.com.br](mailto:manuellamacedoalimentos@yahoo.com.br)

**RESUMO** - Os flavonóides são pigmentos fenólicos antioxidantes presentes em plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar as quantidades de flavonóides amarelos em extrato de bagaço do pedúnculo do caju. O extrato foi obtido por prensagem seqüencial do bagaço umidificado macerado por uma hora nas temperaturas de 30 e 35°C, totalizando-se cinco passagens pela prensa. Para a obtenção do extrato obtido com a adição de enzimas, adicionou-se 500 ppm de pectinases antes da primeira prensagem. Observou-se que a ação da enzima combinada com um aumento de 5°C na temperatura em que os experimentos foram conduzidos favoreceu a obtenção de compostos flavonóides, pois houve um ganho percentual global de 830% no experimento à temperatura de 35°C com enzimas em relação ao experimento conduzido na mesma temperatura sem enzimas.

**PALAVRAS-CHAVE:** bagaço, caju, flavonóides, pectinases.

## 1.0 INTRODUÇÃO

Os flavonóides englobam uma parte muito importante de pigmentos naturais encontrados com grande freqüência na natureza, unicamente em vegetais (BOBBIO E BOBBIO, 2003).

Os flavonóides não antociânicos compreendem duas classes principais de compostos, as flavonas e flavonóis. A significância desses pigmentos com relação à cor dos vegetais se limita aos vegetais amarelados. Os flavonóis mais comuns são kaempferol, quercetina e miricetina (BOBBIO E BOBBIO, 2003).

Os flavonóides vêm despertando um grande interesse devido a estudos



epidemiológicos que mostram que uma dieta rica nestes compostos está associada ao baixo risco de doenças cardiovasculares e algumas formas de câncer (FRANKE, 1998).

Vários efeitos biológicos têm sido atribuídos aos flavonóides, visto que são capazes, por exemplo, de inibir a peroxidação de lipídeos e a agregação plaquetária, e de ativar sistemas enzimáticos incluindo ciclooxigenases e lipoxigenases. Esses efeitos são devidos a sua capacidade de remover radicais livres e de quelar cátions divalentes (COOK, 1996). Outros estudos também têm mostrado que os flavonóides quercetina, rutina e naringina inibem a biossíntese de eicosanóides (resposta antiprostanoide e antiinflamatória), protegem a oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL) (previnem formação de placa aterosclerótica), previnem agregação plaquetária (efeitos antitrombóticos), e promovem relaxamento de músculo liso (efeito antihipertensivo e antiarrítmico). Além disso, flavonóides têm também apresentado propriedades antivirais e carcinostáticas (PELZER *et al*, 1998).

O caju e a pitanga são as melhores fontes entre as frutas, pois são ricos em quercetina, kaempferol e miricetina (HUBER E AMAYA, 2008). Segundo ABAS *et al* (2006) determinaram a atividade antioxidante do *Anacardium occidentale* e concluíram ser esta fruta uma boa fonte de compostos antioxidantes.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as quantidades de flavonóides em extrato de bagaço do pedúnculo do caju obtidos à 30 e a 35°C, com e sem adição de complexo enzimático pectinolítico.

## 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 Obtenção do extrato do bagaço do caju

Pesou-se 4 kg de bagaço, utilizou-se uma proporção de 1:1, peso de bagaço: peso de água, que foi aquecida em um banho-maria com circulação de água MARCONI à temperatura de 30°C, no primeiro experimento, e de 35°C, no segundo. 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 EXPPELLER fabricada por CEIL com uma força de 804,61 N; (c) repetição das etapas (a) e (b), com umidificação do bagaço da prensagem anterior.

### 2.3 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.

## 2.4 Tratamento enzimático do extrato do bagaço do pedúnculo do caju

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

## 2.5 Análises

O teor de flavonóides, quercetina, miricetina e kaempferol, foram realizadas segundo a metodologia descrita por BRITO *et al* (2007). Os padrões para o HPLC de miricetina, quercetina, kaempferol e o metanol P.A. foram adquiridos da Sigma Chemical CO. A água utilizada no HPLC foi preparada com água destilada usando o sistema Mili-Q (Milipore Lab.).

Utilizou-se a coluna Zorbax SB-C18 Zorbax (4.6 X 150 mm) com um fluxo de velocidade de 1 ml/min. A temperatura foi ajustada para 30°C. A fase móvel consistia da combinação de A (água: ácido fórmico, 99.7:0.3 v/v) e B (metanol e ácido fórmico, 99.7:0.3 v/v).

Inicialmente 3,0 ml da amostra foram misturados a 4,5 ml de metanol (40:60%) usando sonicação por 60 minutos a temperatura ambiente. O solvente foi separado do sólido por centrifugação a 2500

rpm por 15 minutos. Então, 7,5 ml do extrato foi seco e redissolvido em 1 ml de metanol:água (60:40), obtendo-se um volume final de 1,1 ml aproximadamente. O extrato concentrado foi filtrado em cartucho SPE, nessa etapa lavou-se o extrato com 10 ml de água para retirar os açúcares. Os flavonóides absorvidos foram eluídos com 10 ml de metanol. Secou-se o extrato de metanol em rotaevaporador e e redissolveu-se em 1 ml de metanol: água (60:40%). Adicionou-se 0,1 ml de HCl (37%) e aqueceu-se a 85°C por duas horas . Adicionou-se 0,4 ml de metanol e sonicou-se por dez minutos. A solução foi filtrada e 50 µl foram injetados em HPLC.

O teor de açúcares redutores foi dosado segundo MILLER (1959). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

## 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, 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 1: Correlação entre a distância de compressão da mola utilizada com da 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

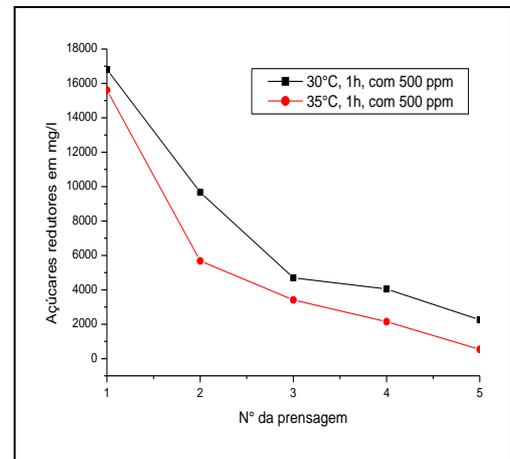


Figura 01- Quantidade de açúcares redutores em mg/l dos extratos obtidos nas temperaturas de 30 e 35 °C, macerado por uma hora com adição de 500 ppm de complexo enzimático pectinolítico.

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

(1)

Equação 1- Equação de correlação entre a distância de compressão da mola utilizada com a força exercida sobre o sistema da prensa Expeller.

A quantidade de açúcares redutores foi maior no extrato obtido à temperatura de 30°C, macerado por uma hora com adição de 500 ppm de enzimas pectinolíticas do que nos extratos obtidos à temperatura de 35°C nas mesmas condições. Isso se deve, principalmente, devido à hidrólise das ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 entre os resíduos de ácido galacturônico pelas enzimas pectinolíticas, que obiveram melhor desempenho na temperatura de 30°C (figura 01).

A quantidade de açúcares redutores nos extratos obtidos sem adição de complexo enzimático pectinolítico, macerados por uma hora, foi maior nos extratos obtidos à temperatura de 30°C do que nos extratos obtido à temperatura de 35°C nas mesmas condições. A presença de açúcares redutores nos extratos obtidos sem adição de complexo enzimático explica-se pela aderência na fibra de açúcares que restaram da extração do suco, glicose e frutose (figura 02).

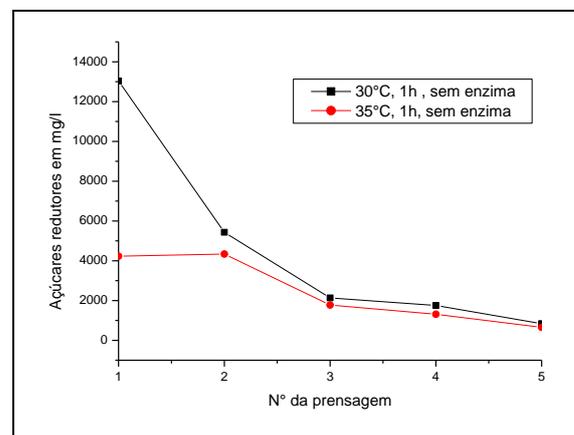




Figura 02- Quantidade de açúcares redutores em mg/l dos extratos obtidos nas temperaturas de 30 e 35 °C, macerado por uma hora sem adição complexo enzimático pectinolítico.

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.

Tabela 02- Teores de Miricetina, quercetina e kaempferol em extratos do bagaço do pedúnculo do caju obtido com e sem adição de enzimas (C/E= com enzimas e S/E= sem enzimas).

Extrato	Miricetina (mg/L)	Quercetina (mg/L)	Kaempferol (mg/L)
30°C,1h,C /E, 1° extração	0,07	0,26	0,03
30°C,1h,C /E, 5° extração	0,09	0,63	0,07
35°C,1h,C /E, 1° extração	0,77	2,32	0,18
35°C,1h,C /E, 5° extração	0,32	0,75	0,06
30°C,1h,S /E, 1° extração	0,75	2,42	0,18
30°C,1h,S /E, 5° extração	0,26	0,70	0,06

extração			
35°C,1h,S /E, 1° extração	0,58	1,40	0,11
35°C,1h,S /E, 5° extração	0,65	1,79	0,13

Os extratos obtidos nas temperaturas de 35°C, com adição de 500 ppm de complexo enzimático pectinolítico e a 30°C, sem adição de enzimas na primeira extração, macerados por uma hora apresentaram maiores teores de quercetina, kaempferol e miricetina, sendo a quercetina o flavonóide presente em maior quantidade (tabela 02).

O extrato obtido na temperatura de 30°C, na primeira extração sem adição de enzimas apresentou um teor de carotenóides nove vezes maior do que o obtido no mesmo extrato com adição de enzimas, apresentando um ganho percentual global de 831% em relação ao extrato sem enzimas.

Já o extrato obtido na temperatura de 35°C, com adição de 500 ppm de enzimas, apresentou, na primeira extração, um ganho percentual global de 220% em relação ao extrato obtido sem enzimas.

RIBANI (2006) estudando a presença de flavonóides em frutas nativas do Brasil, quantificou uma média de 23 mg/Kg de miricetina e 13 mg/Kg de quercetina em pedúnculo de caju, o que resulta em 36 mg/Kg de flavonóides totais na fruta. Corroborando com os resultados da autora, observou-se que o extrato do bagaço do



pedúnculo do caju também é rico nesses compostos antioxidantes, já que o primeiro extrato obtido com adição de 500 ppm de complexo enzimático pectinolítico, macerado por uma hora na temperatura de 35°C, apresentou um teor de 3,27 mg/Kg de flavonóides totais, aproximadamente 9% do total presente no pedúnculo.

## 4.0 CONCLUSÃO

Observou-se que a ação da enzima combinada com um aumento de 5°C na temperatura em que os experimentos foram conduzidos favoreceu a obtenção de compostos flavonóides, pois houve um ganho percentual global de 830% no experimento à temperatura de 35°C com enzimas em relação ao experimento conduzido na mesma temperatura sem enzimas.

## 5.0 NOMENCLATURA

Os símbolos utilizados neste trabalho foram os seguintes:

°C: graus Celsius

g: gramas

mg: miligramas

mg/K g: miligramas por quilograma

ml: mililitros

ml/min: mililitros por minuto

mm: milímetros

N: Newton

ppm: partes por milhão

v/v: concentração volúle/volume

µl: microlitros

## 6.0 REFERÊNCIAS

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

ABAS, F.; LAJIS, N.H.; ISRAF, D.A.; KHOZIRAH, S.; KALSOM, Y.U. Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. *Food Chemistry*, 2006; 95(4):566-573.

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.

COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources – review. *The Journal of Nutrition Biochemistry*, v.7, n.1, 1996;66-76.

BRITO, E. S.; ARAÚJO, M. C.P.; LIN, L. Z.; HARNLY, J. Determination of the flavonoids



components of cashew apple by LC-DAD-ESI/MS. *Food Chemistry*, n.105, 2007. p. 1112-1118.

FRANCIS, F.J. Analyses of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed.). *Anthocyanins as food colors*. New York: Academic Press, 1982. P.181-207.

FRANKE, A.A.; COONEY, R.; CUSTER, L.J.; MORDAN, L.J.; TANAKA, Y. Inhibition of neoplastic transformation and bioavailability of dietary flavonoid agents. In: Manthey JA, Buslig BS, editores. *Flavonoids in the living system*, New York: Plenum; 1998.

HUBER, L.S.; RODRIGUEZ -AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. *Alimen. Nut. Araraquara*, n.1, v.19, 2008. p.97-108.

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.

PELZER, L.E.; GUARDIA, T.; JUAREZ, O.A.; GUERREIRO, E. Acute and chronic anti-inflammatory effects of plant flavonoids. *IL Farmaco*, v. 53, 1998;421-4.

RIBANI, R.H. Compostos fenólicos em erva-mate e frutas. 2006. 138 f. *Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)*. Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade estadual de Campinas, São Paulo, 2006.