Dissertação

Efeito do processo combinado de enzimas e membranas na estabilização do suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale* L.)



Denise de Carvalho P. Campos

2001

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Efeito do processo combinado de enzimas e membranas na estabilização do suco de caju clarificado (*Anacardium occidentale* L.)

Denise de Carvalho P. Campos
Bióloga

Orientação: Sônia Couri

Co-orientação: Virgínia Martins da Matta

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de MESTRE em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica/RJ
Novembro, 2001

634.804573

Efeito do processo combinado de enzimas e membranas na estabilização do suco de caju clarificado (*Anacardium occidentale* L.)

Denise de Carvalho P. Campos

Aprovada em 17 / 12 / 2001

Banca Examinadora:

Dra. Virgínia Martins da Matta _____
(Presidente)

Profª. Dra. Selma Gomes Ferreira Leite _____
(Membro)

Dra. Lourdes M. Corrêa Cabral _____
(Membro)

Prof. Dr. Edmar das Mercês Penha _____
(Suplente)

Trata, pois, de descobrir o reino de Deus em ti mesmo, no teu coração; depois, procura implantá-lo em teu lar; depois, em tua rua; depois, no mundo. Não tenhas pressa. Confia e espera, vigia e ora. Não penses em fazer o mais, antes de fazer o menos. No universo, tudo é ordem e harmonia.

É pelo sentimento que o gérmen
de tudo que é bom e de tudo que é belo
cresce e frutifica.

Aos meus filhos Bruno, Bianca e Beatriz
pelos momentos prazerosos que têm me
proporcionado;

Ao meu querido esposo, Denilson, que mesmo
muitas vezes ausente, me deu apoio psicológico
e material para concluir este curso;

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Ao senhor Deus, pela benção da vida e presença em cada momento;

À EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de janeiro e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realização do curso;

À Dra. Sônia Couri pela adequada orientação;

À Dra. Virgínia Martins da Matta, pela orientação e amizade;

À CAPES pelo apoio financeiro durante a realização do curso;

À Dra. Marília Nuti - Chefe da Embrapa Agroindústria de Alimentos pelo apoio aos alunos do Curso de Pós Graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro;

À pesquisadora Rosemar Antoniassi por ter me incentivado a iniciar na área de pesquisa;

Aos assistentes de pesquisa do CTAA, Flávia, Jeane, José Carlos, Luis Fernando, Selma e Sérgio pela colaboração e amizade;

Aos funcionários da manutenção do CTAA, "Macaé", "Fagulha", "Merlin" pela ajuda sempre necessária nos reparos dos equipamentos;

À Angélica Santos da Escola de Química/UFRJ e a Daisy Wolkoff do DNA/UERJ,pelo auxílio na execução dos processos;

Ao Técnico Luis Carlos da Embrapa Agrobiologia pela prestimosidade na entrega do sangue para análise de taninos;

Ao professor Celso G. B. do Departamento de Matemática, da UFRRJ, pelo grande auxílio nas análises estatísticas das etapas dos processos;

Aos meus pais José Antônio e Joilma, que até hoje me ensinam a arte da vida;

À Marli Santiago de Souza e ao João Luiz Ramos Batista, pelo inestimável apoio na educação dos meus filhos durante a longa jornada de meu curso de mestrado;

À minha irmã Dayse, que muito me ajudou em todas as etapas deste curso e no curso da minha vida;

À minha irmã Wilma e meu cunhado Jorge, pela grande contribuição nas diversas fases deste estudo;

A minha irmã Suely e sobrinhas pela motivação no decorrer do curso;

Aos colegas de curso, em especial a Delma, Gesilene e Alessandro pela amizade sincera;

À Lúcia pelo companheirismo que foi sempre suporte e estímulo a realização deste trabalho e que contribuiu para selar entre nós uma inestimável amizade;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

Sumário

Lista de Quadros e Tabelas ix

Lista de Figuras xi

Resumo xv

Abstract xvi

I – INTRODUÇÃO 1

I.1 – OBJETIVOS 6

I.1.1 – Objetivo geral 6

I.1.2 – Objetivos específicos 6

II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 7

II.1 – CAJU 7

II.1.1 - Cajucultura 8

II.1.2 - Composição e valor nutricional do pseudofruto 11

II.1.3 - Utilizações do pseudofruto 14

II.1.4 - Suco integral de caju 15

II.1.5 - Obtenção da cajuína 15

II.2 – LIMITAÇÕES DO USO DO PSEUDOFRUTO 16

II.2.1 – Compostos fenólicos 17

II.2.1.1 - Taninos 18

II.2.2 – Alterações causadas pelo processamento 23

II.2.2.1 - Reações não enzimáticas 23

II.2.2.2 - Reações enzimáticas 24

II.2.2.3 - Alterações no sabor 26

II.3 – CLARIFICAÇÃO TRADICIONAL DE SUCOS DE FRUTAS 26

II.4 – ENZIMAS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS 27

II.4.1 – Situação da tecnologia enzimática no Brasil 29

II.4.2 - Enzimas no processamento de sucos de frutas 30

II.4.3 - Propriedades e utilizações da tanase 32

II.5 – PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS *36*

II.5.1 – Membranas de UF e MF **41**

II.5.1.1 – Vantagens da MF e UF sobre os métodos tradicionais de clarificação de sucos 43

II.5.1.2 – Limitações no uso de membranas 45

II.5.2 – Aplicações da tecnologia de membranas na indústria de sucos **48**

III – MATERIAL E MÉTODOS 52

III.1 – MATERIAL *52*

III.1.1 – Matéria prima **52**

III.1.2 – Enzimas **52**

III.2 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL *53*

III.2.1 – Tratamento enzimático **55**

III.2.2 – Microfiltração **56**

III.2.3 – Testes com a tanase comercial **58**

III.2.3.1 – Menores concentrações da enzima 58

III.2.3.2 – Delineamento experimental 58

III.2.3.3 – Maior concentração 58

III.2.4 – Experimentos com as enzimas CTAA **59**

III.2.5 - Vida de prateleira **60**

III.2.6 – Determinações analíticas **61**

III.2.6.1 - Determinação das atividades enzimáticas 61

III.2.6.2 - Determinação eletrométrica do pH 61

III.2.6.3- Acidez titulável 61

III.2.6.4 - Sólidos solúveis 61

III.2.6.5 – Ácido ascórbico 62

III.2.6.6 – Carotenóides 62

III.2.6.7 – Taninos totais 62

III.2.6.8 – Taninos condensados 63

III.2.6.9 – Presença de pectina 64

III.2.6.10 – Teor de polpa 64

III.2.6.11 – Turbidez 64

III.2.6.12 – Cor 64

III.2.6.13 –Análises microbiológicas 65
III.2.6.14 –Análise sensorial 65
IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO 69
IV.1 – CARACTERIZAÇÃO DAS ENZIMAS *69*
IV.2 – SUCO DE CAJU PROCESSADO SEM ENZIMA *70*
IV.3 – TESTES PRELIMINARES: MENORES CONCENTRAÇÕES DA ENZIMA TANASE *73*
IV.3.1 – Desempenho dos processos **79**
IV.4 – TESTES DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL *81*
IV.4.1 – Caracterização da polpa **81**
IV.4.2 – Características dos sucos clarificados **83**
IV.4.3 – Avaliação das etapas do processo de clarificação **90**
IV.4.4 – Desempenho dos processos **97**
IV.4.5 – Análise Sensorial **103**
IV.5 – PROCESSAMENTO COM A ENZIMA CTAA *104*
IV.6 – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRÊS PROCESSOS *106*
IV.7 – MAIORES CONCENTRAÇÕES DE ENZIMAS *111*
IV.8 – VIDA-DE-PRATELEIRA DO SUCO DE CAJU CLARIFICADO *120*
V – CONCLUSÕES 129
VI – BIBLIOGRAFIA 132

Lista de Quadros e Tabelas

Tabela II.1 – Composição físico-química do caju 12

Tabela II.2 – Valores médios das características físico-químicas do suco de caju 14

Quadro II.1 – Caracterização dos processos de separação com membranas 38

Tabela III.1 – Planejamento experimental com fatorial completo de 9 experimentos 59

Tabela IV.1 – Atividade enzimática das enzimas comerciais 69

Tabela IV.2 – Atividade enzimática das enzimas CTAA 70

Tabela IV.3 – Características da polpa, da alimentação e do suco clarificado do processamento sem a adição de enzimas 71

Tabela IV.4 – Análise de cor instrumental na polpa *in natura* sem centrifugação 73

Tabela IV.5 – Características físico-químicas do suco clarificado com enzima comercial em baixas concentrações 75

Tabela IV.6 – Características médias da polpa de caju original 82

Tabela IV.7 – Características do suco de caju clarificado com enzimas em todos os ensaios do delineamento experimental 83

Tabela IV.8 – Parâmetros do suco de caju clarificado obtidos pelo índice relativo 84

Tabela IV.9 – Valores médios (média ± erro padrão da estimativa[1]) dos parâmetros estudados nas diferentes etapas do processo 91

Tabela IV.10 – Valores médios da avaliação sensorial do suco de caju clarificado com diferentes concentrações de tanase 105

Tabela IV.11 – Caracterização da polpa e do suco de caju clarificado com a enzima CTAA 106

Tabela IV.12 – Taninos totais, condensados e hidrolisáveis nas fases do processamento com a enzima CTAA (0,1% v/v) 106

Tabela IV.13 – Características da polpa e do suco clarificado nos três ensaios de processo de clarificação do suco de caju 107

Tabela IV.14 – Resultados de luminosidade e turbidez nas etapas do processamento com 0,1% tanase CTAA, 0,1% tanase comercial e sem enzima 110

Tabela IV.15 – Resultados de polpa (P), polpa hidrolisada (A) e suco clarificado (C) das análises realizadas nos processamentos com maiores concentrações de tanase 113

Tabela IV.16 – Análise Microbiológica do suco clarificado de caju estocado por período de 60 dias à temperatura ambiente 121

Tabela IV.17 – Análise Microbiológica do suco clarificado de caju estocado por período de 60 dias à temperatura de refrigeração 121

Tabela IV.18 – Parâmetros físico-químicos do suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale* L.) durante os 60 dias de armazenamento sob refrigeração[1](±6°C) 123

Tabela IV.19 – Parâmetros físico-químicos do suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale* L.) durante os 60 dias de armazenamento em temperatura ambiente[1](±30°C) 124

Lista de Figuras

Figura II.1 – Frutos (castanhas) presos à extremidade dos pedúnculos 7

Figura II.2 – Cajueiro anão precoce 10

Figura II.3 – Esqueleto básico de um flavonóide 18

Figura II.4 – Componentes estruturais dos taninos hidrolisáveis 21

Figura II.5 – Estrutura química dos taninos condensados 22

Figura II.6 – Esquema das reações que causam escurecimento em frutas 25

Figura II.7 – Mercado externo brasileiro de enzimas industriais 30

Figura II.8 – Tamanho dos solutos que podem ser separados por tipo de membrana 39

Figura II.9 – Princípio de funcionamento da microfiltração tangencial 40

Figura II.10 – Custo de filtração em membrana versus filtração convencional com terra diatomácea 45

Figura II.11 – Esquema de uma membrana de fluxo tangencial com depósito de partículas na superfície da membrana 46

Figura III.1 – Fluxograma representativo do procedimento experimental de clarificação utilizando processo combinado enzimas/membranas 54

Figura III.2 – Adição da enzima no vaso multipropósito 55

Figura III.3 – Sistema de membrana da Koch utilizado para a microfiltração do suco de caju 56

Figura III.4 – Teste utilizado na análise sensorial para comparação do sabor característico do suco clarificado de caju com enzima tanase nas concentrações de 0,05%; 0,10% e 0,15% 54

Figura IV.1 –Taninos totais do suco de caju nos processamentos com menores concentrações de tanase comercial e no processamento sem enzima 77

Figura IV.2 –Taninos condensados do suco de caju nos processamentos com menores concentrações de tanase comercial e no processamento sem enzima 78

Figura IV.3 – Fluxo permeado do suco de caju dos processamentos com menores concentrações da enzima tanase comercial 80

Figura IV.4 – Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o pH do suco de caju clarificado 85

Figura IV.5 – Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a acidez do suco de caju clarificado 85

Figura IV.6 – Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o teor de sólidos solúveis do suco de caju clarificado 86

Figura IV.7 – Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o teor de vitamina C do suco de caju clarificado 86

Figura IV.8 – Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o teor de taninos totais do suco de caju clarificado 87

Figura IV.9 – Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o teor de taninos condensados do suco de caju clarificado 87

Figura IV.10 – Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a luminosidade do suco de caju clarificado 88

Figura IV.11 – Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a turbidez do suco de caju clarificado 88

Figura IV.12 - - Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a cor a HUNTER do suco de caju clarificado 89

Figura IV.13 - Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a cor b HUNTER do suco de caju clarificado 89

Figura IV.14 – Comportamento do teor de tanino total do suco de caju nas diferentes etapas de processamento dentro dos diferentes experimentos 94

Figura IV.15 - Índices relativos para taninos condensados do suco de caju em relação à polpa original (polpa = 1) nas diferentes etapas dos processamentos 94

Figura IV.16 – Fluxo permeado em função do tempo de processo para a microfiltração do suco de caju com e sem adição de enzima (C6 a C14 e C1, respectivamente) 97

Figura IV.17 - Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o fluxo permeado do suco de caju clarificado 99

Figura IV.18 – Diagrama de médias de fluxo permeado após estabilização observadas nos processos do delineamento experimental 100

Figura IV.19 – Fluxo permeado do suco de caju nos processamentos do delineamento experimental apenas com adição da enzima tanase e do ensaio sem enzima 101

Figura IV.20 – Teor de polpa do suco de caju nas fases de polpa *in natura* e polpa hidrolisada 102

Figura IV.21 – Taninos totais do suco de caju nos experimentos sem enzima, 0,1% tanase comercial e 0,1% tanase CTAA 108

Figura IV.22 – Taninos condensados do suco de caju nos experimentos sem enzima, 0,1% tanase comercial e 0,1% tanase CTAA 109

Figura IV.23 – Taninos hidrolisáveis do suco de caju nos experimentos sem enzima, 0,1% tanase comercial e 0,1% tanase CTAA 110

Figura IV.24 - – Fluxo permeado do suco de caju com a enzima CTAA (0,1%), com a enzima Quest (0,1%) e sem enzima, em função do tempo de processo 111

Figura IV.25 – Taninos totais do suco de caju em diferentes etapas do processo utilizando-se 0,3% de tanase CTAA e comercial (C17 e C18, respectivamente) e 0,25% tanase com 0,05% hidrolase, ambas do CTAA (C19), em comparação com o tratamento sem enzima (C1) 114

Figura IV.26 – Taninos condensados do suco de caju em diferentes etapas do processo utilizando-se 0,3% de tanase CTAA e comercial (C17 e C18, respectivamente) e 0,25% tanase com 0,05% hidrolase, ambas do CTAA (C19), em comparação com o tratamento sem enzima (C1) 115

Figura IV.27 – Taninos hidrolisáveis do suco de caju em diferentes etapas do processo utilizando-se 0,3% de tanase CTAA e comercial (C17 e

C18, respectivamente) e 0,25% tanase com 0,05% hidrolase, ambas do CTAA (C19), em comparação com o tratamento sem enzima (C1) 115

Figura IV.28 – Luminosidade do suco de caju nas diferentes fases do processo de clarificação 118

Figura IV.29 – Fluxo permeado do suco de caju nos processamentos com maiores concentrações de enzimas e sem enzima 119

Figura IV.30 – Teor de polpa do suco de caju nas fases do processo de clarificação com maiores concentrações da enzima tanase 120

RESUMO

O pseudofruto do cajueiro é ainda pouco explorado no comércio exterior. A ampliação deste mercado depende da melhoria tecnológica dos processos do seu aproveitamento, da redução dos teores de taninos e de conservantes utilizados. O desenvolvimento de uma tecnologia, onde o suco clarificado é mantido com alto teor de vitamina C, sais minerais, compostos aromáticos e boa qualidade microbiológica e sensorial é importante para atender as atuais exigências do mercado. O processo combinado enzima/membrana para a clarificação e esterilização de sucos é uma alternativa tecnicamente viável para os processos convencionais de clarificação. Foi estudado o efeito do processamento combinado enzima/ membrana sobre a polpa de caju. Foram utilizadas as enzimas Biopectinase CT, tanase CTAA, Biopectinase MB e Padrão CTAA. Foram feitos experimentos com a polpa de caju combinando as enzimas em diferentes concentrações, por 1 hora e em seguida, microfiltrando-os (0,3μm de tamanho de poro). A produtividade do processo foi avaliada pela determinação do fluxo permeado. Foram determinadas a qualidade microbiológica, conteúdo de ácido ascórbico, taninos totais e condensados, turbidez, intensidade de cor, acidez, pH e sólidos solúveis (°brix). A redução da turbidez do suco clarificado, obtida do processo de microfiltração foi satisfatória. No geral a perda do teor de vitamina C foi pequena, em torno de 10%, com uma média de 160mg/100g na polpa *in natura* e de 145mg/100g para o suco clarificado. O pH e o Brix° se mantiveram, com pequenas variações, durante todas as etapas do processo. A acidez média, expressa em ácido málico, da polpa *in natura* e do suco clarificado foi de 0,57g/100g e 0,45g/100g. Houve redução no teor de taninos após os tratamentos com as enzimas Biopectinase CT e tanase CTAA na concentração de 0,3% e na combinação de dois extratos enzimáticos tanase e hidrolase, ambos obtidos no CTAA. A tanase comercial teve efeito sobre os taninos hidrolisados enquanto que as enzimas CTAA, juntas, agiram sobre os dois tipos de taninos (condensado e hidrolisável). Durante o estudo da vida de prateleira, por 2 meses, o suco clarificado, sob refrigeração, apresentou uma boa estabilidade de suas características físico-químicas e esterilidade comercial. O trabalho foi importante para a avaliação de uma metodologia visando obter um produto com boas condições físico-químicas, sensoriais e microbiológica para posterior comercialização e exportação.

ABSTRACT

The pseudofruit of cashew, a native plant from the tropical region of the American Continent, has had a very limited export drive in Brazil. The growth of this market is depending on technological improvements of its utilization processes, the reduction of tannin and conservant levels. The development of a technology where the clear juice is obtained with a higher level of vitamin C, mineral salts, aromatic composition and a good microbiological and sensorial quality, is important to comply with the current demands of the market. The combined process enzyme/membrane for the clarification and sterilization of juices is an alternative technically viable for the conventional processes of clarification. The objective of this work has been to study the effect of the combined enzyme/membrane processing of the cashew pulp. The enzymes used were Biopectinases CT, tannase CTAA, Biopectinases MB and Standard CTAA. Experiments were made with the cashew pulp combining the enzymes in different concentrations, for 1 hour and microfiltred (0.3 mm pore size) afterwards. The process productivity was evaluated by the quantification of the permeated flow. Analysis were made to determine microbiological quality, ascorbic acid content, total and condensed tannin, cloudiness, color intensity, acidity, pH and soluble solids (°brix). The cloudiness obtained by the process of microfiltration was, in general, satisfactory. In general, the loss of vitamin C level was small, around 10%, with an average of 160 mg/100g in the single strengh pulp and of 145 mg/100g for the clear juice. The level of pH and Brix°, were maintained with small variations during all stages of the process. The average acidity, expressed in malic acid, in single strengh pulp and the clear juice was of 0.57g/100g e 0.45g/100g, respectively. There was a reduction of tannin after the treatment with the enzymes Biopectinases CT and tannase CTAA in 0.3% and in the union of two enzymatic extracts, tannase and hydrolasis, both obtained at CTAA. The commercial tannase had an effect on hydrolized tannin and the CTAA enzymes, together, had na action over the two kinds of tannin (condensed and hydrolysed). During the study of the shelf life for 2 months, the clear juice, under refrigeration, presented a good stability of its physico-chemical characteristics and the commercial sterilization. The study was, therefore, of great use for the evaluation of a methodology to obtain a product with good physico-chemical, sensorial and microbiological conditions for a future commercialization and export.

I – INTRODUÇÃO

Os sucos de frutas tropicais são muito apreciados no exterior em função de sua diversidade, sabor característico, bem como pelo seu alto conteúdo nutricional. O Brasil possui uma enorme variedade de frutas tropicais cujo potencial ainda não foi completamente explorado. Em anos recentes, tornou-se uma constante a descoberta de frutas com características nutricionais importantes (ROING *et al.*, 1993).

Os avanços tecnológicos têm contribuído para melhorar a qualidade dos sucos de frutas industrializados, tornando possível o fornecimento de sucos exóticos, elaborados com frutas tropicais, para os novos consumidores na Europa e América do Norte (M.I.C., 1996/98). Isto mostra que produtos considerados apenas como exóticos, há poucos anos atrás, estão ganhando espaço cada vez maior no mercado. Neste segmento, encontram-se os sucos integrais, os clarificados, as bebidas gaseificadas, os sucos concentrados e os sucos naturais desidratados (STACK, 1995).

Na década de oitenta, os Estados Unidos foram o maior importador mundial de sucos de frutas e hortaliças, sua quota estava em torno de 23% do total mundial , ou seja, 2,8 bilhões de litros, seguido pela Alemanha e Holanda (KORTBECH, 1991). Em todo o mundo, o consumo de sucos de frutas tropicais teve um crescimento superior a 47%, em termos de volume, no período de 1995 a 1999 (FAO, 90/98).

O potencial para o desenvolvimento contínuo de novos produtos, a partir de sucos de frutas, parece, portanto, estar assegurado para o fabricante de sucos, pois a população cada vez mais se conscientiza dos benefícios dos mesmos à saúde (FAIGH, 1995).

De acordo com a *Food and Agriculture Organization* – (FAO, 1997), o mercado mundial de bebidas à base de frutas está em fase de expansão. Dados estatísticos mostram que bebidas à base de frutas compreendem um dos setores com crescimento mais rápido em todo o mercado de bebidas, gerando um particular interesse de produtores e processadores de frutas para que a demanda seja incentivada. Falta ao Brasil, um maior investimento para divulgar e apontar as vantagens e qualidades da fruta brasileira frente aos principais importadores (ASTN, 2001).

Segundo TRESSLER & JOSLYN (1971), o Brasil conta com uma série de vantagens inexistentes em outros países, tais como: vastos campos apropriados para a agricultura, clima tropical, extensa mão-de-obra e tecnologia avançada no processamento de frutas. A exigência de maior qualidade pelos mercados importadores seria o fator determinante para a aceitabilidade do produto.

Com a agregação dos países do Mercosul, a participação no volume exportado de frutas tende a crescer, pois são reduzidas as tarifas alfandegárias e as barreiras de fronteira (FAO, 1997). Referente a isto, dados mais atuais mostram que o Brasil comercializa apenas cerca de 18% das frutas que produz (AFONSO HAMM, 2001).

Nestes últimos anos também tem crescido a demanda por sucos cristalinos, para sua utilização em conservas vegetais. Para atender a este mercado de consumo surgiram novas técnicas de filtragem e conservação, que estão revolucionando este campo (VICENTE *et al.*, 1996).

A clarificação de sucos tem por objetivo a remoção da pectina, de fragmentos celulares do tecido com polpa e de componentes insolúveis, tais como proteínas, lipídios e alguns fenóis (FAIGH, 1995). Esse processo elimina a turbidez nos sucos processados e, uma vez límpidos, poderão ser matéria-prima de alta qualidade, podendo ser utilizados na forma de suco simples ou misturados (*blends*) para a fabricação de produtos como "*coolers*", vinhos, refrigerantes e etc. Contudo, é sabido que grande parte dos sucos de frutas tropicais do Nordeste do Brasil são de suco polposo e que nossa indústria não tem encontrado facilidade de introduzir tal produto no mercado externo (MEDINA *et al.*, 1978).

No Brasil, o suco de caju (*Anacardium occidentale* L.) se constitui em um dos mais difundidos e, segundo BRACCO (1986), a industrialização do pedúnculo do caju tem grande potencial no mercado nacional e internacional. O pedúnculo do cajueiro é consumido, não só pelas suas qualidades sensoriais, mas também pelo seu alto valor nutritivo, relacionado principalmente com o teor de vitamina C. Inúmeros produtos podem ser obtidos a partir do beneficiamento do pedúnculo, destacando-se entre eles, o suco concentrado, o refrigerante gaseificado, a cajuína, as bebidas fermentadas e os diversos tipos de doces. Entretanto, apenas o Brasil possui tecnologia, experiência e hábito de consumo do pedúnculo e dos

seus subprodutos, tornando-se um desafio a busca de novos mercados (PIMENTEL, 1992).

A produção nacional de pedúnculos de caju foi estimada em 1.670.000 toneladas, representando quase a totalidade da produção da América Latina (EMBRAPA, 2001). Estima-se que o aproveitamento do pedúnculo, atualmente, esteja em torno de 12%, sendo o segmento do suco integral o mais representativo do processamento industrial desta matéria-prima. O baixo aproveitamento deste poderia ser explicado pelo desperdício no período de safra, pois esta é principalmente voltada para a coleta da castanha (PAIVA *et al.*, 2000).

De acordo com PARENTE *et al.* (1991), as exportações de suco de caju são pouco representativas e bastante irregulares, evidenciando dificuldades de sua consolidação no mercado externo, sendo a adstringência do suco e o uso de conservantes os fatores que limitam a sua aceitação no mercado externo.

Em concordância com PARENTE *et al.* (1991), PAIVA *et al.* (2000) também afirmam que um dos maiores obstáculos contra a expansão do mercado é, sem dúvida, a adstringência ou "ranço", devido ao alto teor de taninos.

Existem ainda alguns problemas de natureza tecnológica, principalmente no que se refere ao escurecimento, à perda de vitamina C e à sedimentação da parte polposa durante a armazenagem (BRACCO, 1986).

A qualidade microbiológica dos sucos é, em geral, mantida através da sua pasteurização e da incorporação de aditivos químicos. O tratamento térmico pode implicar tanto na mudança do aroma e sabor do suco, quanto na qualidade

nutricional. O uso do calor representa ainda um maior custo energético para os processos. A utilização de processos com membranas, seja para esterilização, clarificação ou concentração de sucos de frutas, é uma alternativa aos processos térmicos, pois como não envolvem mudança de fase, não utilizam calor, afetando menos as características sensoriais e nutricionais dos produtos (CABRAL, 1999).

A Embrapa Agroindústria de Alimentos, nos últimos anos, tem atuado nas áreas de produção de enzimas e processos com membranas. As enzimas produzidas tem sido aplicadas no desenvolvimento de processos não convencionais para extração de óleos vegetais e de polpas de frutas. O atual projeto do Laboratório de Processos Biotecnológicos tem como objetivo a produção e uso de enzimas hidrolíticas para a indústria de alimentos. Uma das enzimas estudadas é a tanase. A enzima tanase hidrolisa os taninos e tem, portanto, aplicação na clarificação e estabilização dos sucos.

De acordo com o estudo de pré-viabilidade econômica, o investimento inicial para obtenção do suco de caju clarificado com enzima é menor do que o do suco clarificado com gelatina. Isto ocorre, devido à necessidade de uma etapa adicional de filtragem. Entretanto, o custo final de produção do suco de caju clarificado com gelatina é menor (US$1,41/L) que o do suco clarificado com enzima (US$ 1,55/L). A grande quantidade de enzima utilizada na etapa de clarificação torna mais dispendioso o processo (EMBRAPA, 2000).

Desta forma, dando continuidade ao estudo realizado por Menezes (1999) que utilizou somente enzima tanase para a hidrolise de taninos do suco de caju,

esta tese foi desenvolvida com o principal objetivo de reduzir a quantidade de enzima utilizada, associando o tratamento enzimático com a microfiltração.

I.1 – OBJETIVOS

I.1.1 – Objetivo geral

Avaliar o efeito da aplicação da enzima tanase comercial e da produzida pela Embrapa Agroindústria de Alimentos associada à microfiltração na estabilidade do suco de caju.

I.1.2 – Objetivos específicos

- Avaliar a possibilidade de redução da quantidade de enzima recomendada pelo fabricante para a diminuição do teor de taninos;
- Avaliar as etapas do processo quanto às características do suco;
- Comparar os extratos enzimáticos de tanase comercial e do CTAA quanto ao desempenho dos mesmos no processo de clarificação do suco de caju;
- Comparar os sucos clarificados obtidos pela adição de diferentes extratos enzimáticos com o suco clarificado por microfiltração sem o uso da enzima;
- Avaliar a qualidade do suco clarificado sob refrigeração e à temperatura ambiente durante o período proposto para a vida de prateleira.

II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1 – CAJU

O cajueiro pertence à espécie *Anacardium occidentale*, L. (cajueiro comum). O nome original tupi da planta é "acaiu" ou "acâi-ou" que significa pomo amarelo ou noz que produz, que vertido ao português, transformou-se em caju e foi adotado, com as devidas adaptações ortográficas, em quase todos os idiomas falados nos países onde é cultivado (LIMA, 1988, *BANCO DO BRASIL*, 2001).

O fruto (a castanha) é um aquênio reniforme preso à extremidade de um pedicelo floral hipertrofiado (Figura II.1), comumente chamado de maçã do cajueiro, pseudofruto ou pedúnculo e completa seu desenvolvimento entre seis a oito semanas, após a polinização (JOHNSON, 1974). Em peso, o caju é composto por 10% de castanha e 90% de pedúnculo (PAIVA *et al.*, 2000).

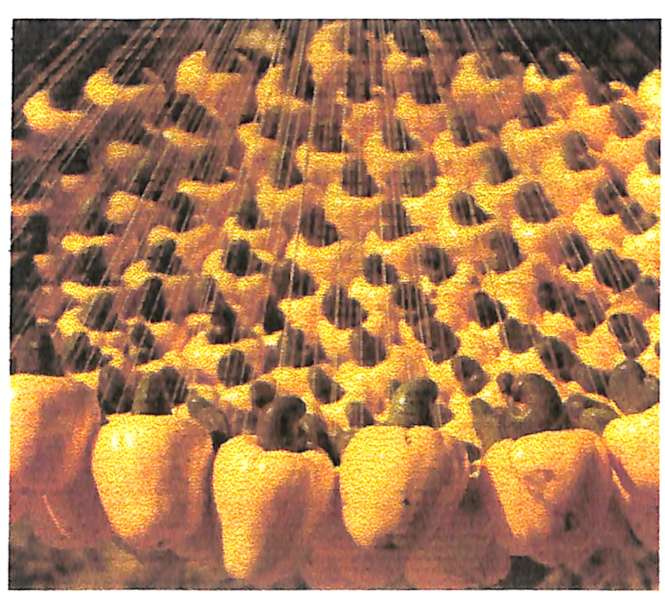


Figura II.1. Frutos (castanhas) presos à extremidade dos pedúnculos
Fonte: USP (1998)

II.1.1 - Cajucultura

Da castanha são obtidos produtos de grande importância econômica: a amêndoa, que é o principal produto de utilização do cajueiro, considerada uma das nozes mais apreciadas no mercado externo e interno, o líquido da casca da castanha (LCC), fonte de fenol, utilizada como matéria-prima nas indústrias de plástico, vernizes, isolantes, inseticidas, tintas e lubrificantes, e o tanino, que é obtido da película da amêndoa, sendo utilizado com grande aplicação na indústria química e farmacêutica (SOARES, 1986; PAIVA *et al.*, 2000).

Outro produto potencial é a goma do cajueiro, obtida da exsudação natural ou através de incisões efetuadas nos troncos e ramos da planta. Sua extração se constitui em mais uma possível fonte de renda para o produtor. Apresenta-se como poderosa cola de madeira, também tem ação fungicida e inseticida. Há pesquisas para seu emprego na fabricação de tintas e vernizes (BANDEIRA, 1991).

O cajueiro é cultivado em 26 países, embora em termos de importância sua exploração restrinja-se à Índia, Brasil, Vietnã, Tanzânia, Indonésia, Moçambique e Guiné-Bissau. Em conjunto, estes países foram responsáveis por 81% da produção mundial média, no período de 1995 a 1997. A produção brasileira, em relação à mundial, é de 19% (OLIVEIRA *et al.*, 1998).

Atualmente, a Índia é o principal produtor e exportador mundial da castanha de caju e do óleo da castanha, com altos índices de rentabilidade, e o Brasil é o segundo maior produtor (EMBRAPA, 2001).

A região Nordeste responde por mais de 99% da produção nacional, onde as maiores concentrações localizam-se principalmente nas faixas litorâneas de transição do ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (IBGE, 1996), proporcionando a geração de grande número de empregos (PAIVA *et al.*, 1998).

O Assessor Especial para a Fruticultura do Ministério da Agricultura e Abastecimento, Afonso Hamm, citou que "O Brasil é hoje o segundo maior produtor de frutas do mundo perdendo apenas para a China, mas tem uma participação muito modesta no mercado exportador, principalmente no que se refere ao mercado de frutas *in natura" (BANCO DO BRASIL, 2001).* Em relação ao mercado de sucos, este setor promoveu exportações da ordem de US$ 15,6 bilhões no ano de 1997, somente com produtos da região Nordeste (ASTN, 2001). Porém, as exportações de suco de caju ainda são pouco representativas e bastante irregulares, evidenciando dificuldades de sua consolidação no mercado externo (PARENTE *et al.*, 1991).

Todos os anos são jogados fora 1,6 milhão de toneladas de pedúnculo, o equivalente a 1,5 milhão de toneladas de suco de caju. Este fato despertou o interesse de empresas americanas que pretendem se instalar no Nordeste brasileiro para se dedicar à industrialização do pedúnculo (EMBRAPA, 1999).

O mercado interno consome em torno de 40 mil toneladas de suco, enquanto a ampliação do mercado exportador está na dependência da melhoria tecnológica dos processos de concentração e clarificação, da redução dos teores de taninos, da diminuição do uso de conservantes e de uma agressiva política

mercadológica. O sistema de colheita, após a queda do fruto, e a alta perecibilidade, junto à inexistência de métodos econômicos de preservação da matéria-prima são fatores que devem ser considerados como impeditivos de um maior aproveitamento do pedúnculo (CAVALCANTI, 1998; PAIVA *et al.*, 2000).

Em meados dos anos 80, o Brasil iniciou o plantio de clones de cajueiro anão-precoce (*A. occidentale* L. var. *Nanum* - Figura II.2), que veio permitir o cultivo nos moldes da fruticultura moderna. A produtividade passou de 220 kg/ha, dos plantios tradicionais, para 1.300 kg/ha (OLIVEIRA *et al.*, 1998). Tais clones têm sido levados do Brasil e plantados em vários países, futuros competidores, inclusive Austrália (LOPES NETO, 1997).



Figura II.2. Cajueiro anão precoce
Fonte: EMBRAPA (2001)

O manejo da cultura do cajueiro não demanda grande utilização de insumos agrícolas (agrotóxicos e fertilizantes), tendo um baixo custo de manutenção (U$ 900,00/ha), mesmo sob regime de irrigação, gerando uma receita anual de U$20.000,00/ha (MAA, 1998). Isto se deve à tolerância dessa espécie à baixa

fertilidade do solo, às pragas e às doenças, e à menor exigência hídrica, em comparação com outras culturas (MOURA, 1998).

A colheita concentra-se no segundo semestre, principalmente nos meses de setembro a novembro. No caso do cajueiro anão esse período alcança sete meses, em regime de sequeiro, e durante quase todo o ano, quando utiliza-se o sistema de irrigação (OLIVEIRA *et al.*, 1998).

Pesquisas conduzidas pela Embrapa Agroindústria Tropical têm apresentado uma produção de 4.601kg/ha (4° ano de cultivo), sob condição irrigada (OLIVEIRA *et al.*, 1998). Segundo PAULA PESSOA *et al.* (1994), esta produtividade supera as alternativas de investimento ofertadas pelo mercado financeiro e pelo setor agropecuário nordestino.

II.1.2 - Composição e valor nutricional do pseudofruto

O caju é, entre as frutas comestíveis cultivadas, uma das que apresenta maior teor de vitamina C (ácido ascórbico). Possui também vitamina B (tiamina e riboflavina), e PP (niacina). Quando maduros, os pseudofrutos são recomendados pelo valor alimentício, utilidades medicinais como a cura do escorbuto, eczemas e reumatismo (BALBACH & BOARIM, 1992), além da excelência de seu sabor (DUBUC, 1995). Desta forma, a presença no suco de caju de vitaminas, sais minerais, carboidratos e ácidos orgânicos, o torna um alimento importante do ponto de vista dietético (LIMA , 1988).

LIMA (1988) ainda descreve que, apesar do baixo teor de proteínas, o suco de caju contém 14 diferentes aminoácidos, aparecendo com maior abundância alanina, valina e leucina, seguidos de serina, ácido glutâmico, prolina e triptofano.

Na Tabela II.1 são apresentados alguns dados de composição físico-química do caju obtidos por SILVA (1998_a), onde observa-se que há uma ampla variação no teor de ácido ascórbico.

Tabela II.1 – Composição físico-química do caju

Determinações	Teor (em 100g de amostra)
pH	3,5 a 4,6
Sólidos solúveis (ºBrix)	9,8 a 14
Acidez (g ácido málico)	0,22 – 0,52
Vitamina C	139 a 287 mg
Açúcares Totais	7,7 a 13,2
Carotenóides totais	450 UI
Cálcio	4,2 mg
Fósforo (P_2O_5)	12,3 a 16,7 mg

Fonte: SILVA (1998_a)

SOARES & MAIA (1970), em determinações comparativas de ácido ascórbico em várias frutas, comprovaram que um mesmo volume de suco de caju contém de 4 a 5 vezes mais vitamina C do que o suco de laranja, fruta esta considerada como uma rica fonte dessa vitamina.

Em trabalho de MOURA FÉ *et al.* (1972), além da riqueza em vitamina C (197mg/100mL), o pedúnculo do caju de coloração vermelha apresentou teores consideráveis de açúcares (8,38%), taninos (0,40%) e minerais, destacando-se entre estes, o cálcio e o fósforo (14,7 e 32,5mg/100g, respectivamente). Segundo SOARES (1986), os teores de cálcio, fósforo e ferro dependem do estágio de maturação da fruta, variedade, clima e solo, dentre outros.

PRICE *et al.* (1975) estudaram diferentes tipos de caju, classificando-os como doce, azedo e adstringente e, dentre as diferenças relevantes observadas, notaram o aumento do teor de sólidos solúveis no caju doce, de acidez no caju azedo e de taninos no caju adstringente (Tabela II.2). De acordo com MENEZES & ALVES (1994), o teor de taninos em caju está relacionado com a região de cultivo, estádio de maturação e variedade.

PRICE *et al.* (1975) também constataram que o ácido málico é o ácido orgânico predominante no suco de caju e que a glicose é o principal açúcar presente no pedúnculo do caju, seguido pela frutose.

MACIEL *et al.* (1986) avaliaram os sucos frescos e processados de um cultivar de caju brasileiro, para determinar os componentes voláteis do caju. Eles consideraram que vários ésteres contribuem para a característica frutal-doce, enquanto que aos ácidos voláteis atribui-se a característica pungente-acre. A avaliação olfativa na saída da coluna cromatográfica demonstrou que nenhum componente individual é responsável pelo aroma do suco.

Tabela II.2 - Valores médios das características físico-químicas do suco de caju.

Determinação	Suco doce	Suco azedo	Suco adstringente
Sólidos solúveis (ºBrix)	15.2	13,2	12,8
pH	4,3	3,6	4,2
Acidez (% ác. málico)	0,48	1,30	0,58
Proteína (g/100mL)	1,04	0,74	0,88
Acido ascórbico (mg/100mL)	270	292	294
Tanino (g/100mL)	0,22	0,28	0,58
Açúcar redutor (g/100mL)	11,7	8,8	10,2
Ácido málico (g/100mL)	0,36	1,28	0,49
Ácido cítrico (g/100mL)	0,10	0,01	0,03
Frutose (g/100mL)	3,9	2,3	3,4
Glicose (g/100mL)	7,0	7,3	7,2
Açúcares totais (g/100mL)	10,9	9,6	10,6

Fonte: PRICE *et al.* (1975)

II.1.3 - Utilizações do pseudofruto

Entre os principais produtos obtidos das frações líquida e fibrosa do pedúnculo do caju são citados: suco integral (cajuada), cajuína, refrigerante, sorvete, licor, vinho, vinagre, aguardente, "mel de caju", geléia, caju em calda, caju cristalizado, doce em massa, rapadura, passa de caju ou caju-ameixa, condimentos, farinhas e ração (LIMA, 1988; PAIVA *et al.*, 2000).

Na agroindústria do pedúnculo de caju a tecnologia existente atualmente é destinada, principalmente, à produção de suco turvo integral (10 a 12°Brix) e, secundariamente, à elaboração do suco clarificado ou cajuína (TELLES, 1988).

II.1.4 - Suco integral de caju

O suco integral é extraído aproveitando a sua parte sólida mediante processamento tecnológico adequado, não gaseificado, não fermentado, de cor, sabor e aroma característicos, submetido a tratamento térmico, que assegura a sua apresentação e conservação até o momento do consumo. Após a extração do suco, procede-se ao ajuste de certas características físico-químicas (pH, teor de polpa, etc.), mediante a incorporação de acidulantes e preservativos, sendo os mais comuns o benzoato de sódio e o metabissulfito de sódio. A preservação exige ação mista: aditivo + tratamento térmico. O tratamento térmico recomendado para suco é a pasteurização, efetuada com a finalidade de manter a estabilização do suco, do ponto de vista microbiológico e enzimático (PAIVA *et al.*, 2000).

II.1.5 - Obtenção da cajuína

Cajuína é uma bebida elaborada a partir do suco de caju clarificado. A clarificação do suco é feita pela adição de agentes clarificantes tais como gelatina ou pectina, seguida por etapas de floculação e filtração ou centrifugação, obtendo-se o suco límpido. Esse suco clarificado, após o acondicionamento em garrafas, é

submetido a um tratamento térmico a 100°C durante 45 minutos para eliminar microrganismos (LIMA, 1988) ou em banho-maria de 60 a 100 minutos, obtendo-se a cor amarelo-âmbar característica da cajuína (PAIVA *et al.*, 2000).

De acordo com LIMA (1988), deve-se ressaltar que existem dificuldades na filtração do suco de caju devido à reação tanino-gelatina que resulta num "precipitado caseoso" e na formação de uma "fase coloidal". PAIVA *et al.* (2000) recomendam a filtração do suco após a "colagem" (precipitação do tanino), em filtros de tecido de algodão instalados em série de 3 a 5 filtros superpostos, passando-se o suco nessas redes uma ou mais vezes, até obtê-lo com aspecto cristalino.

II.2 – LIMITAÇÕES DO USO DO PSEUDOFRUTO

A composição do caju é bastante complexa e, se por um lado, a presença de vitaminas, taninos, sais minerais, ácidos orgânicos e carboidratos o torna um alimento importante, por outro, é responsável por sua alta perecibilidade, exigindo cuidados especiais para estocagem, transporte, limpeza e processamento (COSTA, 1999). Por esse motivo, a conservação do suco de caju integral só é possível mediante a adição de dióxido de enxofre em concentrações em torno de 500 a 600 ppm, valor acima das leis internacionais (FDA, 1988; CCE, 1995).

De acordo com PIMENTEL (1992), algumas causas do baixo consumo de suco de caju a nível internacional, apontadas pelos exportadores, são a utilização

de conservantes para manter as propriedades sensoriais e a elevada adstringência do suco, dada pelos compostos fenólicos presentes no mesmo. Existe, portanto, a necessidade de aperfeiçoar os processos de redução da adstringência, clarificação e concentração dos sucos, visando o mercado externo, que não adquire suco com conservantes acima dos padrões estabelecidos, bem como aumentar o interesse do mercado interno (EMBRAPA, 1991).

II.2.1 – Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos estão largamente distribuídos em plantas e estão presentes principalmente em frutos, pertencendo ao grupo dos metabólitos secundários (VAN SUMERE, 1989)

Quimicamente, os fenóis abrangem uma ampla variedade de substâncias químicas que possuem um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas. As substâncias fenólicas geralmente presentes nos vegetais são: ácidos fenólicos, cumarinas, ligninas, estilbenos, flavonóides e taninos (SHAHIDI & NACZK, 1995).

O grupo dos flavonóides inclui o maior e mais diversificado grupo de fenóis vegetais (CANNAS, 1999). Os flavonóides ocorrem mais freqüentemente, em frutas, nas suas formas oligômeras ou poliméricas ditas proantocianidinas ou taninos condensados (DE PASCUAL *et al.*, 1998). Sua estrutura (Figura II.3) apresenta um anel (anel A) derivado de três unidades acetato, enquanto a outra unidade (anel B) e os três átomos de carbono do anel central são derivados do ácido cinâmico. Os flavonóides são classificados de acordo com o grau de oxidação do anel C.

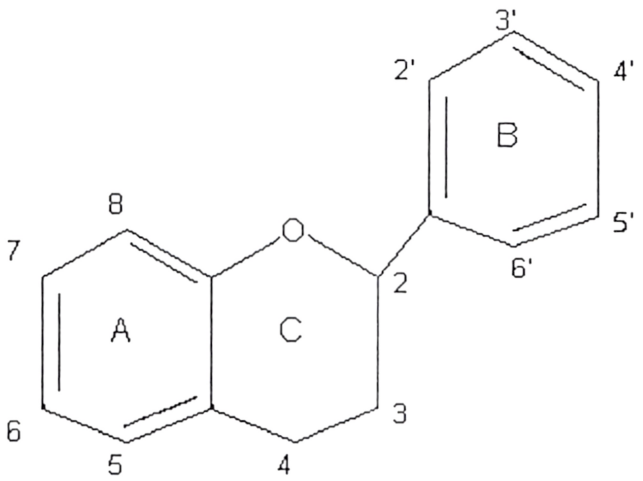


Figura II.3 – Esqueleto básico de um flavonóide
Fonte: SHAHIDI & NACZK, 1995.

Apesar das propriedades terapêuticas de alguns flavonóides estarem bem documentadas na literatura, tendo como principal propriedade fisiológica a atuação como potentes antioxidantes, não há evidências do seu papel nutricional na dieta humana (VAN SUMERE, 1989).

II.2.1.1 - Taninos

Os taninos são glicosídios, não cristalinos, constituídos por compostos fenólicos. São compostos secundários encontrados em plantas, como parte de sua estratégia de defesa contra microorganismos (LEKHA & LONSANE, 1997). Apresentam como características cores que podem variar do branco ao marrom-claro, e que formam, com água, soluções coloidais de sabor adstringente. Possuem peso molecular relativamente elevado (500 a 20.000 Daltons) e formam complexos razoavelmente fortes com proteínas e outras moléculas (ex.: amido,

celulose e minerais), sob condições específicas de concentração e pH (DESHPANDE & CHERYAN, 1985).

Na planta, representam um mecanismo de defesa contra doenças, herbívoros e condições ambientais hostis (HAGERMAN, 1987). Com a maturação dos frutos, perdem-se grandes quantidades de taninos (BOBBIO & BOBBIO, 1995).

Os taninos impedem o crescimento de fungos, bactérias e vírus, agindo como um mecanismo de defesa natural dos vegetais contra infecções microbianas. Portanto, teoricamente, podem servir como reguladores naturais da população microbiana em diferentes hábitats, incluindo o trato gastrointestinal humano (SCALBERT, 1991).

Geralmente, o tanino induz a uma resposta negativa quando consumido em grandes quantidades, tais como sabor desagradável, adstringência, além de atuar como um fator antinutricional (REED, 1995). Pode atuar na mucosa intestinal, ocasionando alterações histológicas (ORTIZ *et al.*, 1994), e se complexar com enzimas que estão envolvidas na digestão de nutrientes (CARMONA, 1994). Contudo, a presença de pequenas quantidades de taninos em frutos confere a esses produtos uma qualidade desejável, que é dar "corpo" (BOBBIO & BOBBIO,1995).

Quimicamente os taninos são classificados em dois grupos principais, os hidrolisáveis e as proantocianidinas (taninos condensados), cujas estruturas são muito diferentes entre si, embora ambos tenham moléculas poli-hidroxifenóis ou

celulose e minerais), sob condições específicas de concentração e pH (DESHPANDE & CHERYAN, 1985).

Na planta, representam um mecanismo de defesa contra doenças, herbívoros e condições ambientais hostis (HAGERMAN, 1987). Com a maturação dos frutos, perdem-se grandes quantidades de taninos (BOBBIO & BOBBIO, 1995).

Os taninos impedem o crescimento de fungos, bactérias e vírus, agindo como um mecanismo de defesa natural dos vegetais contra infecções microbianas. Portanto, teoricamente, podem servir como reguladores naturais da população microbiana em diferentes hábitats, incluindo o trato gastrointestinal humano (SCALBERT, 1991).

Geralmente, o tanino induz a uma resposta negativa quando consumido em grandes quantidades, tais como sabor desagradável, adstringência, além de atuar como um fator antinutricional (REED, 1995). Pode atuar na mucosa intestinal, ocasionando alterações histológicas (ORTIZ *et al.*, 1994), e se complexar com enzimas que estão envolvidas na digestão de nutrientes (CARMONA, 1994). Contudo, a presença de pequenas quantidades de taninos em frutos confere a esses produtos uma qualidade desejável, que é dar "corpo" (BOBBIO & BOBBIO,1995).

Quimicamente os taninos são classificados em dois grupos principais, os hidrolisáveis e as proantocianidinas (taninos condensados), cujas estruturas são muito diferentes entre si, embora ambos tenham moléculas poli-hidroxifenóis ou

seus derivados. Segundo HADDOCK *et al.* (1982), o peso molecular dos taninos hidrolisáveis varia de 500 a mais de 2.800 Daltons. A média de peso molecular das proantocianidinas isoladas das frutas varia entre 2.000 a 4.000 Daltons. A adstringência pode ser ocasionada por taninos condensados, hidrolisáveis ou pelos dois em conjunto (BATE-SMITH, 1977).

Segundo MENEZES & ALVES (1994), a adstringência dos frutos é devido à presença de taninos de peso molecular intermediário, porém, durante o amadurecimento, essas substâncias são reduzidas por processos de complexação e polimerização.

Na Figura II.4 observa-se que os taninos hidrolisáveis contêm, em sua molécula, polímeros derivados dos ácidos gálico e elágico, sendo chamados de galitaninos e elagitaninos, respectivamente. Sob hidrólise por ácidos, bases ou certas enzimas, os galitaninos formam glicose e ácido gálico e os elagitaninos, por possuírem um ou mais resíduo hidroxifenol ligado à glicose como diéster em adição ao ácido gálico, sofrem lactonização para produzir ácido elágico (BOBBIO & BOBBIO, 1995; CHUNG *et al.*, 1998). Um dos principais representantes da classe dos galitaninos é o ácido tânico.

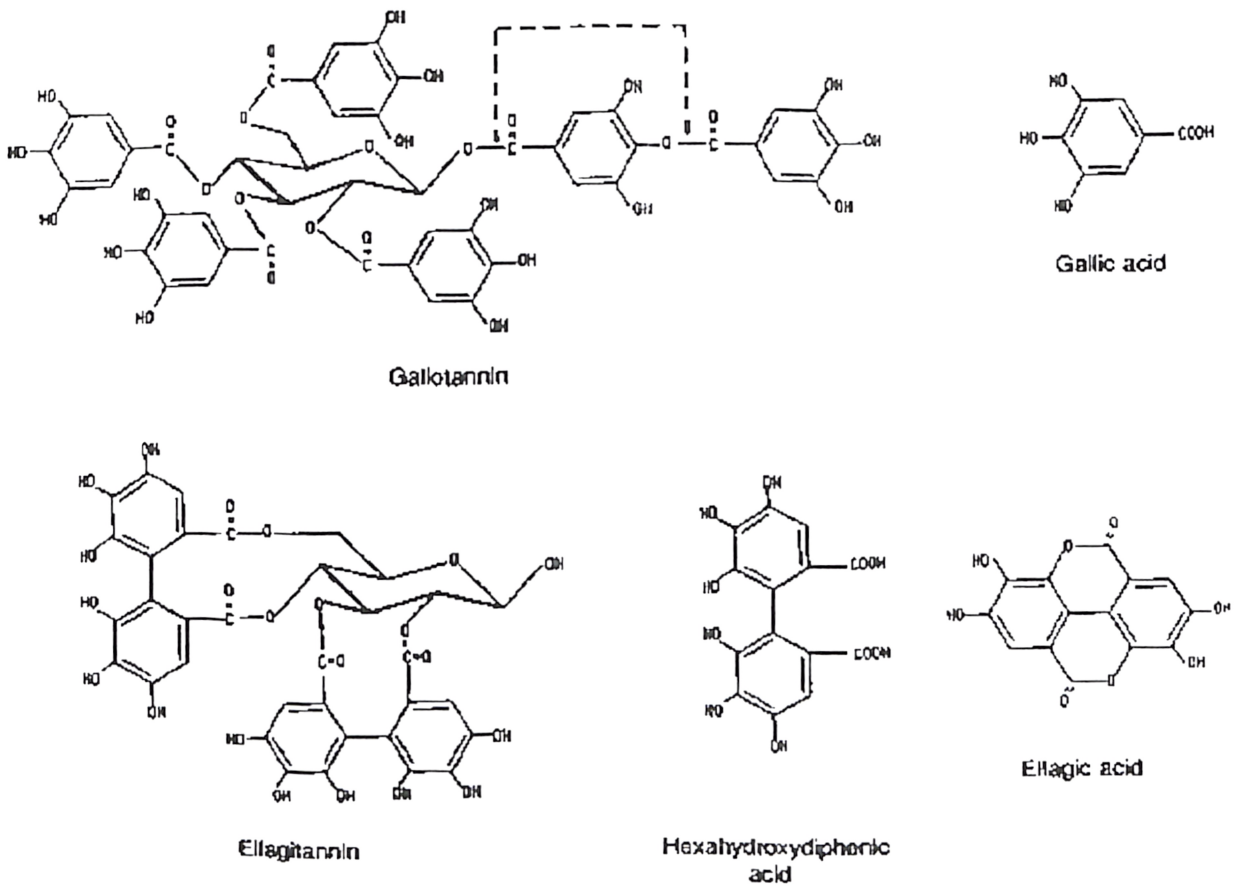


Figura II.4 – Componentes estruturais dos taninos hidrolisáveis.

Os taninos condensados encontram-se em maior quantidade e são de maior importância em alimentos. Estes taninos são mais encontrados nas frutas do que os taninos hidrolisáveis e estão localizados principalmente na parede celular e na casca (SHAHiDI & NACZK, 1995). Têm estrutura semelhante à dos flavonóides e, por aquecimento com ácidos diluídos, resultam na formação de precipitados amorfos insolúveis em água, de cor variando do vermelho ao marrom. Esses precipitados são denominados flobafenos, razão pela qual estes compostos às vezes são conhecidos como flobataninos (BOBBIO & BOBBIO, 1995).

De acordo com SHAHIDI (1995), a estrutura química básica dos taninos condensados (Figura II.5) é relacionada à estrutura da catequina, possuindo um núcleo benzênico semelhante ao floroglucinol e outro semelhante ao catecol. As unidades consecutivas dos taninos condensados são unidas por ligação interflavonóide. Geralmente as unidades monoméricas são combinadas na forma de polímeros lineares.

Proantocianidina

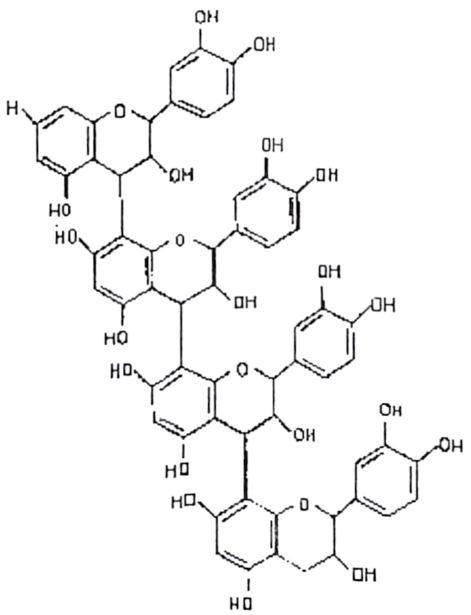


Figura II.5 – Estrutura química dos taninos condensados
Fonte: DUKE (1992).

II.2.2 – Alterações causadas pelo processamento

No processamento industrial, ocorrem alterações nos componentes dos frutos que afetam sensivelmente suas propriedades sensoriais e o valor nutricional, que podem intensificar-se durante o armazenamento (COSTA, 1999).

Durante o processamento e vida de prateleira de sucos de frutas, o escurecimento e a turbidez são duas grandes preocupações por limitar a utilização comercial e diminuir o valor econômico (HSU *et al.*, 1990).

A oxidação do ácido ascórbico e de substâncias fenólicas (taninos) provocam a formação de substâncias que causam o escurecimento do suco e a formação de aromas e sabores estranhos ao produto (COSTA, 1999).

II.2.2.1 - Reações não enzimáticas

O escurecimento não enzimático apresenta-se durante os processos tecnológicos ou no armazenamento dos alimentos, principalmente dos líquidos concentrados tais como leite, sucos de frutas e xaropes. É acelerado pelo calor e, portanto, ocorre especialmente durante as operações de cocção, pasteurização e desidratação (CHEFTEL & CHEFTEL, 1989).

O escurecimento não enzimático também pode ocorrer em sucos de frutas devido à complexação de metais com compostos fenólicos. Vários cátions polivalentes são capazes de formar complexos com compostos fenólicos, combinando com carboidratos e proteínas (ROMMEL & WROLSTAD, 1993).

Nos sucos de frutas os flavonóides podem contribuir para a formação de sedimentos, pela combinação de polifenóis e catequinas com proteínas que causam turvação indesejável; além disso, a presença de cobre catalisa a degradação de substâncias fenólicas em sucos, particularmente leucoantocianinas e epicatequinas, levando à sua precipitação (KIESER *et al.*, 1957).

A degradação do ácido ascórbico, a polimerização de antocianinas com outros compostos fenólicos e a reação de Maillard, são fatores importantes na avaliação da qualidade dos sucos de frutas (YÚFERA, 1997; AMIOT *et al.*, 1992). Estas, não somente modificam a cor dos produtos, como também causam uma perda nutricional, em consequência da intervenção de aminoácidos essenciais e do ácido ascórbico simultaneamente, além de formar odores indesejáveis ao suco (CHEFTEL & CHEFTEL, 1989).

II.2.2.2 - Reações enzimáticas

De acordo com FELLOWS (1994), a principal causa da alteração da cor em sucos de frutas é o escurecimento enzimático provocado pela polifenoloxidase, que é uma oxirredutase, na qual o oxigênio molecular atua como aceptor de hidrogênio.

Tanto os compostos fenólicos quanto os flavonóides estão envolvidos na formação de pigmentos escuros em frutas, resultantes de reações de oxidação enzimática, quando cortadas, injuriadas ou durante a armazenagem (GRAUMLICH *et al.*, 1986).

A polifenoloxidase catalisa dois tipos de reações, uma na qual os compostos monofenólicos transformam-se em difenóis e outra em que os difenóis presentes ou formados na reação anterior, passam a quinona (Figura II.6). Ambas as reações utilizam o oxigênio molecular. As quinonas assim formadas dão lugar a hidroxiquinonas instáveis que se polimerizam. Estes polímeros experimentam posteriormente oxidações não enzimáticas, nas quais formam compostos coloridos, caracterizados como melanóides ou melanoidinas, que não contêm nitrogênio e, portanto, são diferentes das melaninas (PAULL & ROHRBACH, 1985).

Segundo YÚFERA (1997), servem como substratos desta reação o ácido clorogênico, as catequinas, as leucoantocianinas, as antocianinas e os flavonóides. Os taninos, além de contribuírem para a adstringência dos alimentos e para precipitação das proteínas (CHEFTEL & CHEFTEL, 1989), são ainda substratos do escurecimento enzimático (FENNEMA, 1993).

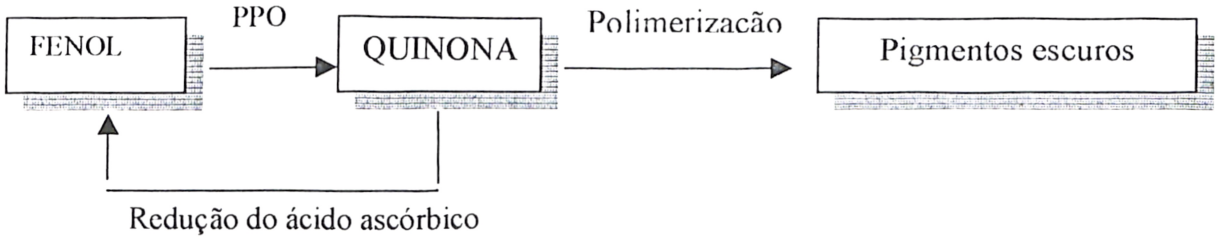


Figura II.6 – Esquema das reações que causam escurecimento em frutas

II.2.2.3 - Alterações no sabor

A preservação do sabor durante a estocagem dos sucos de frutas é de fundamental importância para se conseguir a aceitação pelo consumidor (CURL & TALBURT, 1961). Segundo FELLOWS (1994), as trocas de aroma e *bouquet* nos frutos se devem a reações complexas de degradação, recombinação e volatilização de aldeídos, cetonas, açúcares, lactonas, aminoácidos e ácidos orgânicos.

De acordo com ALVES & GARCIA (1993), a oxidação dos compostos responsáveis pelo aroma e sabor dos sucos de frutas altera sensivelmente suas características sensoriais, dependendo da temperatura de estocagem, do oxigênio residual, da permeabilidade da embalagem ao oxigênio e, ainda, do conceito de qualidade do consumidor. Neste último aspecto, o consumidor brasileiro é mais crítico com sucos de laranja e limão em comparação com outros sucos tropicais, néctares e coquetéis de frutas, pois o padrão de comparação com o suco cítrico fresco é muito forte em sua memória. TRAMMELL *et al.* (1986) relataram que, independentemente do oxigênio, o escurecimento e a perda de ácido ascórbico são importantes no mecanismo da formação de sabores residuais indesejáveis.

II.3 – CLARIFICAÇÃO TRADICIONAL DE SUCOS DE FRUTAS

Os métodos tradicionais de clarificação envolvem diversas operações. Após a seleção, lavagem e descascamento iniciais, a fruta é prensada para a remoção

de material fibroso. Se o objetivo é produzir suco límpido, o suco prensado é pasteurizado e tratado com uma enzima (pectinase, amilase, etc.) para decompor a pectina e reduzir o aspecto turvo. O tratamento enzimático também torna a filtração subseqüente mais fácil, pela redução da viscosidade do suco. O tratamento enzimático é seguido de uma etapa preliminar de clarificação, onde um agente clarificador (bentonita, gelatina, etc.) é adicionado e o suco é mantido em suspensão por período que pode variar de 12 a 36 horas. Após a decantação, o suco segue para a filtração, utilizando-se terra diatomácea (TD) para a remoção de sólidos em suspensão, colóides, proteínas e polifenóis condensados. O suco clarificado final deve ser pasteurizado novamente antes do envasamento (CHERYAN, 1998).

A gelatina é o mais importante auxiliar para a floculação da matéria em suspensão em sucos de frutas. Todo tipo de suco requer uma quantidade ótima efetiva, pois a falta da gelatina resulta em uma floculação incompleta e causa problemas durante a filtração, e o excesso causa turbidez no suco filtrado, devido à presença de proteína (SCHWEIZERISCHE FERMENT AG, 1980).

O emprego de enzimas em associação com a gelatina, sílica ou bentonita, como agentes de refino, proporciona excelentes resultados na obtenção de sucos tropicais clarificados (STROHM *et al.*, 1987).

II.4 – ENZIMAS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Conforme CHEFTEL & CHEFTEL (1989), o uso de enzimas com fins industriais inclui todos aqueles casos em que a enzima é empregada na qualidade de aditivo, para modificar alguma propriedade funcional de um produto, e como catalisador de um processo, para fabricar um produto derivado da ação enzimática sobre uma certa matéria prima. Segundo CORNISH-BOWDEN & CÁRDENAS (1987), as enzimas podem ser obtidas a partir de animais, vegetais e microrganismos.

A aplicação industrial de enzimas é determinada pela sua especificidade, atividade, estabilidade de armazenamento, utilização, disponibilidade e custos. A atividade de uma enzima é determinada pela sua concentração e do seu substrato, concentração de co-fatores, efeitos alostéricos, presença e concentração de inibidores, potencial iônico, pH, temperatura e tempo de reação (COURI, 1997).

As enzimas obtidas por processos fermentativos oferecem uma série de vantagens e têm sido amplamente pesquisadas e utilizadas em todo o mundo (COURI, 1997). A aplicação de enzimas em tecnologia de alimentos é uma alternativa viável e tem se tornado uma das áreas de maior interesse da indústria biotecnológica, por se tratar de um processo que consome pouca energia, melhora a qualidade de vários produtos e causa um mínimo de impacto ambiental (SANTOS & BON, 1999), além do fato de as enzimas serem extremamente específicas, reagindo apenas com uma classe química de substâncias em

particular (DZIEZAK, 1991). As enzimas permitem reações em diversas condições de temperatura, pressão e pH (GOMES, 1995). Em contrapartida está o seu elevado custo de venda, embora os avanços da genética microbiana, estabilidade térmica e pureza estejam tornando o uso de processos enzimáticos cada vez mais competitivos com os processos tradicionais (FAIGH, 1995.; DUXBURY, 1993).

No que se refere à indústria de alimentos, o Brasil tem grande potencial para a produção de enzimas, devido à influência de empresas de ponta na produção alimentícia e pelo fato de dispor de vastos recursos naturais, e de baixo custo, que podem ser usados como substrato nos processos fermentativos. O uso da tecnologia enzimática satisfaz tanto a critérios de qualidade de produtos (ISO 9.000) quanto a critérios de qualidade de processos (ISO 14.000), apresentando um baixo impacto ambiental (BON, 1997).

II.4.1 – Situação da tecnologia enzimática no Brasil

O uso de enzimas na indústria de alimentos responde por um mercado mundial de US$ 600 milhões, sendo que o Brasil contribui com menos de 3% (BON, 1999). Os dados do mercado externo brasileiro de biocatalisadores estão resumidos na Figura II.7.

Considerando que a disponibilidade de biocatalisadores a baixo preço é fundamental para o seu uso em grande escala, é imperativo que as enzimas

particular (DZIEZAK, 1991). As enzimas permitem reações em diversas condições de temperatura, pressão e pH (GOMES, 1995). Em contrapartida está o seu elevado custo de venda, embora os avanços da genética microbiana, estabilidade térmica e pureza estejam tornando o uso de processos enzimáticos cada vez mais competitivos com os processos tradicionais (FAIGH, 1995.; DUXBURY, 1993).

No que se refere à indústria de alimentos, o Brasil tem grande potencial para a produção de enzimas, devido à influência de empresas de ponta na produção alimentícia e pelo fato de dispor de vastos recursos naturais, e de baixo custo, que podem ser usados como substrato nos processos fermentativos. O uso da tecnologia enzimática satisfaz tanto a critérios de qualidade de produtos (ISO 9.000) quanto a critérios de qualidade de processos (ISO 14.000), apresentando um baixo impacto ambiental (BON, 1997).

II.4.1 – Situação da tecnologia enzimática no Brasil

O uso de enzimas na indústria de alimentos responde por um mercado mundial de US$ 600 milhões, sendo que o Brasil contribui com menos de 3% (BON, 1999). Os dados do mercado externo brasileiro de biocatalisadores estão resumidos na Figura II.7.

Considerando que a disponibilidade de biocatalisadores a baixo preço é fundamental para o seu uso em grande escala, é imperativo que as enzimas

sejam produzidas no Brasil. A sua oferta estimulará o desenvolvimento do uso, permitindo ao país entrar em uma nova era de desenvolvimento biotecnológico.

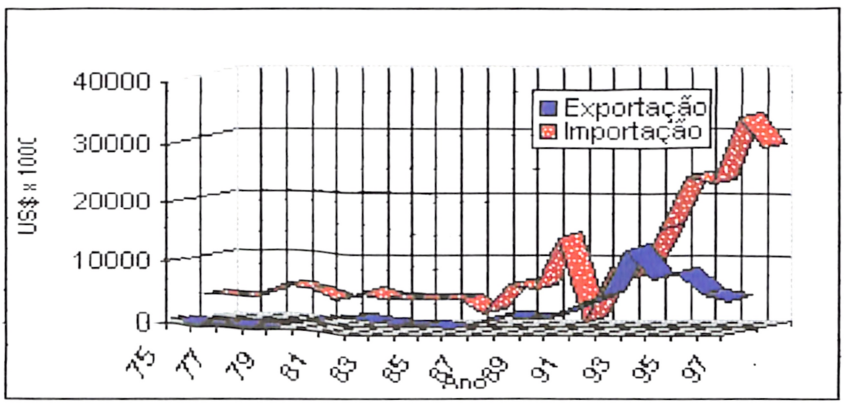


Figura II.7 – Importação e exportação brasileira de enzimas industriais
Fonte: ENZITEC (1999)

II.4.2 - Enzimas no processamento de sucos de frutas

Desde que as pectinases foram usadas pela primeira vez na indústria de frutas para clarificar sucos *in natura*, o uso das enzimas para produzir sucos clarificados ou não se tornou uma prática padrão. Desde a década de 60 vem ocorrendo um avanço tecnológico no uso de enzimas com o desenvolvimento de complexos enzimáticos contendo atividades de pectinase, celulase e hemicelulase, que atuam de forma sinérgica no tecido da fruta para maceração e aumento da liquefação, e para extração adicional de sólidos solúveis (FAIGH, 1995).

Hoje em dia os fabricantes de enzimas são capazes de oferecer complexos enzimáticos que contêm níveis de atividade enzimática cuidadosamente

balanceados, otimizados para tipos específicos de frutas e/ou processos específicos. Estes complexos enzimáticos tornaram-se indispensáveis para a hidrólise das paredes das células vegetais, aumentando a capacidade produtiva, reduzindo a viscosidade e melhorando os processos de separação (JANSER, 1997).

SREENATH & SANTHANAM (1992), utilizando uma pectinase comercial de *Aspergillus níger*, contendo várias polissacaridases, clarificou o suco de uva branca a um nível de 98-99%, degradando também a polpa da uva (25-30%). O processo tradicional usa pectinase a 50°C por período de 3 a 6 horas antes da pasteurização. A otimização foi alcançada com 0,048% de enzima a uma temperatura de 27-30°C por 30 minutos, sem mudar o pH da polpa. Depois da clarificação pectinolítica do suco, tanto a viscosidade do suco quanto o total de fenóis foram reduzidos em 25% e 32%, respectivamente. As vantagens desta preparação comercial sobre outras enzimas foram a remoção perfeita da turbidez, a redução da viscosidade do suco e o rompimento do complexo da protopectina. No entanto, a eficiência da clarificação pectinolítica depende não apenas da variedade da fruta, do seu amadurecimento e da concentração de seus componentes, mas também da origem, natureza e pureza das enzimas.

Um sistema enzimático de grau alimentício (Clarex B, Solvay Enzymes, Inc., Elkhart, Ind.), produzido por *Aspergillus niger,* foi desenvolvido para otimizar o rendimento dos sucos de frutas e a extração de sólidos solúveis. O produto é padronizado com atividade de pectinase e contém outras carboidrolases, às quais são importantes para a degradação de outros polissacarídeos presentes na célula

rompida. O sistema enzimático demonstrou atividade ótima sob uma faixa de pH de 3,5 a 5,0 e foi eficiente em uma faixa de temperatura de 2 a 60ºC (FAIGH, 1995).

SILVA *et al.* (1998_b), em estudo com polpa de cajá, usando 500 ppm de enzima pectinolítica com tempo de reação de 2 horas, à temperatura de 45°C e pH natural do suco, observaram que o processo foi eficiente para a eliminação da pectina. Porém, devido ao alto teor de taninos (163,98 mg ácido tânico/ 100g), o suco permaneceu turvo, tendo que passar por uma etapa de clarificação com gelatina associada à sílica sol para obter um suco límpido. Os autores concluíram que o conteúdo extremamente elevado de polifenóis pode inibir o efeito da enzima, tendo portanto que utilizar a gelatina para a redução destes compostos. A gelatina mostrou ser eficiente em concentrações inferiores a 500 ppm, valor utilizado para a clarificação de sucos de caju.

HSU *et al.* (1990) investigaram os efeitos da variedade, maturidade e processamento na qualidade e estabilidade da proteína do suco de pêra. Foi observado que as frutas maduras têm uma maior concentração de proteínas solúveis do que as frutas verdes e que as frações protéicas sofrem alterações devido ao aquecimento. Conseqüentemente, durante o tratamento enzimático, as proteínas solúveis tornam-se menos solúveis, o que reduz a qualidade e a estabilidade dos sucos. Os resultados indicaram que algumas enzimas, quando adicionadas para clarificação, podem contribuir para a turbidez e formação de sedimentos após a etapa de clarificação.

25.906
U.F.R.R.J. BIBLIOTECA CENTRAL
N.° REGISTRO 258-03

II.4.3 - Propriedades e utilizações da tanase

A enzima tanino acil hidrolase (EC.3.1.1.20) ou tanase é composta por duas enzimas, a ácido gálico esterase, que age nas ligações ésteres e as depsidases, que agem nas ligações depsides. A tanase é uma enzima indutiva produzida basicamente no micélio de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* quando em presença de ácido tânico (HASLAM, 1970, NERY *et al*, 1999).

A tanase é uma proteína de alto peso molecular que pode variar de 186.000 a 300.000 Daltons, dependendo da sua origem. Em geral a tanase é uma proteína ácida com um pH ótimo em torno de 5,5. No caso do *A. niger* e *P. chrysogenum*, o pH ótimo é 6. As tanases provenientes de leveduras e *A. oryzae* são estáveis em uma ampla faixa de pH (3,5 – 8,0) enquanto as tanases produzidas por *P. chrysogenum* são estáveis em uma faixa estreita de 4,5 – 6,0 (LEKHA & LONSANE, 1997). De acordo com DHAR & BOSE (1964), a melhor temperatura para a atividade da tanase em chás instantâneos foi de 45°C. Segundo WEETAL (1985), para *A. niger, A.oryzae* e *P. chrysogenum*, a temperatura ótima para a atividade da tanase ficou em cerca de 30°C e para *A. flavus* a melhor temperatura foi de 50°C a 60°C por apenas 10 minutos. Em MENEZES (1999), a temperatura ótima de incubação encontrada para a tanase Biopectinase/Quest foi de 30° a 35°C, sendo o pH 5,0 o mais eficaz.

Segundo NAGALAKSHMI (1985), a tanase atua na catálise da hidrólise de ligações ésteres do grupo galoil de polifenóis, tais como ácido tânico e taninos. De acordo com LEKHA & LONSANE (1997), a tanase hidrolisa somente substratos

que contenham no mínimo dois grupos fenólicos no componente ácido. Portanto, a tanase age apenas nas ligações éster dos taninos hidrolisáveis produzindo glicose e ácido gálico. Em uvas, hidrolisa o ácido clorogênico, que é um depsídeo resistente, devido à presença de uma ligação dupla na cadeia lateral separando o grupo COOH esterificado.

Os taninos condensados são os mais resistentes à decomposição microbiana. Somente um número muito limitado de microrganismos do gênero *Aspergillus* e *Penicilium* são capazes de se desenvolver tendo como fonte de carbono a catequina, a componente estrutural dos taninos condensados. O mecanismo e as enzimas envolvidas em tal degradação são desconhecidas. GALIOTOU-PANAYATOU *et al.* (1988) isolaram uma enzima da *Calvatea gigantea* que hidrolisa a catequina. Esta enzima foi purificada e caracterizada. A enzima tinha um pH ótimo de 8 e uma temperatura ótima de 35ºC.

A biodegradação de taninos condensados por microrganismos ainda permanece não completamente compreendida (LEKHA & LONSANE, 1997).

De acordo com RZEDOWSKI (1972), a aplicação da enzima tanase na produção de sucos é limitada, havendo referências do uso apenas no Japão, onde é utilizado em frutas com altos níveis de taninos e antocianinas. Entretanto, esta enzima pode apresentar grande potencial de aplicação na indústria de sucos de frutas com alto teor de taninos por promover sua clarificação, estabilização e redução de adstringência (NERY *et al.*, 1999).

MENEZES (1999) formulou algumas condições experimentais para o tratamento enzimático com tanase em suco de caju. Observou que o efeito combinado do tempo de reação e concentração de enzima foi significativo para a redução dos taninos hidrolisáveis, obtendo 70% de redução no tratamento com 0,9% de tanase por 1 hora. No tratamento com gelatina houve redução da quantidade de taninos condensados (32%), obtendo um produto final com menor turbidez. Os resultados mostraram que a clarificação utilizando gelatina foi eficiente para remoção de taninos condensados, enquanto que o tratamento com enzima foi mais eficiente na redução de taninos hidrolisáveis.

Ainda segundo MENEZES (1999), a concentração de enzima pode ser reduzida para 0,3% quando se utiliza o suco obtido por prensa hidráulica, devido à retirada da polpa.

CANTARELLI (1989) observou um aumento na estabilidade do vinho quando adicionou a enzima tanase no mosto das uvas, em combinação com agentes de refinamento convencionais. A enzima atua na hidrólise do ácido clorogênico, influenciando positivamente também no sabor.

Segundo LEKHA & LONSANE (1997), a tanase pode ser usada para produção de ração animal, pois reduz os taninos, que podem atuar como um fator antinutricional, facilitando a digestão. Pode também ser usada na cosmetologia, para eliminação da turbidez dos extratos vegetais, e na indústria de couro, para homogeneizar preparações de tanino para a produção de couro de ótima qualidade.

Existem muitos registros de patentes sobre o uso de tanase na solubilização de chás (LEKHA & LONSANE, 1997). Como exemplo, pode-se citar SANDERSON & COGGON (1974), que usou uma tanase imobilizada para realizar a clarificação em infusões de chá verde. No entanto, o uso prático desta enzima atualmente é limitado devido à falta de conhecimento adequado sobre suas propriedades, produção ótima e aplicação em larga escala. LEKHA & LONSANE (1997) acreditam que muitas aplicações potenciais da tanase, mencionadas em literatura, necessitam de mais pesquisas para demonstrar a sua viabilidade econômica e estimular o seu uso em escala comercial.

II.5 – PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS

Membranas podem ser definidas como barreiras seletivas ao transporte de matéria e energia entre duas fases; são utilizadas em processos de separação visando ao fracionamento dos componentes de uma mistura, em função de suas diferentes taxas de permeação (MULDER, 1991). Assim, a tecnologia de separação por membranas baseia-se no princípio de que componentes de misturas líquidas ou gasosas, de acordo com suas características moleculares, possam passar seletivamente através de uma determinada membrana, movidos por uma força motriz que varia segundo os diferentes processos. Estes processos usam baixas temperaturas (4°C a 50°C), minimizando danos térmicos ao produto (CABRAL, 1998).

Processos de filtração por membranas porosas são normalmente caracterizados pelo tamanho dos solutos que estas separam, que é função do tipo de estrutura morfológica da membrana, bem como pela força motriz aplicada (GIRARD & FUKUMOTO, 2000; CABRAL, 1998). No Quadro II.1 e na Figura II.8 estes processos são caracterizados pela força motriz da separação, pela natureza do material retido e permeado, pelo tamanho médio de solutos removidos por classes de membranas e são apresentadas algumas de suas aplicações.

Segundo HABERT (1994), existem dois métodos principais de filtração por membranas, a filtração em profundidade (*dead end*), cujo fluido é alimentado perpendicularmente à superfície da membrana, e a filtração tangencial (*tangential crossflow filtration*), na qual o fluido é alimentado paralelamente à membrana, sendo o método mais utilizado (Figura II.9).

Quadro II.1 – Caracterização dos processos de separação com membranas.

Processo	Força motriz	Material retido	Material permeado	Aplicação
Microfiltração	*1 (1–5 atm)	Sílica em suspensão bactérias (PM 500.000)	Água e sólidos dissolvidos	Filtração de ar e água (bactérias), Concentrações de suspensões e emulsões, esterilização a frio
Ultrafiltração	*1 (1-7atm)	Colóides macromoléculas (PM>5.000)	Água (solvente) e sais	Recuperação de proteínas, clarificação de sucos
Osmose inversa	*1 (7–60atm)	Todo material solúvel ou suspenso PM50	Água (solvente)	Dessalinização de águas salinas ou salobras, concentração de sucos de frutas
Diálise	Difer. de concentração	Moléculas de alto PM em suspensão (PM>1.000)	Íons e compostos orgânicos (baixo PM)	Hemodiálise
Eletrodiálise	Difer. de potencial elétrico	Não iônicos e macromoléculas	Íons	Produção de soda-cloro
Pervaporação	Difer. de concentração	Líquido menos permeável	Líquido mais permeável	Separação etanol/água, remoção e desidratação de solventes orgânicos, recuperação e concentração de aromas
Permeação de gases	Difer. de concentração	Gás menos permeável	Gás mais permeável	Separação O_2/N_2, purificação de correntes gasosas industriais

*1 Diferença de pressão

Fonte: MARTINS (1987).

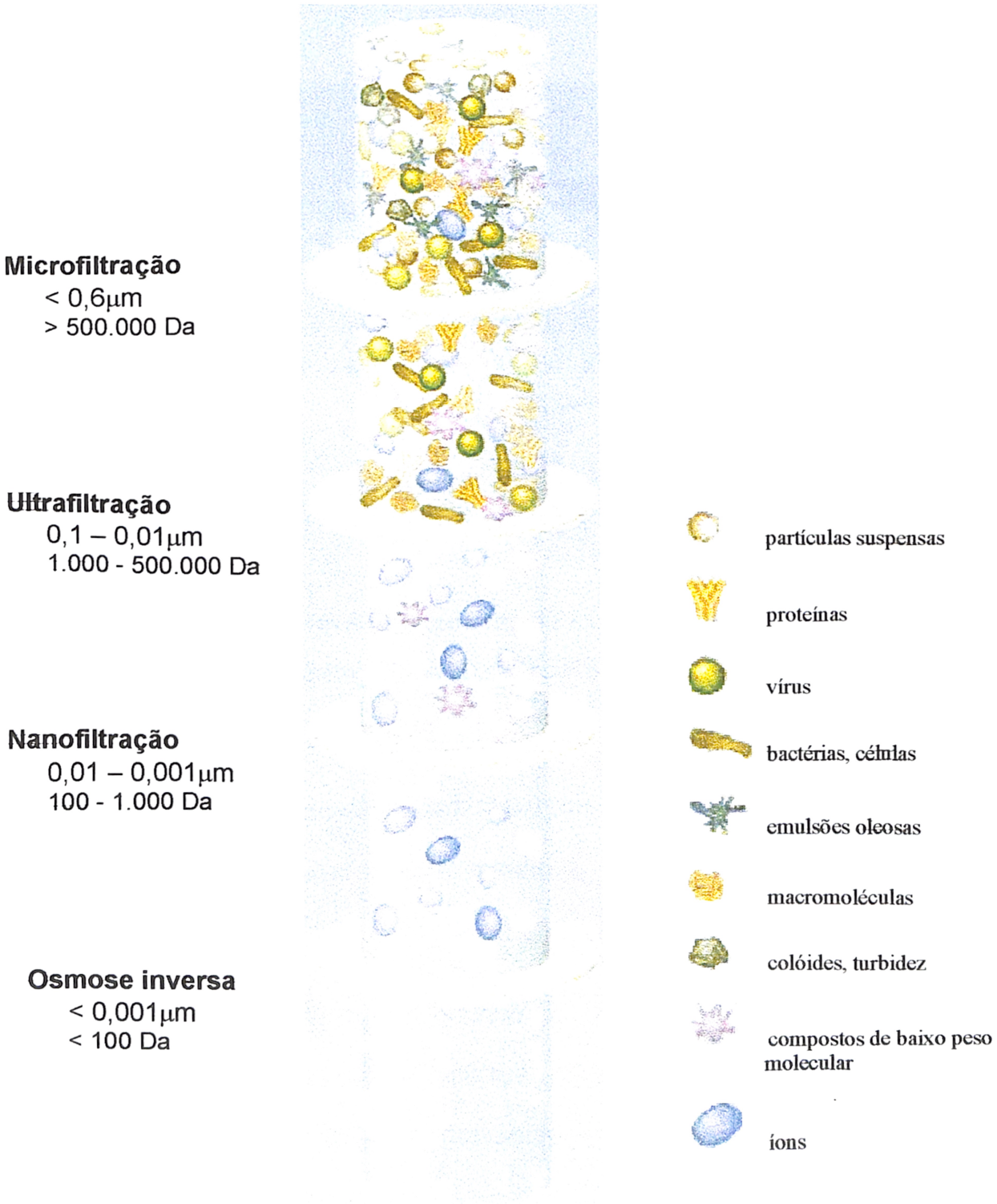


Figura II.8 – Tamanho dos solutos que podem ser separados por tipo de membrana

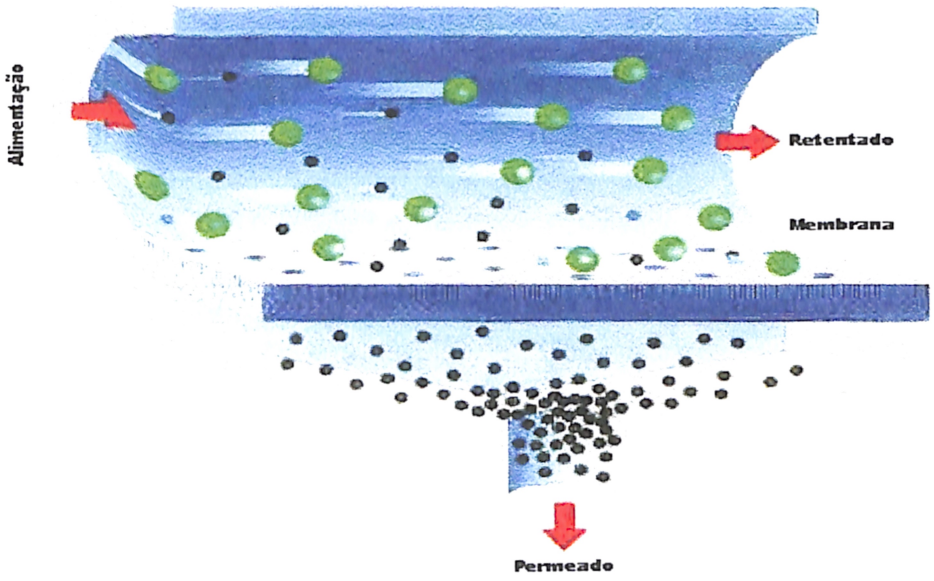


Figura II.9 – Princípio de funcionamento da microfiltração tangencial
Fonte: Catálogo HOECHST

As configurações de sistemas com membranas atualmente disponíveis no mercado são de quatro tipos: tubular, quadro e placas, espiral e fibra oca (HANSEN, 1989).

As separações com membranas que já atingiram nível de aplicação industrial são: osmose inversa (OI), ultrafiltração (UF), microfiltração (MF), diálise, eletrodiálise, permeação de gases e pervaporação (GIRARD & FUKUMOTO, 2000).

Muitos setores industriais têm utilizado a tecnologia de membranas, incluindo a indústria de sucos de frutas. Neste setor, a UF e a MF podem ser empregadas na clarificação e a OI na concentração. O objetivo básico da filtração por membranas na indústria de sucos de frutas, quando visa à clarificação, é substituir as etapas de suspensão, filtração e decantação. Segundo HABERT (1994), as etapas de separação, além de serem fundamentais em todos os processos industriais, têm um custo muito elevado.

II.5.1 – Membranas de UF e MF

A MF e a UF são processos de separação através de membranas porosas, que permitem a passagem da água e de moléculas de baixo peso molecular (açúcares e sais), retendo as moléculas de alto peso molecular (proteínas) e impurezas, bactérias, leveduras, colóides, etc. Portanto, podem ser utilizadas como método alternativo de conservação de bebidas e sucos de frutas (VICENTE *et.al.*, 1996).

O líquido á ser filtrado é bombeado para o interior da membrana, sendo forçado a passar através de seus poros. As partículas de maior tamanho, que não conseguem atravessar a membrana, são retomadas ao vaso alimentador do sistema de membranas. Apenas as partículas menores acompanham o líquido em sua passagem através dessas membranas.

MALDONADO (1991) cita que as membranas de primeira geração são constituídas de acetato de celulose ou ésteres de celulose, têm baixo custo e são sensíveis a temperaturas superiores a 50°C e pH extremos. As de segunda geração são constituídas de fluoreto de polivinilideno, polissulfona e poliolefinas, são ainda muito utilizadas em indústrias, sendo resistentes até 100°C e a uma ampla faixa de pH. Membranas de terceira geração se compõem de cerâmica-alumina, que, embora tenham um alto custo, são resistentes a altas temperaturas (400°C), ampla faixa de pH e altas pressões.

Recentemente, várias instalações industriais de sucos de frutas incorporaram membranas cerâmicas, pois possibilitam maiores fluxos e maior vida útil, devido a sua maior resistência. Outras vantagens são a capacidade de fluxo inverso para desbloquear canais de alimentação e retropulsação durante a operação (PADILLA & MCLELLAN, 1993).

Algumas aplicações da microfiltração e da ultrafiltração na indústria de alimentos são a esterilização de líquidos a frio (sucos, vinhos, etc.), já que, devido ao tamanho dos poros, podem ser eliminados fungos, bactérias e leveduras; a clarificação de líquidos, pois são eliminados todos os tipos de impurezas, substâncias coloidais, pectinas, etc.; e o tratamento de rejeitos como a reciclagem da salmoura, água açucarada e substâncias químicas.

II.5.1.1 – Vantagens da MF e UF sobre os métodos tradicionais de clarificação de sucos

Em CHERYAN (1998), são reportadas várias vantagens do uso de membranas no processo de clarificação, tais como:

- Instalações bastante compactas, com pouca altura (±2m) e espaço ocupado bastante pequeno (2,6 a 12m^2, nas maiores);
- Necessidade de pouca mão de obra; MF e UF podem ser combinadas com a osmose inversa (OI);
- A clarificação é feita numa só etapa, reduzindo o tempo do processo; aumento do rendimento do suco;
- Eliminação da filtração e prensagem;
- Produto de melhor qualidade: a remoção efetiva de componentes que provocam opacidade (sólidos suspensos, partículas coloidais, proteínas e polifenóis), ocorrendo uma redução dos complexos tanino-proteína no suco produzido;
- O processo de separação com membranas é a frio e não envolve mudanças de fases ou agentes químicos, produzindo sucos de frutas com sabor naturalmente fresco e livre de aditivos;

- Redução no uso de enzima: com uma menor quantidade de enzima, pode-se conseguir a mesma eficiência do método tradicional, resultando num fluxo maior e energia de bombeamento mais baixa;

- O produto final é essencialmente estéril, se manuseado cuidadosamente e de uma forma asséptica, não requerendo pasteurização.

Todas estas vantagens resultam em maiores lucros quando utilizando os processos de MF e UF. Por exemplo, uma fábrica de suco de maçã Cadbury-Schwepp, processando mais de 500.000 L diariamente, relatou uma economia de US$350.000,00 por ano, devido à eliminação de mais de 350 toneladas por ano de terra diatomácea, a uma grande redução nos custos da mão-de-obra e a um aumento de 4% na produção (KOCH, 1988). Na Figura II.10 encontra-se um exemplo da rentabilidade do processo de filtração em membranas em comparação ao método tradicional de clarificação do suco de maçã.

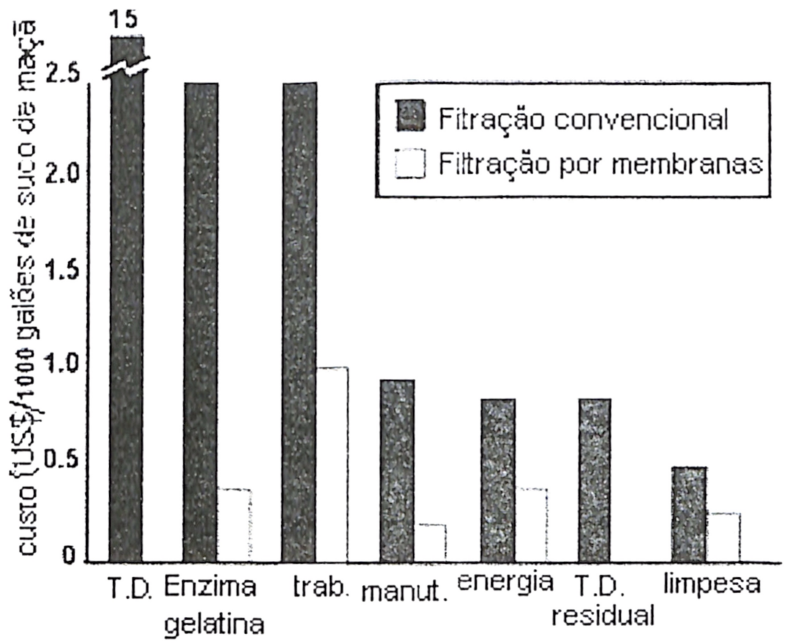


Figura II.10 – Custo de filtração em membrana versus filtração convencional com terra diatomácea.

Fonte: CHERYAN, 1998.

II.5.1.2 – Limitações no uso de membranas

Uma importante limitação no desempenho dos processos de separação por membranas é que o fluxo do permeado diminui em relação ao tempo, devido à formação de uma camada de soluto que se deposita sobre a superfície da membrana, dificultando a passagem do permeado (PADILLA & Mc LELLAN, 1993).

A camada de partículas acumuladas durante o período inicial da filtração forma uma membrana secundária, sendo responsável por uma massa resistente

ao transporte (Figura II.11), que pode ser controlada por uma escolha apropriada das condições hidrodinâmicas do fluido (TARLETON & WAKEMAN, 1994).

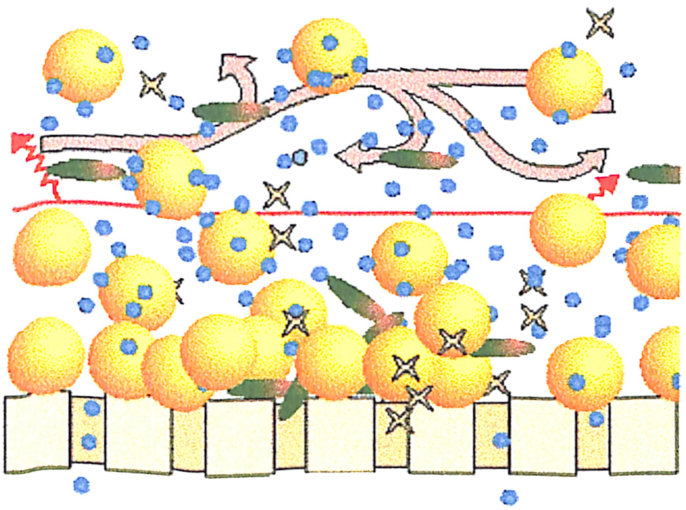


Figura II.11 – Esquema de uma membrana de fluxo tangencial com o depósito de partículas na superfície da membrana.
Fonte: EWING, 2000.

No entanto, um aspecto de maior importância no fenômeno da polarização da concentração é quando o material acumulado, que está na superfície da membrana, passa por interações físico-químicas com a própria membrana. Neste caso, ocorre o fenômeno do entupimento ou *fouling* (solutos no interior da membrana), caracterizado como adsorção nos poros da parede da membrana e o entupimento dos poros por penetração do soluto, que se manifestará por um declínio irreversível do fluxo de permeado (DRIOLLI *et al.*, 1996; CHERYAN, 1998). Os solutos que podem causar entupimento irreversível na membrana são

substâncias tais como pectina, taninos, proteínas, amido, hemicelulose e celulose (RIEDL, 1998).

A utilização de fluxo tangencial à superfície da membrana minimiza o efeito da polarização da concentração. Esta polarização pode também ser revertida pela modificação das condições operacionais e pela reversão do fluxo, o que não ocorre com o entupimento (ÁLVARES *et al.*, 2000). Este, normalmente, só é revertido através de um rigoroso procedimento de limpeza (MULDER, 1991). Para tentar diminuir o entupimento, podem ser utilizados pré-tratamentos para remoção de sólidos insolúveis e sempre que possível utilizar membranas cujo tamanho médio de poro seja bem inferior ao tamanho médio dos solutos (CHERYAN, 1998).

Com a temperatura sendo mantida constante, as condições de operação na MF e UF vão depender da velocidade tangencial e da pressão transmembrana (PTM). Embora a PTM seja a força motriz para a permeação, o fluxo aumenta com o aumento da pressão até um valor limite (PTM_{lim}), o qual depende das propriedades físicas da suspensão a ser filtrada e da própria velocidade tangencial (CONSTENLA & LOZANO, 1997).

II.5.2 – Aplicações da tecnologia de membranas na indústria de sucos

Sucos de frutas e de vegetais estão entre as mais bem sucedidas aplicações da tecnologia de membranas no setor alimentício. Além da maçã, outras matérias-primas têm sido estudadas, tais como: damasco, cenoura, cereja, uva (branca e vermelha), kiwi, limão, lima, melão, laranja, maracujá, pêssego, pêra, abacaxi, ameixa, framboesa, morango e tomate (CHERYAN, 1998).

WILSON & BURNS (1983), no processamento de suco de kiwi obtiveram uma melhoria significativa na cor e conseguiram uma esterilização não térmica do suco. Este suco foi estocado por 6 meses a 15°C e apresentou ligeira deterioração (escurecimento e perda de ácido ascórbico).

WU *et al.* (1990) avaliaram a qualidade dos produtos obtidos e a eficiência do processo de clarificação de suco de maçã por MF e UF, utilizando membranas cerâmicas (0,1μm) e de polissulfona, tipo fibra oca (5.000 e 50.000 Daltons). Os autores verificaram que o processo de MF possibilitou a obtenção de uma maior quantidade de permeado por unidade de tempo do que a UF, em condições operacionais similares. Proporcionou ainda uma melhor retenção dos compostos voláteis, todavia seu permeado apresentou uma maior turbidez e uma cor mais escura que o da UF.

Uma das aplicações de UF/MF em sucos cítricos é no pré-tratamento para a produção de concentrados (KOSEOGLU *et al.*, 1990). Podem ser usadas

inicialmente para separar a polpa do soro, que contém os açúcares e componentes de sabor. A parte da polpa contém alguns sólidos solúveis, todos os sólidos insolúveis, pectinas, enzimas, óleos, e os microrganismos que podem afetar a estabilidade do concentrado. Esta fração retida é submetida a um tratamento de pasteurização destruindo microorganismos prejudiciais e melhorando a estabilidade do produto final quando misturado novamente com o permeado (CHERYAN & ALVAREZ, 1995).

CHAMCHONG & NOOMHORM (1991) avaliaram os efeitos de diferentes parâmetros no desempenho da MF (0,1μm, 0,2μm) na clarificação do suco de tangerina e concluíram que, para as membranas, houve uma queda inicial no fluxo do permeado, seguido por um fluxo constante. A qualidade do permeado, aí entendida como a turbidez, melhorou com o tempo de filtração. O aumento do fluxo de 35L/hm^2 para 72L/hm^2 ocorreu devido ao aumento da velocidade tangencial de 0,9 m/s para 3,5 m/s. No entanto, a velocidade tangencial maior que 3,5 m/s resultou em um permeado de menor qualidade. A melhor membrana, para o suco estudado, foi a de microfiltração com 0,1μm de tamanho de poro, devido ao maior fluxo e à menor turbidez.

MANGAS *et al.* (1997) analisaram a diferença do perfil fenólico de sucos de maçã clarificados por membranas inorgânicas de UF e MF. Os fatores tecnológicos do processo de clarificação, tais como: tipo de membrana, temperatura e tempo de processo, influenciaram significativamente o perfil dos compostos fenólicos, especialmente os ácidos hidroxicianamídicos e a

procianidina B_1. Da mesma forma, a cor esteve estreitamente vinculada a estes fatores. O processo mais eficaz para a clarificação do suco de maçã foi com a membrana de UF, a 20°C.

MATTA (1999), em estudo sobre clarificação e concentração de suco de acerola, obteve sucos clarificados comercialmente estéreis no ponto de saída do permeado das membranas. Com as duas membranas utilizadas, com tamanhos de poro de 0,3μm e 30-80 PMCO, para microfiltração e ultrafiltração, respectivamente, a retenção de microrganismos foi eficiente. O suco a ser filtrado foi previamente hidrolisado, utilizando um complexo enzimático com atividade pectinolítica, o que possibilitou um aumento significativo do fluxo de permeado. A condição operacional com menor pressão transmembrana (100 kPa) mostrou-se adequada para o processo.

VAILLANT *et al.* (1999) obtiveram suco clarificado de maracujá a partir de tratamento enzimático e microfiltração. O suco foi tratado enzimaticamente pelo período de uma hora à temperatura de 36°C e a microfiltração foi realizada em membrana cerâmica tubular com 0,2 μm de tamanho de poro. Observou-se que a melhor condição operacional foi a uma baixa pressão transmembrana (150 kPa) e utilizando uma concentração de enzima de 1mL por litro, o que permitiu a obtenção de um alto rendimento e um maior fluxo.

Em ÁLVAREZ *et al.* (2000), os valores de fluxo de permeado de suco de maçã sem tratamento enzimático, utilizando membranas cerâmicas de 0,2 μm.

variaram de 35 L/hm^2 até quase 300 L/hm^2, para o suco de maçã despectinizado. Assim, observa-se que o pré-tratamento enzimático do suco afeta o fluxo permeado, devido aos sólidos em suspensão no suco bruto.

Os mesmos autores propuseram uma tecnologia alternativa para a produção de suco de maçã concentrado, utilizando um reator enzimático de membrana, uma pré concentração por osmose inversa e a recuperação dos compostos aromáticos por pervaporação, comparando-o com o processo convencional, em relação à qualidade do produto final e aos custos operacionais. O suco concentrado obtido foi claro e luminoso, observando-se que o uso da enzima imobilizada na membrana, além de reduzir o custo da enzima, reduziu a polarização da concentração na superfície da membrana (ÁLVAREZ *et al.*, 2000).

Em MONDOR *et al.* (2000), foi observado o comportamento da filtração em profundidade (*dead end*) em membranas cerâmicas com tamanhos de poros diferentes (0,2μm; 0,1μm e 0,02μm), para suco de maçã tratado com ácido ascórbico e despectinizado. Houve um declínio do fluxo com o decréscimo do tamanho do poro da membrana.

III – MATERIAL E MÉTODOS

O estudo experimental do processamento da polpa de caju com enzimas e membranas foi realizado na planta piloto da Embrapa Agroindústria de Alimentos (CTAA). As análises foram realizadas nos Laboratórios de Biotecnologia, Propriedades Físicas, Análise Sensorial e Físico-química.

III.1 – MATERIAL

III.1.1 – Matéria prima

Para os experimentos, foram utilizados 250 litros de polpa de caju comercial da marca Bella Ischia, do mesmo lote, e, posteriormente, mais 50 litros de um outro lote, obtidas no mercado CEASA do Rio de Janeiro, acondicionadas em galões de 5 litros. A polpa recém chegada foi homogeneizada e redistribuída em galões de 5 litros, sendo imediatamente congelada e mantida a –18ºC, até a sua utilização.

III.1.2 – Enzimas

Foram utilizadas duas enzimas comerciais, gentilmente cedidas pela Quest International Ireland Ltd., denominadas Biopectinase CT e Biopectinase MB, com atividades tanase e poligalacturonase, respectivamente. Além destas, foram utilizadas as enzimas produzidas no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa

Agroindústria de Alimentos, por fermentação em meio semi-sólido, tendo como agente uma linhagem mutante de *Aspergillus niger* (3T5B8), a tanase-ctaa e uma combinação de 2 extratos enzimáticos, um com atividade tanase e outro com maior atividade para poligalacturonase, ambos obtidos no CTAA.

III.2 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL

O procedimento experimental, em escala semi-piloto, seguiu as etapas representadas pelo fluxograma mostrado na Figura III.1.

Apesar da prévia homogeneização da matéria-prima, as características da polpa normalmente variavam de um ensaio para outro. Por isso, em todos os experimentos, foram retiradas amostras da polpa original (P), da polpa aquecida (P.a), da polpa após tratamento enzimático (A), do suco clarificado (C) e da fração retida pela membrana (R), visando o acompanhamento e a avaliação do processo. As amostras foram analisadas quanto aos seguintes parâmetros: pH, acidez, sólidos solúveis, vitamina C, taninos totais, taninos condensados, cor e turbidez.

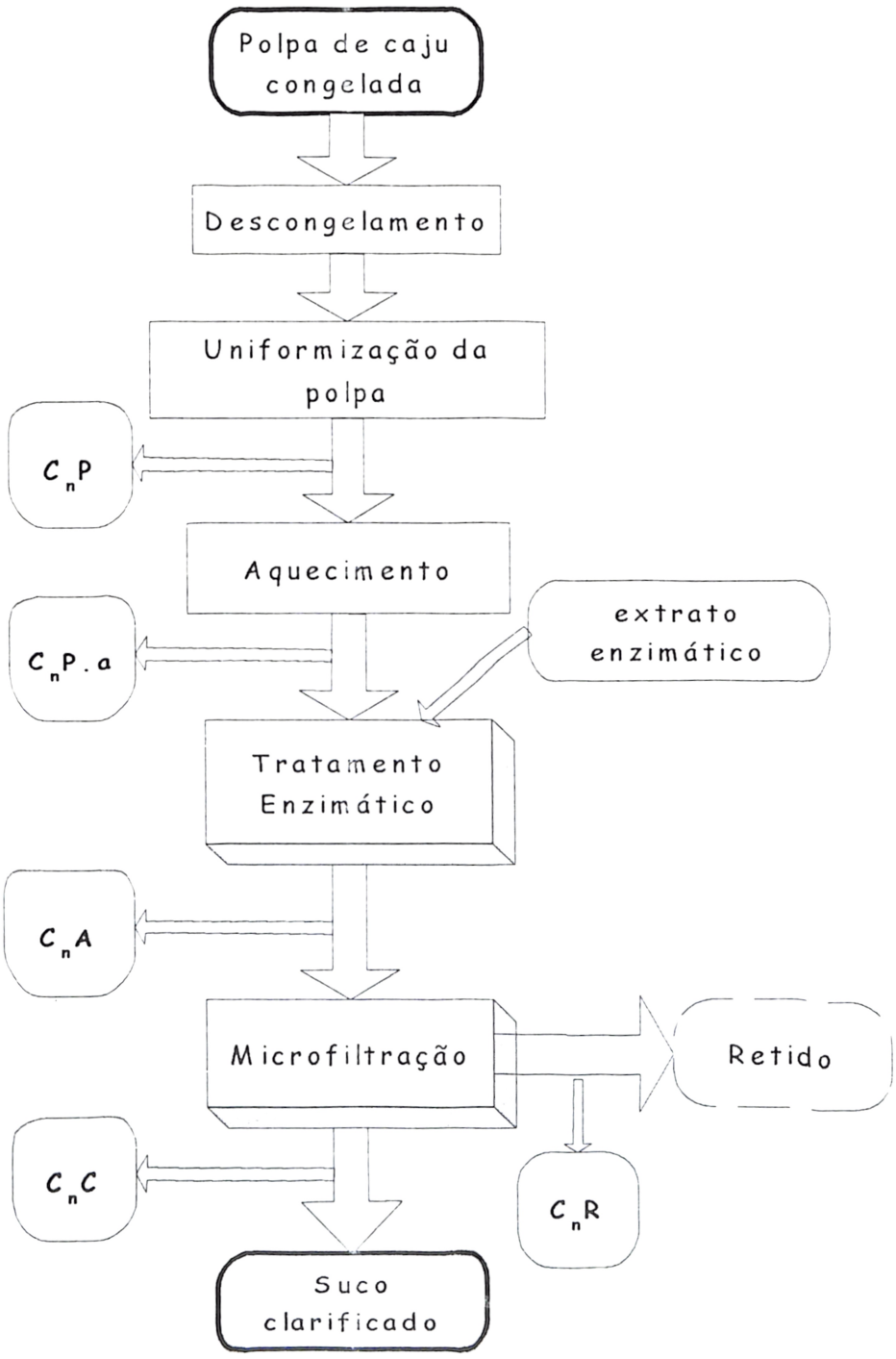


Figura III.1 – Fluxograma representativo do procedimento experimental de clarificação utilizando processo combinado enzimas/membranas.

Para as determinações de taninos totais, taninos condensados e turbidez as amostras foram centrifugadas e as análises foram realizadas no sobrenadante, evitando assim a interferência do alto teor de fibras.

Com o objetivo de comparar os parâmetros estudados, foi realizado um processamento, com as mesmas condições, sem adição de enzima.

III.2.1 – Tratamento enzimático

O tratamento enzimático foi realizado com o objetivo de reduzir os níveis de taninos do caju, aumentando a sua estabilidade e diminuindo a sua adstringência.

Cerca de 12 litros de polpa de caju foram utilizados para cada processamento. A polpa foi homogeneizada em um vaso multipropósito da marca ARMFIELD FT 40, no qual a quantidade de enzima previamente definida foi adicionada (Figura III.2).

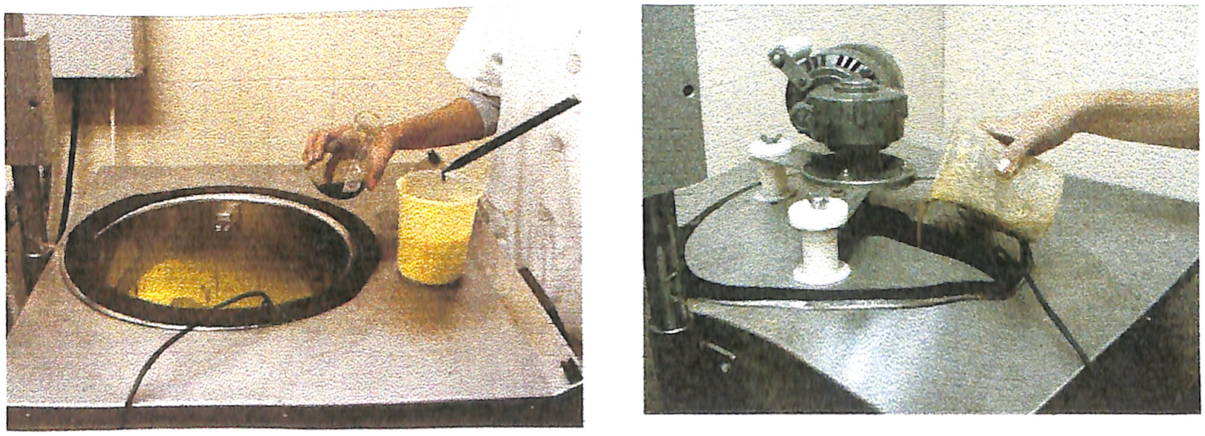


Figura III.2 – Adição da enzima no vaso multi-propósito.

A mistura de reação foi mantida sob rotação constante (40 rpm), por 1 hora, a uma temperatura de 35ºC. Imediatamente após este tratamento, a mistura foi levada para o tanque de alimentação do sistema de microfiltração, não sendo realizada inativação enzimática, pois não se desejava submeter a temperaturas elevadas um produto que seria microfiltrado.

III.2.2 – Microfiltração

A microfiltração foi realizada em um sistema de membranas da Koch Membrane System, modelo Protosep IV (Figura III.3). Utilizou-se uma membrana de microfiltração tubular, constituída de polietersulfona e tamanho de poro de 0,3μm, com área filtrante de 0,05m^2. A pressão foi mantida em 200kPa durante todo o tratamento. A permeabilidade hidráulica da membrana e a vazão de recirculação foram medidas antes de cada processo.

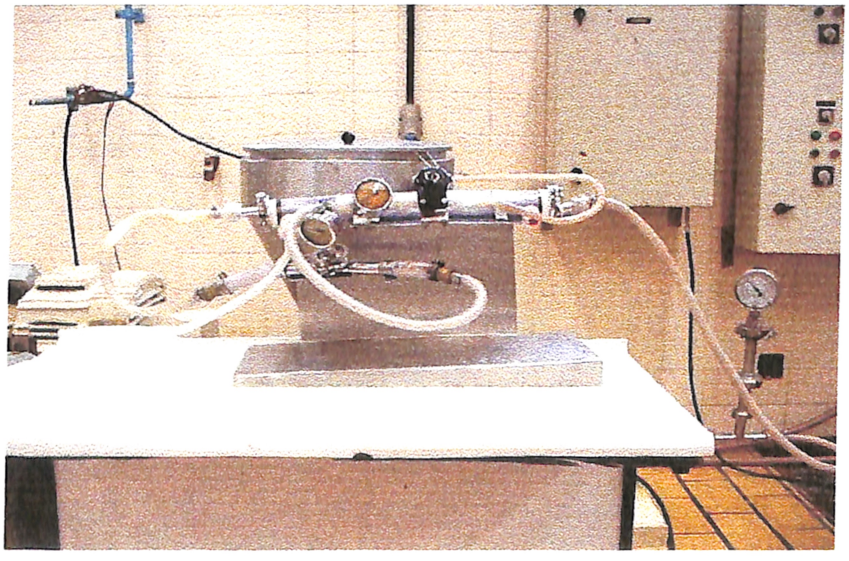


Figura III.3 – Sistema de membrana da Koch utilizado para a microfiltração do suco de caju.

A polpa tratada enzimaticamente era colocada em um tanque de aço inox, sendo esta alimentação do tipo batelada, com recirculação da corrente concentrada. O clarificado era recolhido continuamente em proveta de 1L e acondicionado em galões com volume de até 5L. A fração que não atravessava a membrana retornava ao tanque de alimentação, sendo mantido o processo durante 2 horas ou até que o retido tornasse muito concentrado, aumentando a pressão de entrada do sistema.

O fluxo permeado foi avaliado a cada 20 minutos, fazendo-se triplicata do tempo necessário para a permeação de um determinado volume, conforme a equação II.1.

$$J = \frac{V}{t \times A} \qquad (II.1)$$

onde:

V = volume (L)

t = tempo (h)

A = área da membrana (m^2)

III.2.2.1 – Permeabilidade hidráulica

Determinou-se a permeabilidade hidráulica da membrana de microfiltração antes de cada processamento, sendo medida da seguinte forma: o fluxo permeado de água foi quantificado em triplicata, a cada pressão aplicada na membrana (100;

150; 200; 250 e 300kPa), através da medida do tempo necessário para a permeação de um determinado volume, conforme a equação II.1.

A permeabilidade hidráulica, medida após a limpeza (Anexo I), foi determinada com o objetivo de: verificar se a membrana retornou à sua permeabilidade original, avaliar a presença de uma possível avaria na membrana e estabelecer o fluxo de água através da membrana antes de cada processo.

III.2.3 – Testes com a tanase comercial

III.2.3.1 – Menores concentrações da enzima

Testes preliminares de clarificação da polpa de caju foram realizados utilizando-se a enzima tanase comercial (Biopectinase-CT) nas concentrações de 0,01%, 0,02% e 0,03% (v/v) combinada com membranas de microfiltração.

III.2.3.2 – Delineamento experimental

O delineamento experimental foi feito utilizando-se um planejamento fatorial completo (Tabela III.1), partindo-se da concentração de tanase de 0,1% e da concentração de Biopectinase-MB de 0,01%, visando à determinação da melhor combinação para o tratamento enzimático associado à membrana. Os pontos axiais escolhidos foram as concentrações de Biopectinase-CT de 0,05% e 0,15% e as concentrações de Biopectinase-MB de 0% e 0,02%. Cabe ressaltar que a associação com a filtração em membrana de microfiltração objetivou reduzir a concentração de tanase com relação a experimentos anteriormente realizados em escala de bancada (MENEZES, 1999).

III.2.3.3 – Maior concentração

Em função do processo combinado não ter sido efetivo na redução do teor de taninos, foi realizado um processamento com a enzima tanase, numa concentração mais alta (0,3% v/v), baseando-se ainda nos resultados obtidos por MENEZES (1999).

Tabela III.1 – Planejamento experimental com fatorial completo de 9 experimentos

Processamentos	Biopectinase CT (% v/v)	Biopectinase MB (%v/v)
C6	0,05	0,00
C7	0,10	0,00
C8	0,15	0,00
C9	0,05	0,01
C10	0,10	0,01
C11	0,15	0,01
C12	0,05	0,02
C13	0,10	0,02
C14	0,15	0,02

III.2.4 – Experimentos com as enzimas CTAA

Foi feito um processamento para avaliar a ação da enzima tanase CTAA, comparando-a com a ação da tanase Quest. A concentração da tanase CTAA a ser utilizada foi definida com base nos resultados obtidos através da análise sensorial realizada nos testes do delineamento experimental. A condição selecionada foi a de 0,1% de tanase (v/v), sem adição de celulase, e o processo foi conduzido da mesma forma que os anteriores.

Foram realizados dois processamentos para comparação com os resultados obtidos do experimento com a maior concentração de tanase comercial utilizada neste trabalho. No primeiro processamento foi utilizada 0,3% tanase CTAA (v/v) e no segundo, uma mistura das enzimas tanase CTAA 0,25%(v/v) e hidrolase CTAA 0,05%(v/v).

III.2.5 - Vida de prateleira

A condição de processo para obtenção do suco clarificado para análise de vida de prateleira também foi definida em função dos resultados obtidos com a análise sensorial, ou seja, foi utilizado 0,1% da tanase Quest (v/v), nas mesmas condições de processamento já descritas, excetuando-se que, neste caso, o suco clarificado obtido foi recolhido em condições assépticas e levado para capela de fluxo laminar, onde foi acondicionado em vidros transparentes com tampa metálica e dividido em dois lotes, um ficou sob refrigeração, a uma temperatura média de 4°C, e o outro, dentro de um armário protegido da luz, à temperatura ambiente (±

III.2.4 – Experimentos com as enzimas CTAA

Foi feito um processamento para avaliar a ação da enzima tanase CTAA, comparando-a com a ação da tanase Quest. A concentração da tanase CTAA a ser utilizada foi definida com base nos resultados obtidos através da análise sensorial realizada nos testes do delineamento experimental. A condição selecionada foi a de 0,1% de tanase (v/v), sem adição de celulase, e o processo foi conduzido da mesma forma que os anteriores.

Foram realizados dois processamentos para comparação com os resultados obtidos do experimento com a maior concentração de tanase comercial utilizada neste trabalho. No primeiro processamento foi utilizada 0,3% tanase CTAA (v/v) e no segundo, uma mistura das enzimas tanase CTAA 0,25%(v/v) e hidrolase CTAA 0,05%(v/v).

III.2.5 - Vida de prateleira

A condição de processo para obtenção do suco clarificado para análise de vida de prateleira também foi definida em função dos resultados obtidos com a análise sensorial, ou seja, foi utilizado 0,1% da tanase Quest (v/v), nas mesmas condições de processamento já descritas, excetuando-se que, neste caso, o suco clarificado obtido foi recolhido em condições assépticas e levado para capela de fluxo laminar, onde foi acondicionado em vidros transparentes com tampa metálica e dividido em dois lotes, um ficou sob refrigeração, a uma temperatura média de 4°C, e o outro, dentro de um armário protegido da luz, à temperatura ambiente (±

30°C). O suco clarificado foi analisado no primeiro momento (T0) e após 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento, em ambos os ambientes. As características avaliadas durante o estudo de vida de prateleira foram: teor de vitamina C, pH, sólidos solúveis, acidez, taninos totais e condensados, cor e turbidez, além das análises microbiológicas.

III.2.6 – Determinações analíticas

III.2.6.1 - Determinação das atividades enzimáticas

A caracterização das enzimas foi realizada através das seguintes determinações: **poligalacturonase**, (COURI, 1993); **celulase cristalina** (WOOD & GARCIA-CAMPAIO, 1990); **carboximetilcelulase** (CMCase) (NOVO INDUSTRY S.A., 1978); **xilanase** (GOMES, 1992) e **tanase**, (SANDERSON & COGGON, 1974).

III.2.6.2 - Determinação eletrométrica do pH

Realizada através de leitura direta em pHmetro Metronal E-120, utilizando soluções tampão de referência Merck, pH 4,0 e pH 7,0 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

III.2.6.3- Acidez titulável

Método titulométrico utilizando hidróxido de sódio e indicador fenolftaleína (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

III.2.6.4 - Sólidos solúveis

Leitura direta em refratômetro Bellingham + Stanley Limited, com escala em graus Brix (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

III.2.6.5 – Ácido ascórbico

O método baseia-se na redução do 2,6 diclorofenol indofenol-sódio (DCFI) pelo ácido ascórbico. Este, em meio básico ou neutro, é azul; em meio ácido, é rosa, e sua forma reduzida é incolor. O ponto final da titulação é detectado pela viragem da solução de incolor para rosa, quando a primeira gota de solução do DCFI é introduzida no sistema, com todo o ácido ascórbico já consumido. Este procedimento segue o método descrito por Tillmans e modificado por SILVA (1999).

III.2.6.6 – Carotenóides

Os carotenóides foram extraídos com hexano/acetona (1:1) e quantificados por espectrofotometria a 470nm, de acordo com GOODWIN (1976).

III.2.6.7 – Taninos totais

O método utilizado se baseia no uso da hemoglobina derivada de sangue bovino fresco como agente na precipitação protéica de taninos, tendo sido testada neste trabalho a utilização de sangue de coelho, seguindo metodologia de análise conforme SCHULTZ *et al.* (1981), com modificações. O sangue de coelho fresco, diluído na proporção de 10 mL de sangue fresco para 500mL de água destilada

gelada, foi centrifugado a 3000 rpm durante 30 minutos (centrífuga Fanem mod. 215). Após a centrifugação, o sangue foi utilizado na construção de uma curva padrão, tendo como solução padrão ácido tânico na faixa de concentração de 0 a 1mg/mL.

Um volume de 2,5mL de sangue diluído e centrifugado é misturado à mesma quantidade de amostra, agitado por 15 segundos e centrifugado a 3000rpm por 30 minutos (centrífuga Fanem mod.215).

O sobrenadante desta centrifugação foi então submetido à leitura da absorbância a 578nm em espectrofotômetro Perkin Elmer-Spectrometer Lambda 10. A cada absorvância lida, foi então calculada a concentração de taninos totais, utilizando a curva padrão.

III.2.6.8 – Taninos condensados

O método utilizado baseia-se na reação da vanilina com taninos condensados em solução ácida. A vanilina protonada, um fraco radical eletrofílico, reage com o anel do flavonóide na posição 6 ou 8. O produto desta reação fornece um produto colorido vermelho.

Foi utilizado o método recomendado pela Embrapa Agroindústria Tropical baseado em DESCHAMPS & CHERYAN (1985 e 1987) e BROADHURST & JONES (1978). As reações foram realizadas com 1 mL de padrão (solução de catequina em metanol 80%) ou suco de caju (40% diluído em metanol 1% HCl), adicionados de 5mL de solução reagente de vanilina recém preparada (vanilina -

HCl - metanol 4:10:86). A leitura da absorvância é feita a 500nm em espectrofotômetro Perkin Elmer-Spectrometer Lambda 10, após repouso de 20 minutos. Brancos de reagentes e de amostras são feitos simultaneamente e a concentração de taninos calculada, utilizando-se a curva padrão.

Os taninos hidrolisáveis foram obtidos através da diferença entre taninos totais e taninos condensados.

III.2.6.9 – Presença de pectina

Foi feita determinação qualitativa da presença de pectina utilizando-se álcool etílico acidificado com 1% de ácido clorídrico concentrado, de acordo com SCHWEIZERSICHE FERMENT AG (1980).

III.2.6.10 – Teor de polpa

Determinação da quantidade de sólidos em suspensão através de força centrífuga a 4.000 rpm por 15 minutos (CECCHI, 1978), sendo o resultado expresso em porcentagem.

III.2.6.11 – Turbidez

Realização de leitura direta da turbidez em unidades nefelométricas (NTU), na faixa de 0 a 400 NTU, através do princípio nefelométrico (JUNDILAB, s.d.).

III.2.6.12 – Cor

A análise instrumental de cor foi realizada por transmitância no colorímetro fotoelétrico S&M Colour Computer, modelo SM-4-CH da suga, no sistema Hunter com abertura de 30mm de diâmetro.

Foram feitas quatro repetições para cada amostra disposta em placa de Petri com 5cm de diâmetro e 2 cm de altura, utilizando a quantidade de 30mL. Os parâmetros de cor medidos em relação à placa de Petri foram a luminosidade -"L" (0 = preto, 100 = branco) , "a" (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho), "b" (- 100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo), a diferença total de cor ("ΔE") e o "haze" (turbidez), que é dado pela relação entre a transmissão relativa difusa e a transmissão total da luz.

III.2.6.13 –Análises microbiológicas

As análises microbiológicas da polpa e do suco foram realizadas conforme SIQUEIRA (1995) e avaliadas conforme os padrões para preparado líquido, refrescos e refrigerantes, estabelecidos pelo MINISTÉRIO DA SAÚDE (1998). As análises estabelecidas para a polpa foram: Contagem Padrão de Bactérias Mesófilas, Contagem de Bolores e Leveduras, Pesquisa de *Salmonella* e Pesquisa de Coliformes Totais e Fecais

III.2.6.14 –Análise sensorial

Foi realizado o treinamento da equipe sensorial com diferentes amostras de sucos clarificados, com e sem tanase, para avaliar a qualidade sensorial do

sabor característico do suco de caju clarificado. Utilizou-se o teste de comparação múltipla entre o suco de caju sem enzima, usado como referência, e os sucos de caju com diferentes concentrações da enzima tanase (0,05; 0,1 e 0,15%), para verificar qual deles mais se aproximava da referência. Foram feitas duas repetições. Os sucos foram diluídos na proporção de 1:1, suco:água (v/v). Os testes foram realizados no laboratório de Análise Sensorial da Embrapa Agroindústria de Alimentos, em cabines individuais com iluminação vermelha, sendo as amostras apresentadas em copos plásticos de 50mL e servidos em bandejas inox, acompanhados de biscoito de água e água mineral à temperatura ambiente, para limpeza do palato entre as amostras, e da ficha de teste (Anexo II). Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% e as médias, em relação à referência, foram comparadas através do teste de Dunnett (5%).

III.2.7 – Análise estatística

A fim de padronizar os resultados obtidos para as etapas do processo em relação a uma referência única e possibilitar a avaliação dos dados, foi feita uma estimativa matemática dos parâmetros analisados em todas as etapas dos processos para a obtenção do suco clarificado de caju, conforme as equações II.2 e II.3 (MATTA, 1999):

$$Ve_i = \underline{P} - [\,\underline{P} \times (\mathbf{Vp}_i / 100)\,] \qquad (II.2)$$

Sendo $\mathbf{Vp}_i = [\,P_i - (F_i / P_i)\,] \times 100$ (II.3)

Onde:

P_i → valor obtido experimentalmente para um determinado parâmetro da polpa original no i-ésimo experimento;

F_i → valor obtido experimentalmente para um determinado parâmetro nas fases subjacentes à polpa no i-ésimo experimento;

$\underline{P}$ → média dos valores obtidos experimentalmente para um determinado parâmetro da polpa original em todos os experimentos

Ve_i → valor estimado para um determinado parâmetro nas fases subjacentes à polpa no i-ésimo experimento

Vp_i → variação percentual entre a polpa original e o clarificado de um determinado parâmetro no i-ésimo experimento.

Para os parâmetros cujo valor médio da polpa apresentou coeficiente de variação acima de 10%, foi considerado o Índice Relativo, conforme o cálculo da equação II.4. Esta equação dá uma resposta em relação à variação percentual para cada processo, possibilitando as análises estatísticas com os dados em um mesmo conjunto.

$$I.R.\ etapa_i = polpa_i / (n)\ fases_i \qquad (II.4)$$

Onde:

$_i$ = cada ensaio do delineamento experimental,

n = diferentes etapas do processo.

Foi utilizado o teste t de Student, para a comparação entre duas médias, o teste X^2 ou o teste exato de Fisher para comparar proporções. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) na comparação da interação das fases, na etapa de suco clarificado entre os diferentes processamentos, nos diferentes fluxos do permeado e na análise sensorial. Para a comparação entre as fases foi utilizado também o teste de Tukey e na análise sensorial as diferenças das médias em relação à referência foram comparadas através do teste de Dunnett

As diferenças foram consideradas significativas para valores de $p<0,05$. Para a realização das análises utilizou-se os resultados obtidos no programa STATISTICA (versão 5.0).

IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 – CARACTERIZAÇÃO DAS ENZIMAS

Visando à utilização das enzimas comerciais tanase e celulase (Biopectinase CT e MB Quest, respectivamente), estas foram caracterizadas quanto às suas atividades, conforme mostra a Tabela IV.1. O extrato comercial Biopectinase CT possui 14.200 U/mL de atividade tanase enquanto que a Biopectinase MB possui maiores atividades poligalacturonase, carboximetilcelulase e xilanase.

Tabela IV.1 - Atividade enzimática das enzimas comerciais

Enzima	Biopectinase CT (U/mL)	Biopectinase MB (U/mL)
Poligalacturonase	0	1.030
Celulase cristalina	0	9,9
Carboximetilcelulase	11	334,9
Xilanase	39,6	467,4
Tanase	14.200	14

Outro lote de enzima comercial (Biopectinase), cedida também pela Quest e utilizada por MENEZES (1999), apresentou em um mesmo preparado enzimático, maior atividade tanase (17.000 U/mL) e poligalacturonase (2.982 U/mL), além das atividades xilanase e protease. Os resultados obtidos por MENEZES (1999), que

em bancada, mostraram efeito positivo da enzima tanase sobre o teor de taninos do suco de caju, foram indicativos para o desenvolvimento do presente trabalho.

Os extratos enzimáticos denominados tanase e hidrolase, foram produzidos no CTAA por fermentação em meio semi-sólido, tendo como agente uma linhagem mutante de *Aspergillus niger* (3T5B8). Após liofilização, os extratos foram caracterizados quanto às suas atividades, conforme mostra a Tabela IV.2.

Apesar de concentrados por liofilização a atividade tanase permaneceu inferior à do extrato comercial e o extrato hidrolase não mostrou atividade tanase, sendo a atividade poligalacturonase a predominante.

Tabela IV.2 – Atividade enzimática das enzimas CTAA

Enzima	**Tanase (U/mL)**	**hidrolase (U/mL)**
Poligalacturonase	2,6	25,9
Celulase cristalina	0	0,02
Celulase amorfa	0	0,5
Xilanase	0,1	0, 3
Tanase	453,3	-
α - amilase	0	0,03

(-) não detectado

IV.2 – SUCO DE CAJU PROCESSADO SEM ENZIMA

As determinações analíticas realizadas na polpa, na alimentação e no suco clarificado do processamento sem adição de enzima (C1) estão apresentadas na Tabela IV.3.

Tabela IV.3 - Características da polpa, da alimentação e do suco clarificado do processamento sem a adição de enzimas.

Parâmetro	Polpa	Alimentação	Clarificado
Vitamina C (mg ácido ascórbico/100g)	171	160	153
Sólidos solúveis (°Brix)	11,0	11,1	10,4
Acidez (g ácido málico/100g)	0,55	0,55	0,48
pH	4,03	4,06	3,96
Taninos totais (mg/100g)	0,63	0,65	0,64
Taninos condensados (mg/100g)	0,27	0,33	0,34
Taninos hidrolisáveis (mg/100g)	0,36	0,32	0,30
Turbidez (NTU)	10,9	8,86	2,33
L_{Hunter}	98,9	99,1	99,8
a_{Hunter}	-0,5	-0,1	-0,4
b_{Hunter}	2,2	1,5	1,5

L_{HUNTER} (0 = preto, 100 = branco)
a_{HUNTER} (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b_{HUNTER} (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo)

O teor de sólidos solúveis do suco clarificado apresentou uma pequena redução em relação ao da polpa *in natura* (5,4%), devido ao fato da membrana reter parte dos sólidos em suspensão, maiores que 0,3μm. Segundo SAMPAIO (1990), parte das macromoléculas constitutivas do fruto ou outros sólidos insolúveis tende a ser descartada, durante a fase de filtração, deixando, portanto, de interferir nas propriedades refratométricas dos sólidos solúveis.

A média de perdas do ácido ascórbico durante o processamento do suco foi de 10%, considerando-se o suco clarificado em relação à polpa *in natura*. Apesar da redução, o teor de vitamina C do suco clarificado ainda encontra-se na mesma faixa que os valores determinados por SILVA (1998_a). A redução de ácido ascórbico no suco clarificado se deve, provavelmente, ao aquecimento e à incorporação de ar, causada pela agitação do suco no decorrer do processo, facilitando os processos de oxidação.

Comparando a turbidez do suco clarificado com a da polpa centrifugada, observou-se uma grande redução (78,6%), devido à retenção dos sólidos em suspensão pela membrana de microfiltração, comportamento observado também para o teor de sólidos solúveis no suco clarificado.

De acordo com a classificação para sucos de caju, estabelecida em PRICE *et al.* (1975), o conteúdo de taninos e de ácido málico encontrados no suco de caju, no presente trabalho, podem classificá-lo como do tipo adstringente.

NAIR *et al.* (1979) descrevem que a adstringência, acidez e sabor acre do caju ocorrem em decorrência de cerca de 0,35% de tanino e de outras substâncias presentes no pedúnculo, tendo comprovado que o tanino decresce com o aumento do teor de ácido ascórbico do fruto maduro.

MENEZES (1999) observou que a maior concentração de taninos condensados foi encontrada no material fibroso da polpa de caju, que foi grandemente reduzida pela centrifugação da polpa (93,33%), diminuindo também a turbidez (71,47%).

A análise de cor instrumental foi inicialmente realizada com a polpa *in natura* (Tabela IV.4), porém, para se ter um parâmetro de comparação entre a polpa *in natura* e o suco clarificado optou-se por fazer as análises com o suco de caju centrifugado.

Tabela IV.4 – Análise de cor instrumental na polpa *in natura sem* centrifugação

Amostra	L_{HUNTER}	a_{HUNTER}	b_{HUNTER}
In natura	8,09	1,22	4,72

L_{HUNTER} (0 = preto, 100 = branco)
a_{HUNTER} (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b_{HUNTER} (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo)

IV.3 – TESTES PRELIMINARES: MENORES CONCENTRAÇÕES DA ENZIMA TANASE

Na Tabela IV.5 estão apresentados os resultados obtidos para a polpa de caju e para o suco clarificado, obtidos nos processamentos com adição da enzima tanase nas concentrações de 0,01% v/v (C2); 0,02% v/v (C3) e 0,03% v/v (C4).

Em relação à vitamina C, houve uma redução média de 13,2% da polpa (P) para o suco clarificado (C), devido ao aquecimento durante o tratamento enzimático. O equipamento utilizado para o tratamento enzimático possui termostato, porém o sistema de resfriamento não é automático, o que torna difícil o controle exato da temperatura, que pode variar de 32° a 38°C.

Em trabalho de SOUZA FILHO (1987) foi verificada uma queda no teor de vitamina C de 23,6% no suco clarificado de caju em relação ao suco integral. Portanto, a redução de 13,2% está dentro do que tem sido citado na literatura.

Considerando-se os teores de vitamina C do suco que vai para a alimentação (A) do sistema de membrana e do suco clarificado (C) houve uma perda de 3,7%. Resultados semelhantes foram obtidos em MATTA (1999) que, na clarificação de suco de acerola, verificou uma perda de 5,7%, sendo atribuída à clarificação por membranas.

O pH dos sucos clarificados não apresentou diferença em relação ao da polpa original, concluindo que os tratamentos em questão não modificaram o pH, porém na acidez do suco clarificado, com ou sem a enzima, houve uma redução

Tabela IV.5 – Características físico-químicas do suco clarificado com enzima comercial em baixas concentrações.

Determinações	C2 0,01%			C3 0,02%			C4 0,03%		
analíticas	P*[1]	A*[2]	C*[3]	P	A	C	P	A	C
Vitamina C (mg/100g)	166	156	156	158	147	148	169	135	123
Sólidos solúveis (°Brix)	11,0	10,3	10,2	11	11	11	10,9	11	10,5
Acidez (g ácido málico/100g)	0,58	0,53	0,49	0,62	0,57	0,56	0,58	0,58	0,50
pH	3,97	3,99	3,97	3,93	3,93	3,93	3,96	3,95	3,92
Taninos totais (mg/100g)	0,38	0,59	0,33	0,37	0,54	0,37	0,32	0,47	0,25
Taninos condensados (mg/100g)	0,19	0,41	0,12	0,24	0,52	0,27	0,05	0,28	0,10
Taninos hidrolisáveis (mg/100g)	0,19	0,18	0,212	0,128	0,018	0,100	0,27	0,20	0,149
Turbidez (NTU)	8,07	12,7	1,13	3,3	14	1,65	10	23	1,85
L_{Hunter}	99,1	97,7	99,5	99,5	99,4	99,9	98,9	98,8	99,5
a_{Hunter}	-0,4	-0,6	-0,6	-0,5	-0,6	-0,6	-0,4	-0,9	-0,4
b_{Hunter}	1,9	2,0	1,7	1, 7	1,7	1,7	1,7	1,8	1,7

L_{HUNTER} (0 = preto, 100 = branco)
a_{HUNTER} (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b_{HUNTER} (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo)

*[1] P = polpa
*[2] A = alimentação
*[3] C = clarificado

O pH dos sucos clarificados não apresentou diferença em relação ao da polpa original, concluindo que os tratamentos em questão não modificaram o pH, porém na acidez do suco clarificado, com ou sem a enzima, houve uma redução média de 13% em relação à da polpa *in natura*, o mesmo acontecendo para o suco sem tratamento enzimático. O declínio verificado após a etapa de clarificação pode ter sido causado pela perda de parte dos polipeptídeos associados ou não a polissacarídeos presentes naturalmente no fruto e conseqüentemente na polpa.

A luminosidade dos sucos clarificados com tratamento enzimático ou sem enzima apresentou um leve aumento em relação à da polpa centrifugada, sendo explicado pela retenção na membrana de sólidos em suspensão no suco de caju. Neste estudo não foi possível precisar se o tratamento enzimático foi eficaz para esta característica.

Em relação às variáveis de cor (a e $b/_{HUNTER}$), em comparação com o resultado obtido para a polpa in natura e para as amostras do processo, sem e com enzima (Tabela IV.3 e IV.5), mostra que a coloração do suco de caju se deve principalmente ao teor de polpa do mesmo, pois os carotenóides, hidrocarbonetos responsáveis pelas cores amarelo, laranja e vermelho em frutos, se encontram no interior das células e o tratamento enzimático em questão não promoveu a hidrólise das paredes celulares. Os tratamentos enzimáticos portanto, não influenciaram na cor do clarificado.Pode-se observar, nas Figuras IV.1 e IV.2 que, para estes experimentos, os sucos hidrolisados (etapa alimentação) apresentaram maiores concentrações de taninos que a polpa que lhes deu origem.

Pode-se observar, nas Figuras IV.1 e IV.2 que, para estes experimentos, os sucos hidrolisados (etapa alimentação) apresentaram maiores concentrações de taninos que a polpa que lhes deu origem.

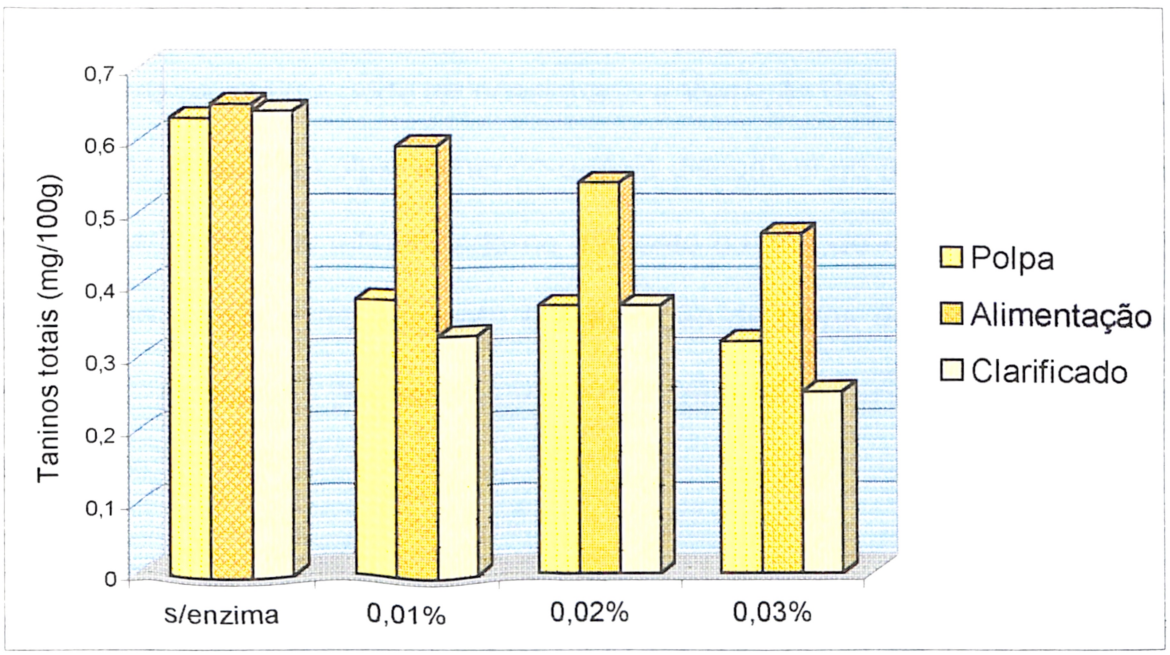


Figura IV.1 – Taninos totais do suco de caju nos processamentos com menores concentrações de tanase comercial e no processamento sem enzima.

O aumento da ordem de 33% no teor de taninos totais, nos tratamentos com enzima, entre as duas primeiras etapas do processamento foi, provavelmente, devido à ação enzimática na liberação dos polifenóis condensados, uma vez que no tratamento sem enzima houve um aumento de apenas 3% entre as duas primeiras etapas.

Os valores do teor de taninos condensados, encontrados na polpa hidrolisada (alimentação) dos tratamentos com enzima, aumentaram mais do que duas vezes em relação ao respectivo valor original na polpa *in natura*. Já para o ensaio sem enzima, este aumento foi de 22% em relação à polpa.

O uso da enzima pode ter ocasionado a liberação dos taninos que estavam aderidos às fibras da polpa, tornando-o mais disponível no meio aquoso. Outros fatores que podem ter influenciado no aumento do teor de taninos, na etapa de alimentação, foram o aquecimento e a agitação da polpa devido ao tratamento enzimático, já que um pequeno aumento também foi observado no ensaio sem enzima.

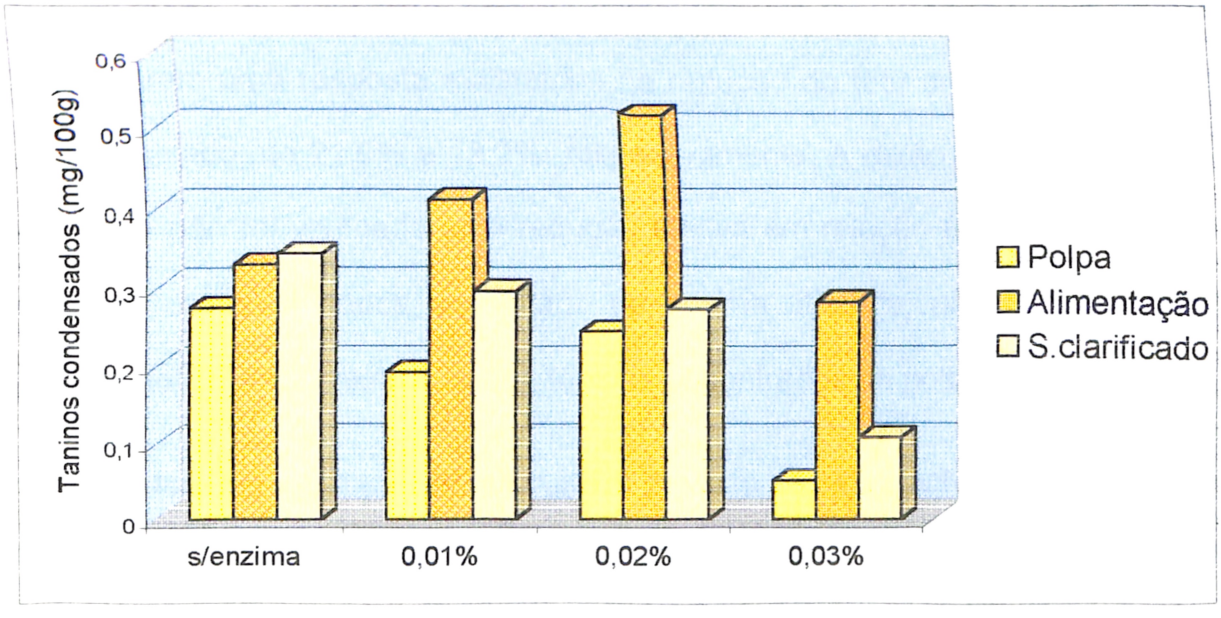


Figura IV.2 – Taninos condensados do suco de caju nos processamentos com menores concentrações de tanase comercial e no processamento sem enzima.

Em BRASIL *et al.* (1995) realizaram um tratamento de liquefação da polpa de goiaba, utilizando-se 600 ppm de enzima pectinolítica a 45°C, durante 120 minutos e também observaram um aumento do teor de taninos na ordem de 11,5%.

Entre a fase de polpa hidrolisada (alimentação) e o suco clarificado, nos experimentos com enzima, houve uma redução média de 45% para taninos totais e de 61% para taninos condensados, o que não foi observado no tratamento sem enzima. De acordo com este resultado pode-se verificar que a membrana, provavelmente, reteve boa parte dos taninos que a enzima disponibilizou no suco de caju, não sendo verificada nenhuma retenção no ensaio sem enzima.

Portanto, os resultados para as concentrações de 0,03% e 0,01% tanase apresentaram uma resposta satisfatória na redução do teor de taninos totais do suco clarificado, de 21,9% e 13,2%, respectivamente. A razão pela qual no suco clarificado não foi verifcada uma redução efetiva em relação à polpa de origem, pode ser devido à pouca quantidade de enzima utilizada, não suficiente para degradar totalmente a estrutura dos taninos encontrados na polpa de caju.

No tocante à turbidez nefelométrica do suco de caju clarificado com enzima, de acordo com os dados das Tabelas IV.3 e IV.5, verifica-se um decréscimo médio de 35,6% em relação ao suco clarificado sem enzima.

IV.3.1 – Desempenho dos processos

A medida do fluxo de água através da membrana em função da pressão permitiu a determinação da permeabilidade hidráulica antes de cada processo. Os experimentos foram realizados a uma vazão média de recirculação de 1.125L/h e o valor médio obtido para a permeabilidade hidráulica da membrana foi de 1.209 L/hm² bar (Anexo.III).

As curvas de fluxo permeado do suco clarificado de caju com baixas concentrações enzimáticas e sem enzima pode ser visto na Figura IV.3. Após o declínio inicial do fluxo permeado, a microfiltração do suco de caju sem tratamento enzimático apresentou um fluxo médio estabilizado de 67L/hm², e nos processamentos com adição de enzima, o fluxo permeado variou de 84 a 117 L/hm², sendo o maior fluxo para o tratamento com 0,03% tanase.

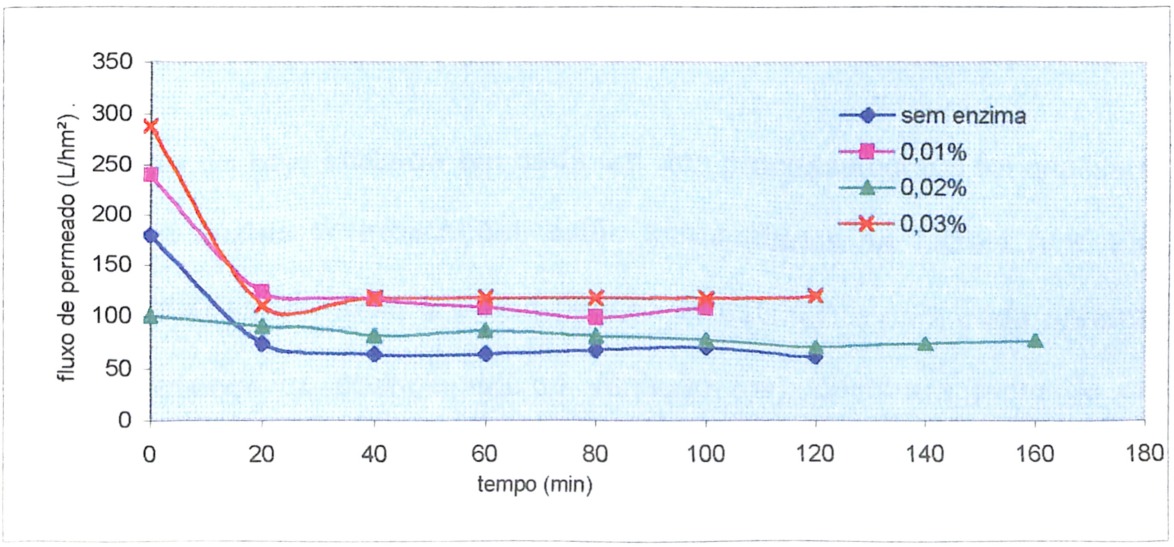


Figura IV.3– Fluxo permeado do suco de caju dos processamentos com menores concentrações da enzima tanase.

IV.3.1 – Desempenho dos processos

A medida do fluxo de água através da membrana em função da pressão permitiu a determinação da permeabilidade hidráulica antes de cada processo. Os experimentos foram realizados a uma vazão média de recirculação de 1.125L/h e o valor médio obtido para a permeabilidade hidráulica da membrana foi de 1.209 L/hm² bar (Anexo.III).

As curvas de fluxo permeado do suco clarificado de caju com baixas concentrações enzimáticas e sem enzima pode ser visto na Figura IV.3. Após o declínio inicial do fluxo permeado, a microfiltração do suco de caju sem tratamento enzimático apresentou um fluxo médio estabilizado de 67L/hm², e nos processamentos com adição de enzima, o fluxo permeado variou de 84 a 117 L/hm², sendo o maior fluxo para o tratamento com 0,03% tanase.

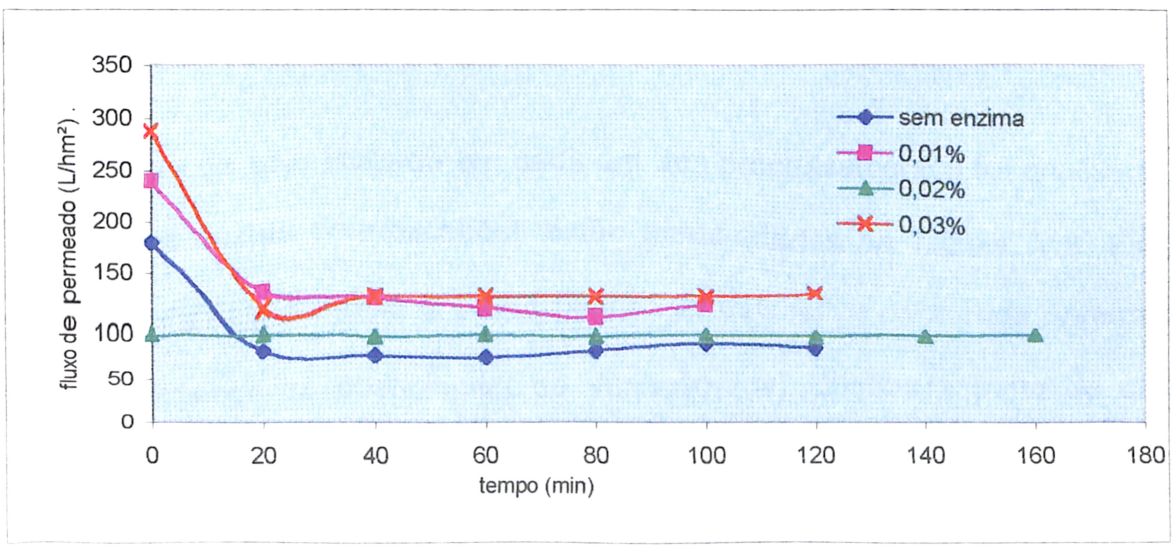


Figura IV.3– Fluxo permeado do suco de caju dos processamentos com menores concentrações da enzima tanase.

ITOUA GASSAYE *et al.* (1991) testaram membranas orgânicas e inorgânicas com tamanho de poro de 0,2μm e verificaram a influência do tratamento enzimático e da velocidade tangencial no desempenho da microfiltração de suco de abacaxi. O uso de enzimas melhorou sensivelmente o fluxo de permeado, porém este efeito foi reduzido a velocidades tangenciais mais elevadas.

IV.4 – TESTES DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Aqui estão apresentados os resultados obtidos nos processamentos do delineamento experimental, realizados com as enzimas Biopectinase CT e Biopectinase MB comerciais, comparando-os com os resultados obtidos no processamento sem o uso de enzimas.

IV.4.1 – Caracterização da polpa

A polpa de caju utilizada em cada um dos processamentos foi analisada e os resultados destas determinações estão apresentados na Tabela IV.6. Estes resultados mostram a média e o erro padrão da estimativa para cada parâmetro com seus respectivos coeficientes de variação (cv), obtidos a partir de cada análise, em triplicata, do conjunto do delineamento experimental.

Tabela IV.6 – Características médias da polpa de caju original

	Polpa de caju original	
Parâmetros	Média ± e*[1]	cv (%)*[2]
pH	3,96 ± 0,04	1,3
Acidez (g ac. málico/100g)	0,57 ± 0,02	5,4
Vitamina C (mg/100g)	158 ± 4	3,2
Sólidos solúveis(°Brix)	11,0 ± 0,2	3,5
Taninos totais (mg/100g)	0,57 ± 0,04	9,2
Taninos condensados (mg/100g)	0,32 ± 0,06	25,7
Turbidez (NTU)	9,9 ± 3,07	40,5
L_{HUNTER}	99,2 ± 0,85	1,1
a_{HUNTER}	- 0,31 ± 0,12	52,1
b_{HUNTER}	1,4 ± 0,35	32

L_{HUNTER} (0 = preto, 100 = branco)
a_{HUNTER} (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b_{HUNTER} (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo)
*[1]– erro padrão da estimativa
*[2] – coeficiente de variação

Como observado, os valores de taninos condensados, turbidez e cor instrumental (a e b/ $_{HUNTER}$) não puderam ser avaliados quanto ao valor estimado para as diferentes etapas, pois este só é aplicável quando, tanto o erro padrão da estimativa (e) quanto o coeficiente de variação (cv), relativos à média dos valores iniciais, são pequenos. Para estes parâmetros, então, foi usado o índice relativo, que dá a variação percentual do parâmetro em relação ao da origem.

IV.4.2 – Características dos sucos clarificados

Os valores estimados da maioria dos parâmetros obtidos para as características dos sucos clarificados encontram-se na Tabela IV.7.

Tabela IV.7 - Características do suco de caju clarificado com enzimas em todos os ensaios do delineamento experimental

Ensaio	Vitamina C (mg/100g)	pH	Sólidos solúveis (°Brix)	Acidez (g/100g) (ácido málico)	Taninos totais (mg/100g)	L_{HUNTER}
C6	158	3,97	11,0	0,60	0,59	100,4
C7	140	3,94	10,3	0,52	0,68	100,6
C8	154	3,95	10,5	0,52	0,63	100,31
C9	147	3,98	10, 7	0,48	0,63	100,1
C10	146	3,95	10,2	0,54	0,64	103,5
C11	151	4,04	10,1	0,53	0,74	102,0
C12	136	4,07	10,6	0,44	0,47	101,0
C13	143	3,92	11,0	0,48	0,79	99,9
C14	144	3,93	10,0	0,52	0,70	101,0

L_{HUNTER} (0 = preto, 100 = branco)

Na Tabela IV.8 encontram-se os índices relativos, obtidos pela equação II.3, concernentes à turbidez, aos taninos condensados e às variáveis de cor (a e b/ $_{HUNTER}$) do suco clarificado em relação à polpa que lhes deu origem (polpa = 1).

Tabela IV.8 – Parâmetros do suco clarificado obtidos pelo índice Relativo

ensaios	Turbidez	Taninos condensados	a HUNTER	b HUNTER
C6	0,15	1,56	0,8	1,1
C7	0,23	2,94	2,3	0, 9
C8	0,43	1,86	2,3	1,2
C9	0,28	1,28	4	1,2
C10	0,10	1,93	0,6	0,4
C11	0,19	1,69	1,6	0,5
C12	0,39	0,15	0,6	0,8
C13	0,33	2,10	1,3	1,1
C14	0,13	1,96	0,4	0,7

a HUNTER (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b HUNTER (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo)

A variação da concentração das enzimas, bem como a interação entre elas, propostas no delineamento experimental deste trabalho, não exerceu efeito significativo ($p>0,05$) sobre os parâmetros analisados no suco clarificado, como pode ser observado nos gráficos de Pareto, mostrados nas Figuras IV.4 a IV.13. Entretanto, foram observados algumas diferenças significativas na análise de variância (Anexo IV), nos tratamentos propostos neste trabalho, porém não significativos para o suco clarificado.

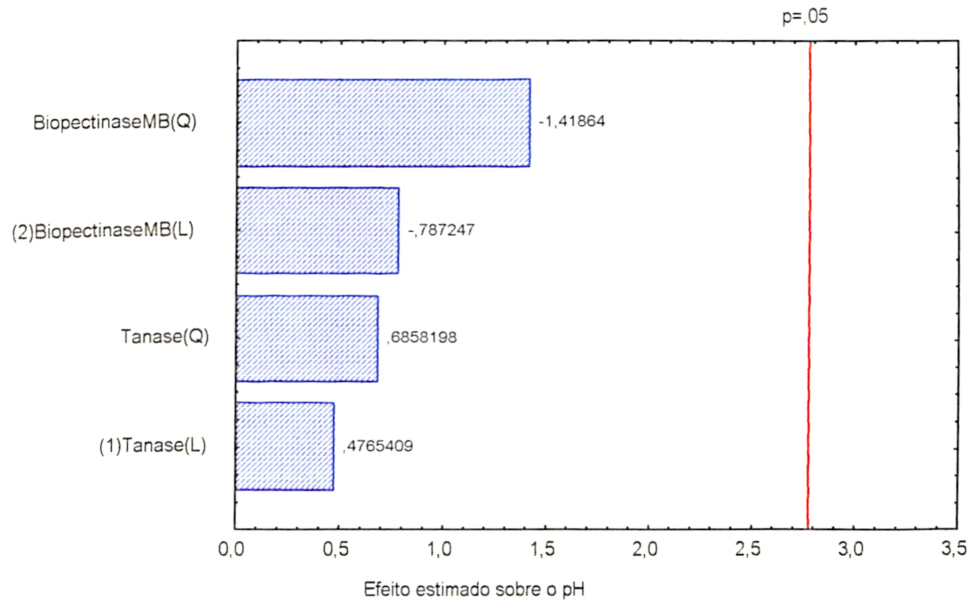


Figura IV.4 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o **pH** do suco de caju clarificado.

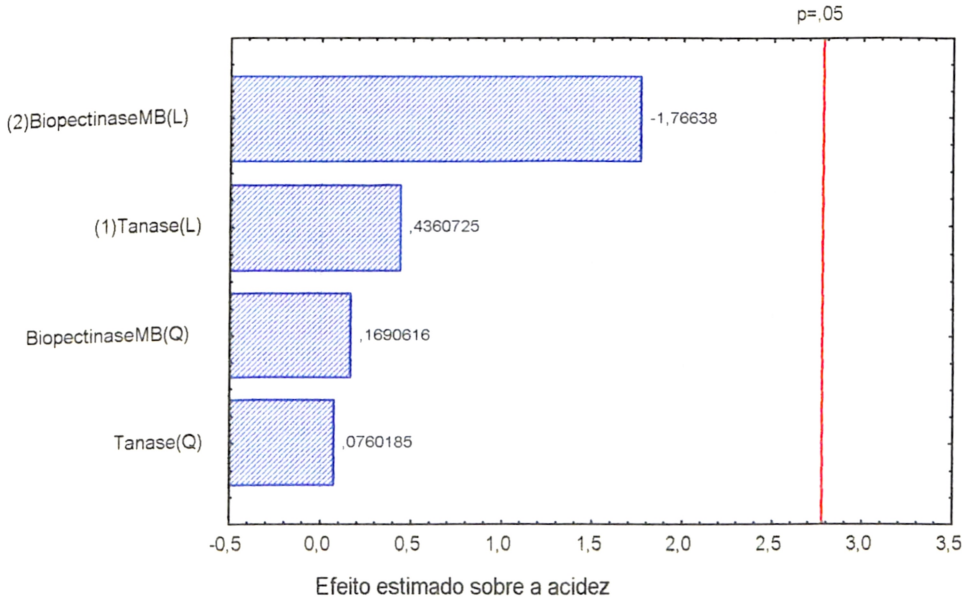


Figura IV.5 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a **acidez** do suco de caju clarificado.

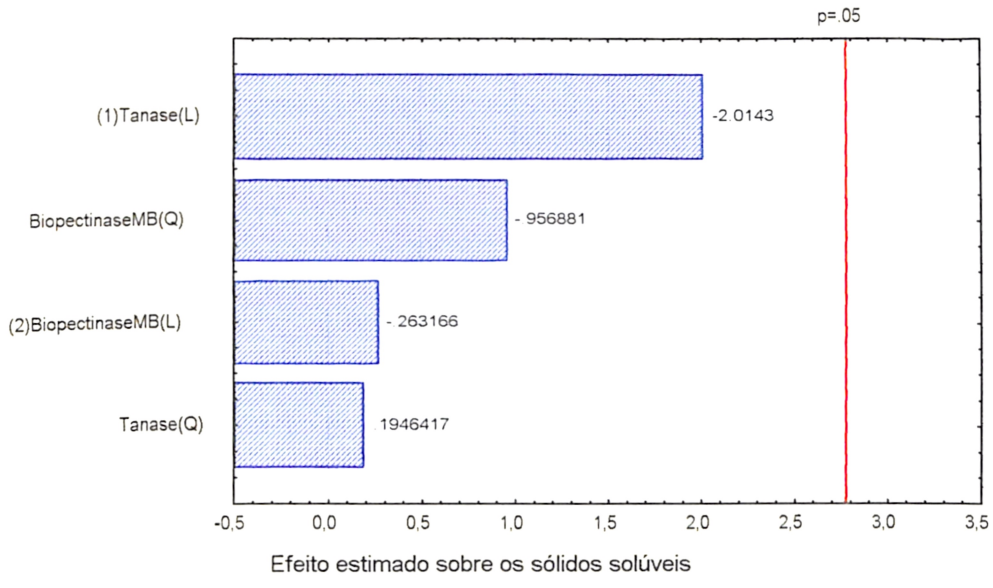


Figura IV.6 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o teor de **sólidos solúveis** do suco de caju clarificado.

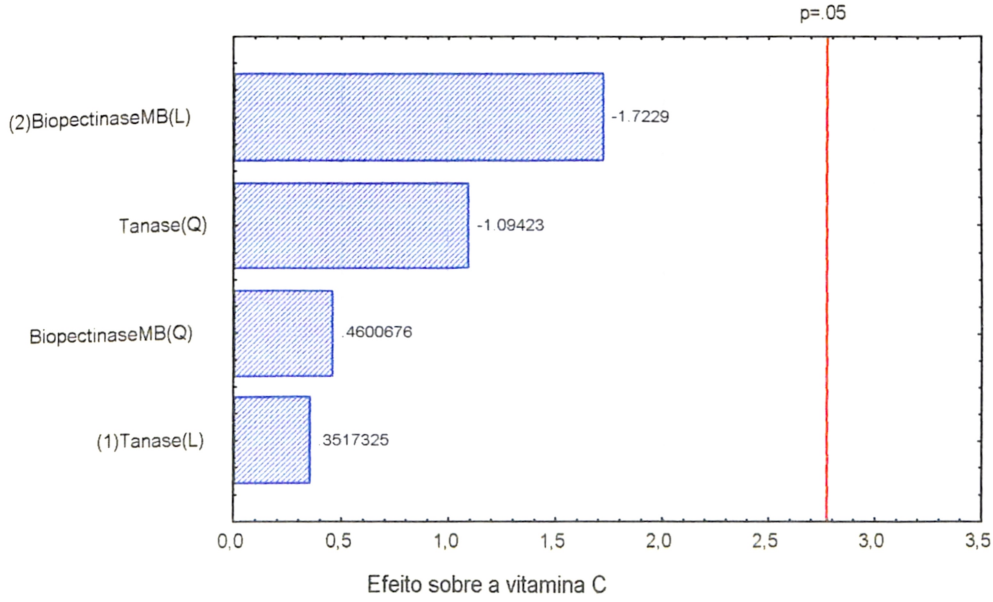


Figura IV.7 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o teor de **vitamina C** do suco de caju clarificado.

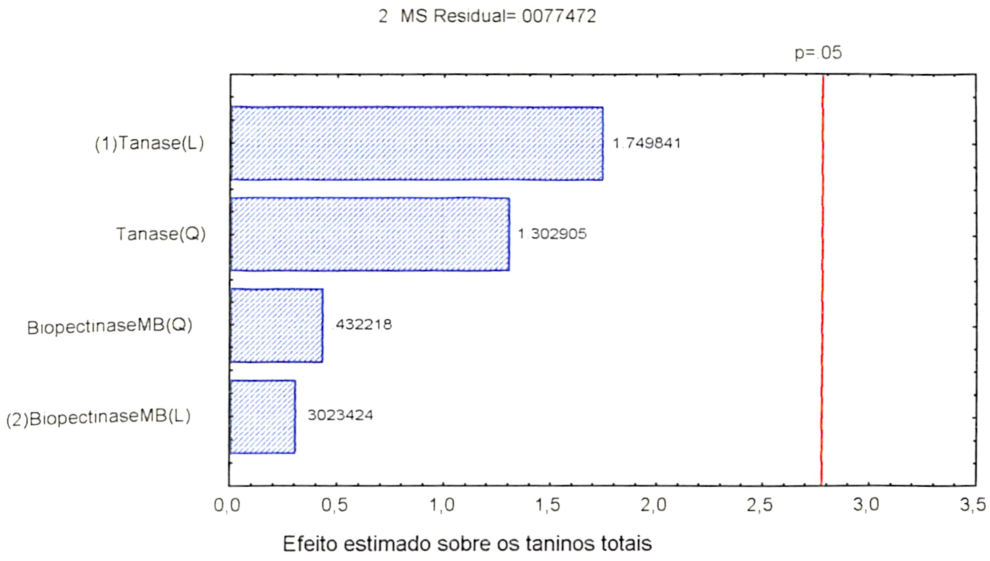


Figura IV.8 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o teor de **taninos totais** do suco de caju clarificado.

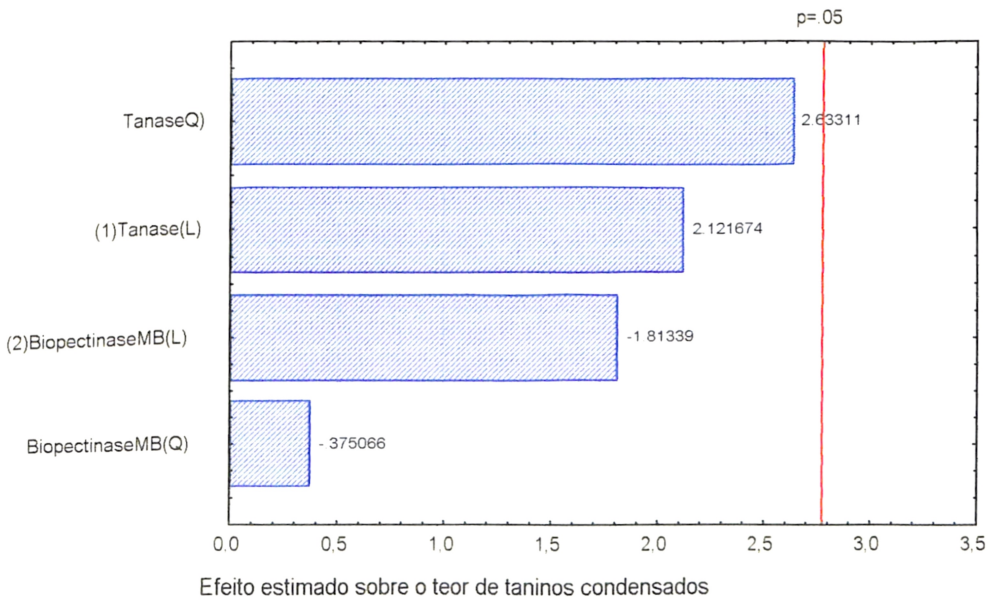


Figura IV.9 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o teor de **taninos condensados** do suco de caju clarificado.

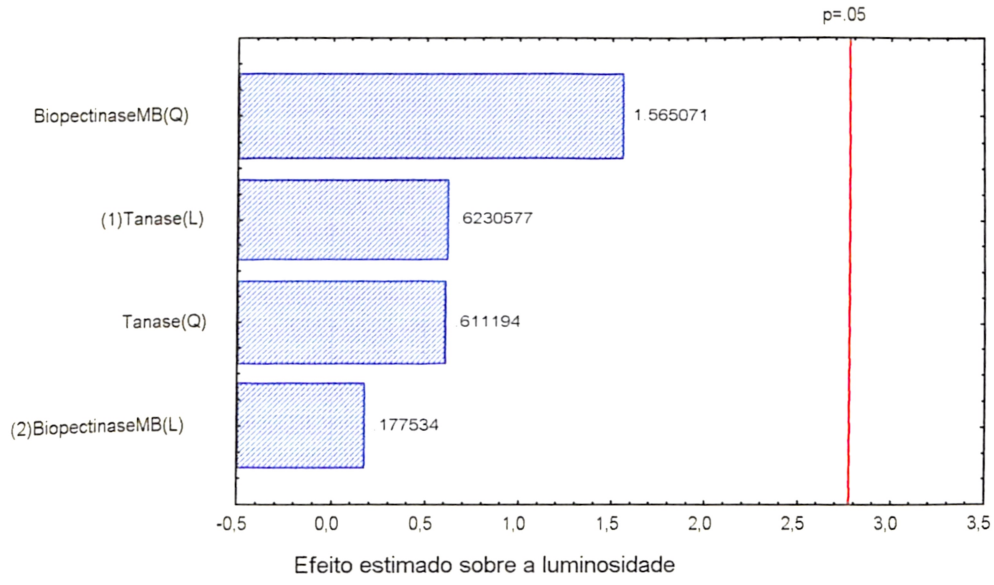


Figura IV.10 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a **luminosidade** do suco de caju clarificado.

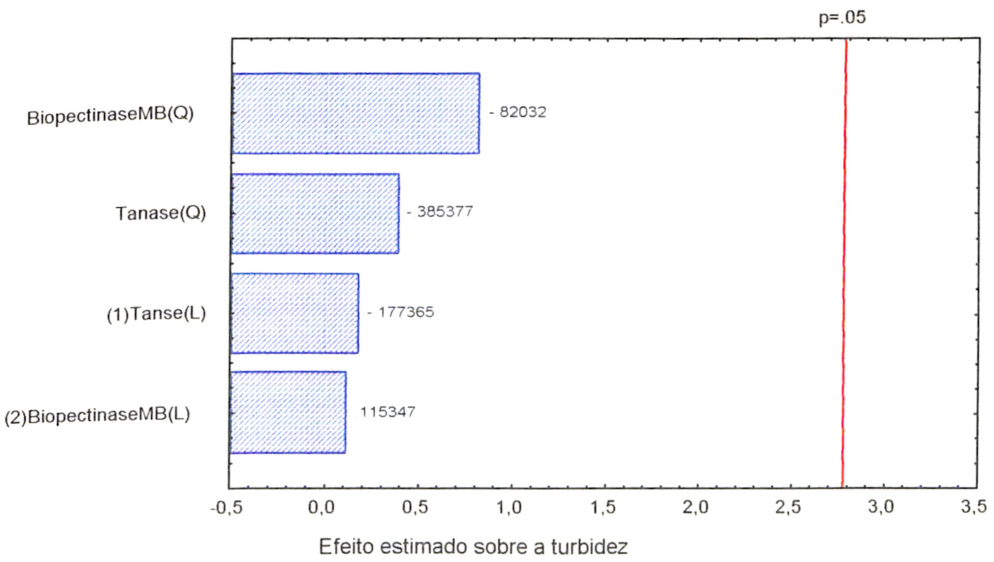


Figura IV.11 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a **turbidez** do suco de caju clarificado.

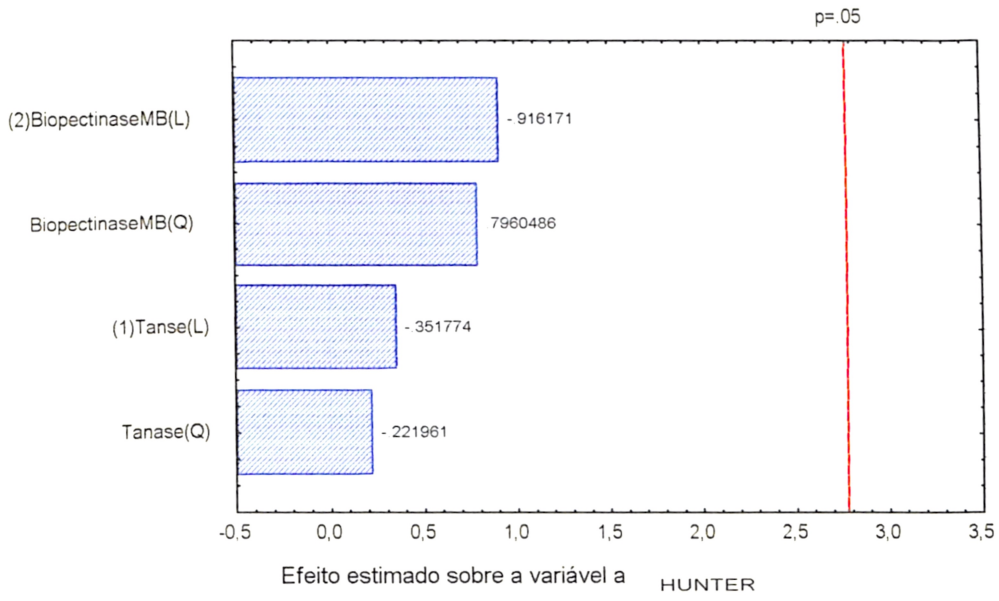


Figura IV.12 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a variável de cor a_{HUNTER} do suco de caju clarificado.

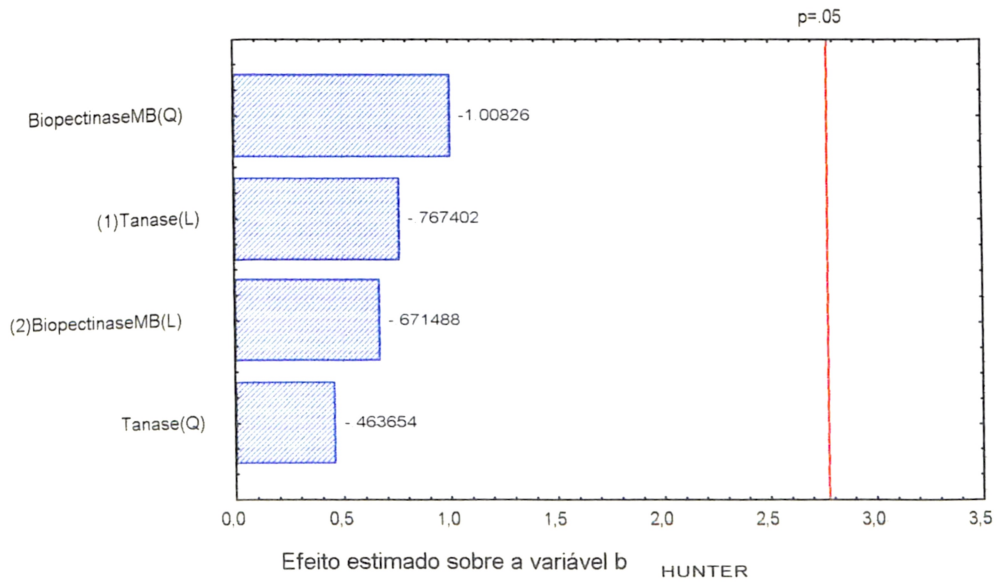


Figura IV.13 - Estimativa do efeito das concentrações de Tanase e BiopectinaseMB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre a variável de cor b_{HUNTER} do suco de caju clarificado.

IV.4.3 – Avaliação das etapas do processo de clarificação

As características dos sucos de caju obtidos nas etapas foram estimadas conforme equação II.2, definida anteriormente. Os dados foram analisados tanto para os diversos processamentos quanto para as diferentes etapas em cada um deles. Pela análise de variância, verificou-se que algumas características do suco de caju apresentaram diferenças significativas (valores de F em Anexo IV) em função das etapas do processamento.

Com a aplicação do teste de Tukey aos valores das médias dos parâmetros estudados (Tabela IV.9), pode-se verificar em qual das etapas houve diferença significativa ($p<0,05$). Não houve, portanto, uma variação significativa para o pH em qualquer das etapas do processo ($F=0,33$).

Quanto à acidez do produto, a análise de variância revelou que as etapas do processamento diferiram estatisticamente a 1% de significância (Anexo.II).

Observando-se a Tabela IV.9, a acidez do suco de caju apresentou um decréscimo significativo entre as fases de polpa hidrolisada e de suco clarificado, seguido de um acréscimo na etapa de polpa retida pela membrana. Com relação ao decréscimo observado entre as fases de polpa hidrolisada e suco clarificado, pode ser levado em consideração a perda de polipeptídeos associados ou não a polissacarídeos presentes na polpa e que ficam retidos. Fato que pode ser confirmado pelo aumento da acidez na etapa de polpa retida pela membrana. Este

comportamento também foi observado para os tratamentos com menores concentrações enzimáticas.

Tabela IV.9 – Valores médios (média ± erro padrão da estimativa[1]) dos parâmetros estudados nas diferentes etapas do processo

Parâmetros	P. aquecida	P. hidrolisada	S. clarificado	Retido
pH	3,96 ± 0,05^{a}	3,97 ± 0,02^{a}	3,97 ± 0,04^{a}	3,96 ± 0,03^{a}
Acidez (g ac.málico/100g)	0,57 ± 0,02^{b}	0,57 ± 0,02^{b}	0,51 ± 0,03^{c}	0,64 ± 0,04^{a}
Vitamina C (mg/100g)	159 ± 6^{a}	149 ± 5^{b}	147 ± 5^{b}	151 ± 8^{ab}
Sol.solúveis (°Brix)	10,9 ± 0,3^{ab}	11,0 ± 0,3^{a}	10,5 ± 0,3^{b}	11,0 ± 0,3^{a}
Taninos totais (mg/100g)	0,61 ± 0,02^{b}	0,67 ± 0,03^{b}	0,65 ± 0,07^{b}	0,70 ± 0,05^{a}
Tan. cond. (I.R.)[2]	1,39 ± 0,28^{b}	2,26 ± 0,70^{b}	1,72 ± 0,57^{b}	4,94 ± 1,57^{a}
Turbidez (I.R.)[2]	1,2 ± 0,5^{b}	5,1 ± 3,8^{a}	0,2 ± 0,1^{c}	3,6 ± 1,4^{ab}
L_{HUNTER}	99,2 ± 1,2^{a}	95,4 ± 2,3^{b}	101,0 ± 0,9^{a}	96,1 ± 1,5^{b}
a_{HUNTER} (I.R.)[2]	1,1 ± 0,3^{a}	1,0 ± 0,4^{a}	1,5 ± 0,9^{a}	0,9 ± 0,8^{a}
b_{HUNTER} (I.R.)[2]	1,2 ± 0,4^{a}	1,8 ± 0,4^{b}	0,9 ± 0,2^{a}	2,1 ± 0,5^{b}

1 - Nível de confiança de 95% utilizando-se o teste de Tukey a 5%.
2 – Índice Relativo

MENEZES (1999) também verificou que, com a tanase na concentração de 0,1%, houve uma pequena redução da acidez, porém nas concentrações de 0,3% e 0,9% houve um acréscimo, devido à hidrólise dos taninos e conseqüente liberação de ácidos gálicos e elágicos.

Em relação à vitamina C, houve uma redução significativa ($p<0,05$) entre as etapas de polpa aquecida e polpa hidrolisada, devido provavelmente ao tempo de aquecimento e agitação durante o tratamento enzimático, pois o teor médio de vitamina C na polpa foi semelhante ao da polpa aquecida. A etapa de separação na membrana não afetou o teor de vitamina C, haja visto que as médias não diferiram significativamente nas etapas de polpa hidrolisada, clarificado e retido. As perdas de vitamina C no suco clarificado ficaram na ordem de 7% em relação à polpa *in natura*.

Em RODRIGUES *et al.* (2001) utilizando membranas tubulares da Koch Membrane System, nas mesmas condições de processo do presente trabalho, foi obtido excelente resultado para o teor de vitamina C que reduziu apenas 0,53%, além de uma redução de 65,8% na turbidez do suco clarificado de camu-camu.

Para taninos condensados e totais as análises de variância apresentaram diferença no nível de 1% de significância entre as fases dos processos (Anexo.II). Conforme resultados do teste de Tukey aplicado aos contrastes entre médias, foi verificado que somente o retido, de ambos parâmetros, diferiu das demais etapas.

Embora estatisticamente, os taninos condensados, não tenham apresentado diferença significativa em relação à polpa aquecida pode-se verificar que houve uma considerável diferença em relação à polpa *in natura* (Tabela IV.3). Pode-se observar, pelas Figuras IV.14 e IV.15, que houve um comportamento igual para todos os processamentos, pois a polpa apresentou o menor teor de taninos (totais e condensados), como já verificado nos experimentos com menores

concentrações de tanase. Houve um aumento médio entre a polpa e a polpa hidrolisada de 17,7% para taninos totais e de 126% para taninos condensados. Observou-se também que o tratamento sem enzima (C1) foi o que apresentou um menor acréscimo (3,1% taninos totais e 22% taninos condensados) entre a polpa e a polpa aquecida por igual tempo ao do tratamento enzimático como visto na Tabela IV.3. Este fato pode ser mais um indício de que a enzima atuou sobre os taninos.

Entre a polpa e a polpa aquecida dos processos com enzimas, também pode-se observar um aumento da ordem de 7% para os taninos totais e de 39% para os taninos condensados. O que, provavelmente, aumentou a disponibilidade dos taninos, devido ao aquecimento e agitação no vaso multipropósito, ocasionado pelo tratamento enzimático. Contudo, não foi encontrado qualquer dado na literatura que explicasse este comportamento.

Em trabalhos de alguns pesquisadores, verificou-se um aumento no teor de taninos quando utilizando enzimas pécticas, não sendo possível verificar se foi o aquecimento, devido ao tratamento enzimático, ou o efeito enzimático sobre a polpa da fruta, o que causou este aumento (BRASIL *et al.*, 1995; IMUNGI *et al.*, 1980).

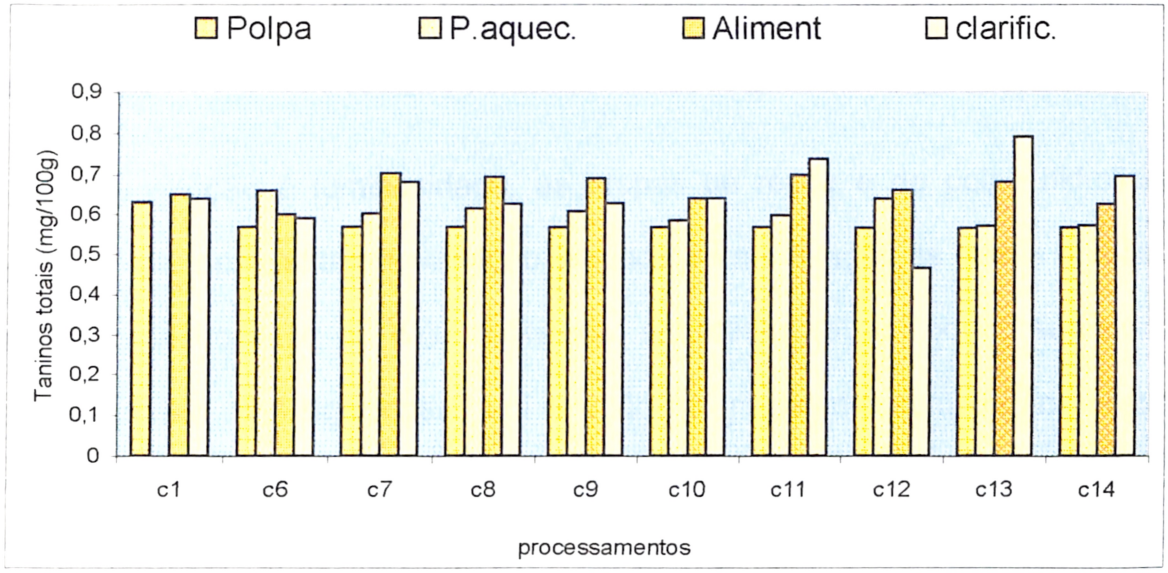


Figura IV.14 – Comportamento dos teores de taninos totais do suco de caju nas diferentes etapas de processamento dentro dos diferentes experimentos.

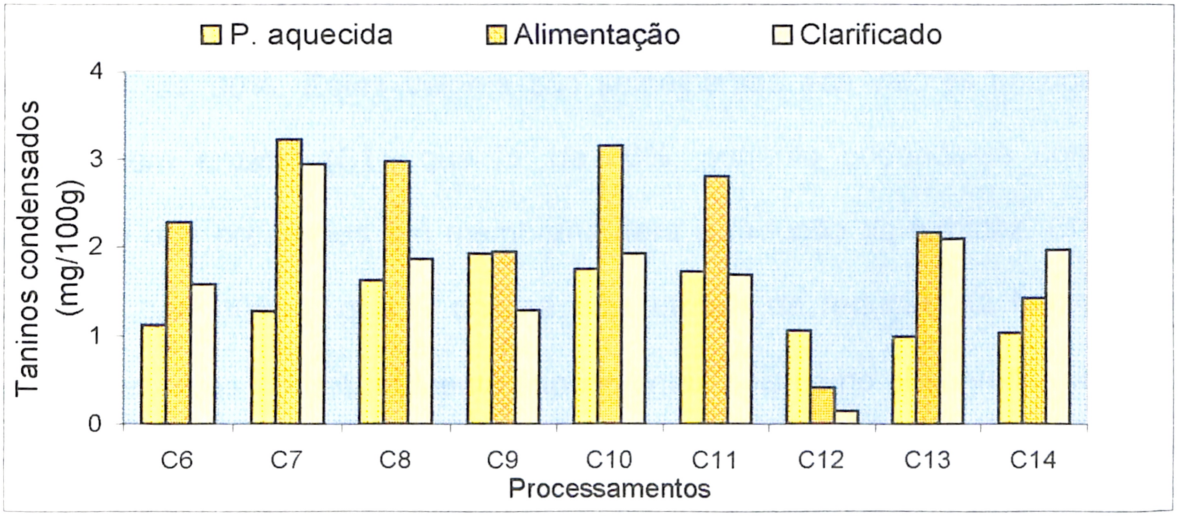


Figura IV.15 – Índices relativos para taninos condensados do suco de caju em relação à polpa original (polpa = 1) nas diferentes etapas dos processamentos.

Devido ao aumento do teor de taninos e à grande variação encontrada na polpa *in natura* para os taninos condensados, não foi possível a avaliação dos

taninos hidrolisáveis pelos tratamentos estatísticos efetuados nos demais parâmetros.

Em relação à luminosidade, as etapas de retido e de polpa hidrolisada foram as que apresentaram variação significativa em relação às outras etapas. A luminosidade do suco de caju clarificado, entretanto, foi um pouco superior as demais, porém não significativa em relação ao tratamento sem enzima (Tabela IV.3) e ao suco clarificado enzimaticamente (Tabela IV.5).

A turbidez nefelométrica do suco clarificado, de acordo com os dados obtidos no teste de Tukey (Tabela IV.9), apresentou uma redução significativa em relação às demais fases. A redução entre a polpa aquecida e o suco clarificado foi da ordem de 80%. Estes valores são semelhantes aos valores obtidos com o ensaio sem enzima (C1), que foi de 76%, portanto podendo-se constatar a eficiência dos processos em membrana para a redução da turbidez. Entretanto, não se pode afirmar que a enzima seja efetiva na redução da turbidez, nos processamentos do delineamento experimental, pois como observado, houve um aumento da turbidez na polpa hidrolisada em todos os processos do delineamento e um aumento do teor de taninos no suco clarificado.

De acordo com HEATHERBELL (1984), os polissacarídeos, incluindo pectina, amido, gomas, assim como as proteínas, os lipídios, os polifenóis e os cátions polivalentes, como: Fe, Cu, Al e Ca, são as principais classes de compostos que conferem a turbidez aos sucos e formação de sedimento após o processo de clarificação.

MANGAS *et al.* (1997), clarificando suco de maçã por dois tipos de membranas inorgânicas de MF e UF com fluxo tangencial, avaliaram a diferenciação dos compostos fenólicos encontrados no suco clarificado em relação ao tempo de processo (1; 2,5 e 4 horas), tipo de membrana (0,14μm e 50.000 MWCO) e temperatura (20° e 50°C). A procianidina B1, o ácido clorogênico e um pico desconhecido, provavelmente um derivado hidroxicinâmico, foram influenciados pelo tipo de membrana e pela elevação da temperatura, ocorrendo um aumento da procianidina e do ac. clorogênico com a membrana de UF e o contrário com o pico desconhecido. A epicatequina e a plorodizina foram influenciadas pelo tempo de processo, aumentando com o aumento do mesmo. Em contrapartida, a cor do produto foi influenciada pela temperatura, tempo de processo e tipo de membrana. Outras variáveis sensoriais como odor e sabor não foram afetadas significativamente. Sendo assim, o produto mais estável entre os estudados foi obtido pelo processo de ultrafiltração à temperatura de 20°C, embora o decréscimo do fluxo à baixa temperatura possa ser um fator limitante para o custo do processo.

Não foi possível observar mudanças significativas na variável a_{HUNTER} (intensidade de cor verde) dentro das fases, devido ao elevado erro padrão da estimativa verificado nas mesmas. Em relação à variável b_{HUNTER} (intensidade de cor amarela), pode-se observar que, no suco clarificado, houve uma tendência de ser menor do que no suco *in natura*, visto que a polpa considerada para esta

análise tem valor igual a um (P=1,0), porém as etapas de polpa aquecida e suco clarificado não diferiram significativamente.

IV.4.4 – Desempenho dos processos

A medida do fluxo permeado é essencial para os estudos de escalonamento e avaliação da produtividade e viabilidade do processo.

As curvas de fluxo permeado em função do tempo, para todos os processamentos do delineamento, além do teste sem adição de enzima, são mostradas na Figura IV.16.

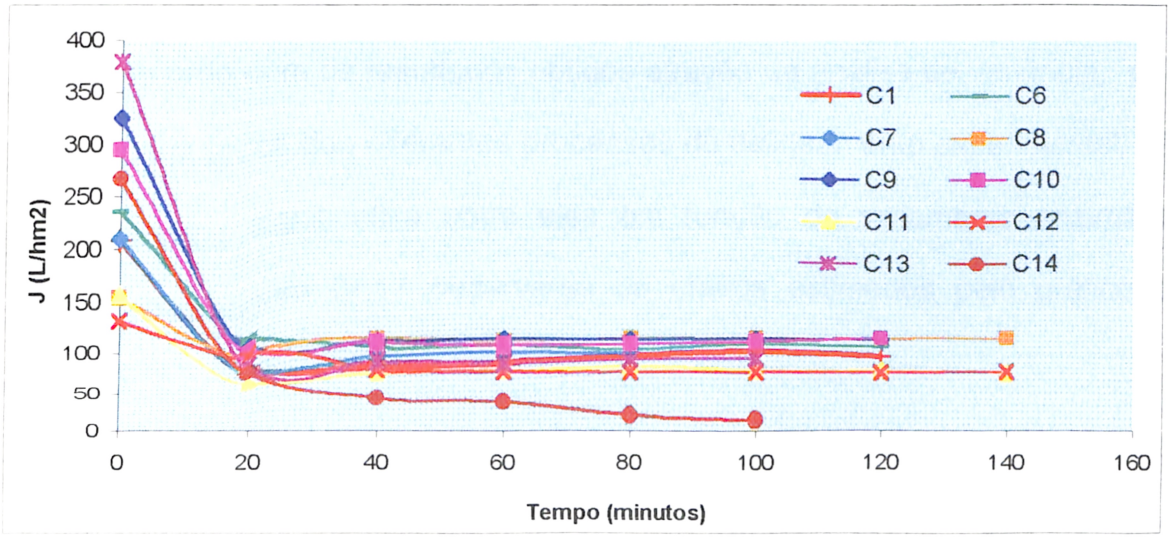


Figura IV.16 - Fluxo permeado em função do tempo de processo para a microfiltração do suco de caju com e sem adição de enzima (C6 a C14 e C1, respectivamente).

As curvas obtidas apresentaram o comportamento esperado para sistemas de filtração em membranas. Os fluxos iniciais, no tempo zero, foram altos, diminuindo rapidamente até um patamar, no qual se estabilizaram, após a compactação das macromoléculas na membrana, em torno de 20 minutos de processo. O fluxo médio, no patamar estabilizado, com pressão de 200kPa, ficou em torno de 70L/hm^2, considerando todos os ensaios do delineamento. No ensaio sem enzima o fluxo permeado médio foi de 67L/hm^2. O tratamento utilizando 0,15% de tanase e 0,02% de Biopectinase MB apresentou um comportamento diferente, o que pode ser justificado pelo fato de ter sido utilizada uma membrana nova.

De acordo com os resultados obtidos através da análise de variância, para os fluxos permeados dos diferentes processos do delineamento experimental, não houve diferença significativa entre eles em função do tratamento enzimático (Anexo.V). Na Figura IV.17 observa-se os efeitos estimados pelo gráfico de Pareto.

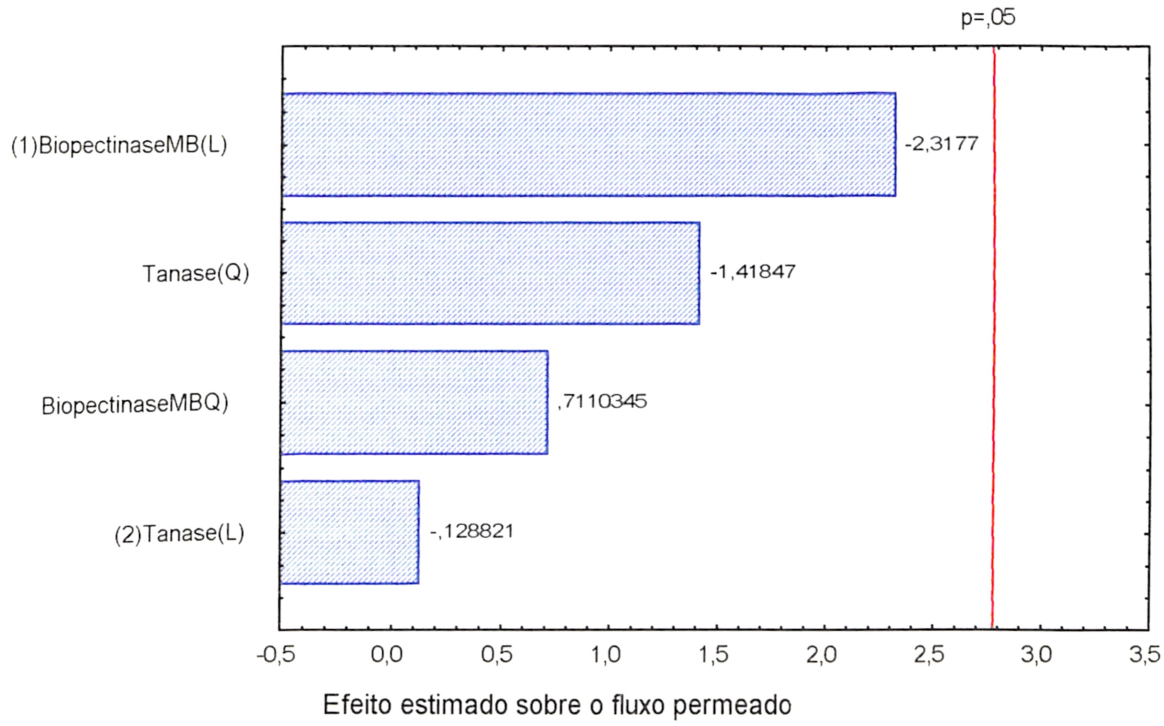


Figura IV.17 - Estimativa do efeito das concentrações de tanase e biopectinase MB em ajustes linear (L) e quadrático (Q) sobre o fluxo permeado do suco clarificado de caju.

Embora não significativa, houve uma tendência do fluxo permeado ser menor nos processos com a Biopectinase MB (Figura IV.18). Este estranho comportamento pode ter ocorrido devido á complexação do tanino com a enzima Biopectinase MB, pois, como citado em literatura, o tanino pode se complexar com proteínas enzimáticas (SHAHYDI & NACZK, 1995). Segundo McManus *et al.* (in: SHAHYDI & NACZK, 1995), proteínas com estrutura globular têm baixa afinidade com taninos, no entanto, proteínas em conformação aberta, tais como gelatina e poliprolina formam rapidamente complexos com taninos.

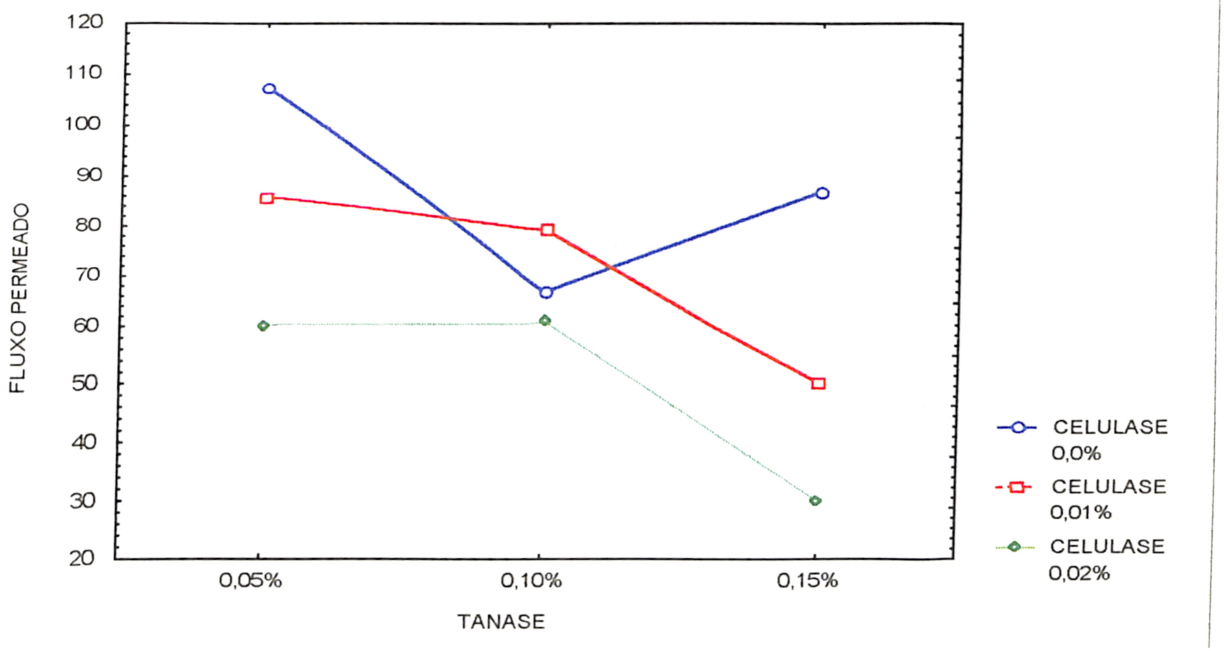


Figura IV. 18 – Diagrama de médias de fluxo permeado após estabilização observadas nos processos do delineamento experimental

Observando separadamente os processos apenas com a enzima tanase, foi verificado que o fluxo médio permeado aumentou para 81L/hm², sendo este aumento na ordem de 21,3% em relação ao ensaio sem adição de enzima (Figura IV.19).

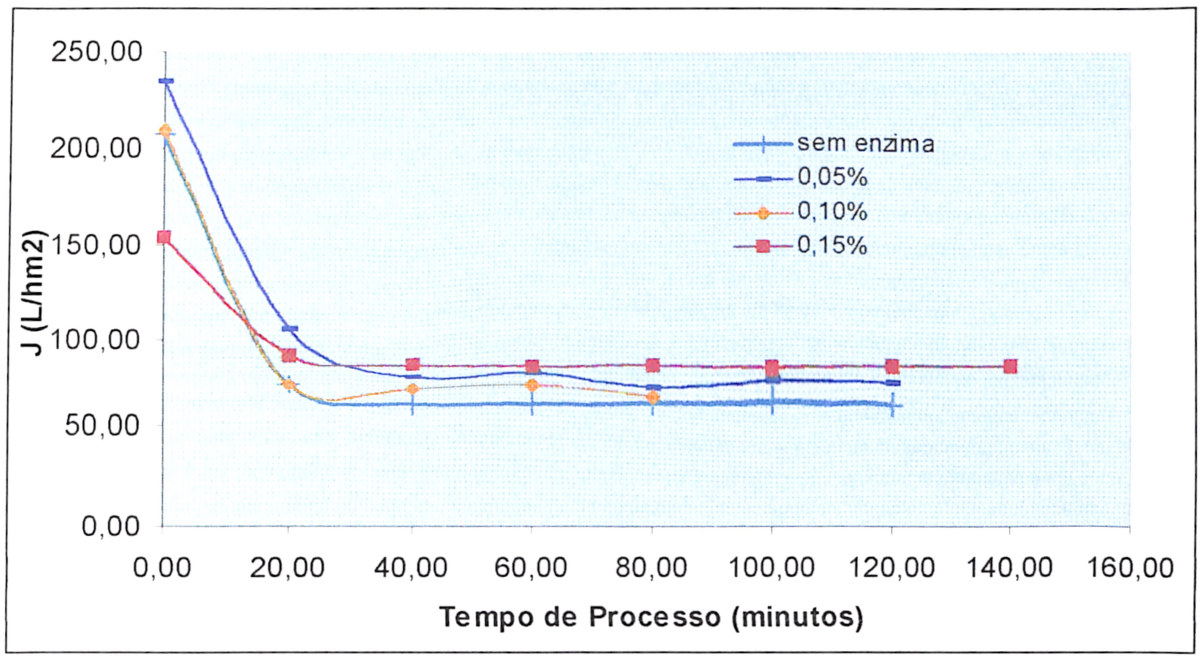


Figura IV. 19 – Fluxo permeado do suco de caju nos processamentos do delineamento experimental apenas com adição da enzima tanase e do ensaio sem enzima

RODRIGUES *et al.* (2001) realizaram um processo de clarificação da polpa de camu-camu utilizando membrana tubular com 0,05m² de área de permeação, com tamanho de poro de 0,3μm, sob pressão de 200kPa. O suco foi obtido do despolpamento do fruto, seguido de tratamento com enzima pectinolítica e posterior centrifugação para remoção de partículas insolúveis. O fluxo permeado foi de 42 L/hm², tendo alcançado uma redução de turbidez de 65,8% e uma esterilização comercial para o produto final.

A redução média do teor de polpa entre a polpa de caju e a polpa hidrolisada para este estudo foi de 10%, sendo considerado como um dos

prováveis fatores que causaram o aumento de fluxo do permeado. Entretanto, não foi possível observar uma proporcionalidade de redução com as concentrações de enzimas utilizadas.

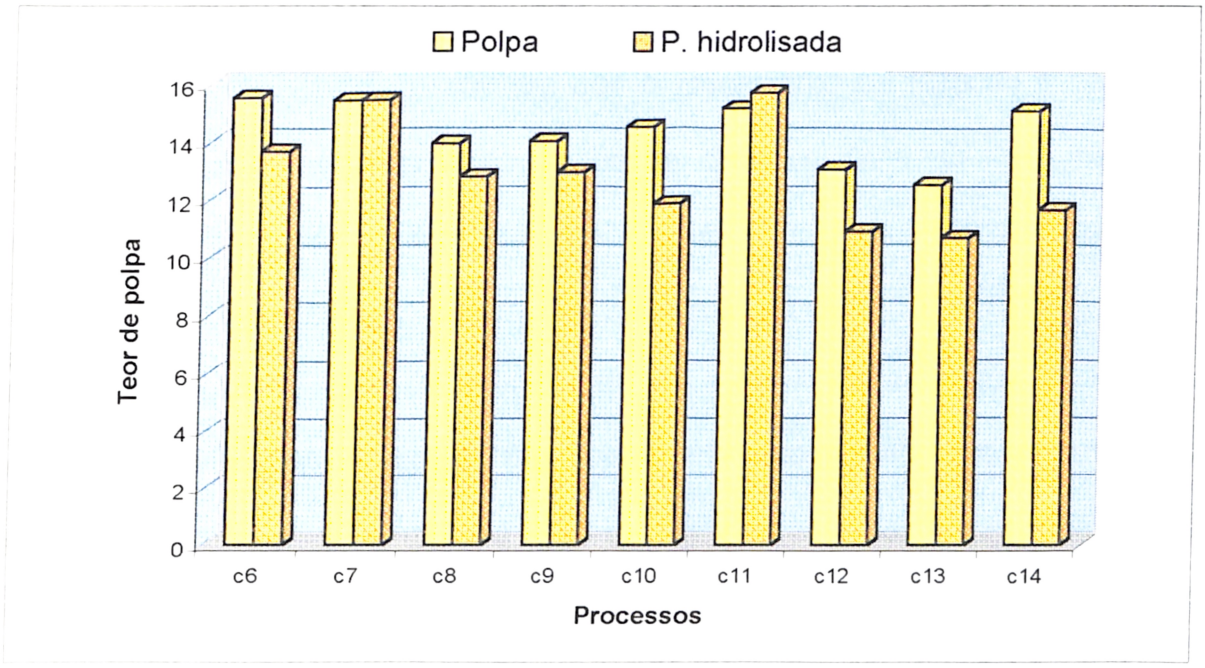


Figura IV.20 – Teor de polpa do suco de caju nas fases de polpa *in natura* e polpa hidrolisada

BARROS *et al.* (2001), utilizando sucos despectinizados de acerola e abacaxi por três concentrações de enzima (200ppm, 100ppm e 300ppm) e sucos naturais das respectivas frutas, para obtenção de suco clarificado por processo em membrana de ultrafiltração, observaram que houve um aumento de fluxo permeado com o suco despectinizado das duas frutas em relação aos sucos naturais, não sendo significativo quanto à concentração de enzima estudada, concluindo que a adição de enzimas pode ser muito menor do que a observada

nos processos de clarificação tradicional, lembrando que as enzimas retidas na polpa que não passou pela membrana podem ser utilizadas em novos processos.

TODISCO *et al.* (1996) avaliaram, teórica e experimentalmente, o mecanismo de *fouling d*a microfiltração sobre o fluxo permeado do suco de laranja *in natura*. Os resultados mostraram que o mecanismo de filtração é controlado pela formação de uma torta na superfície da membrana. O fluxo permeado diminuiu nos primeiros 20 a 30 minutos, até alcançar gradualmente o valor limite ($5 L/hm^2$) e com a utilização de um Reynolds mais elevado (Re = 15.000) pôde-se aumentar a pressão transmembrana de 30 para 100kPa, o que permitiu um aumento de até quatro vezes no fluxo permeado. Isto significa que a formação da torta foi minimizada e, embora a área de filtração ativa fosse reduzida, o fluxo pôde ser aumentado pelo aumento da pressão.

O desempenho dos processos de filtração com membranas já foi analisado extensivamente em vários estudos, observando-se que pode ser influenciado fortemente pelo material da membrana, tamanho de poro e geometria do módulo, além das condições operacionais e das características da solução utilizada (RAO *et al.*, 1987; PADILLA, 1989; RIEDL *et al.*, 1998, MATTA, 1999), além do fato de que membranas com mesmas características também podem ter desempenho diferente se forem de fabricantes diferentes.

IV.4.5 – Análise Sensorial

Tanto os resultados das análises físico-químicas quanto as determinações dos fluxos do suco clarificado dos diferentes processamentos não foram suficientes para definir as melhores condições de processo para a clarificação do suco de caju. Então, decidiu-se pela realização de uma análise sensorial dos sucos clarificados obtidos, visando à obtenção de subsídios para a definição das melhores condições de processo.

A adição da enzima Biopectinase MB teve como objetivo contribuir para a manutenção da cor do produto e para o aumento do fluxo permeado. Por não ter sido verificado efeito significativo sobre esses parâmetros, os sucos selecionados para a análise sensorial foram aqueles clarificados com a adição de 0,05%, 0,10% e 0,15% de tanase comercial, sem a adição de Biopectinase MB.

Os resultados submetidos à análise de variância e as médias em relação à referência estão apresentados na Tabela IV.10. Segundo teste de Dunnett, médias na vertical com letra diferente da referência, diferem da mesma ($p < 0,05$).

Para o sabor característico dos sucos clarificados de caju os resultados obtidos mostraram que, quando este foi clarificado com 0,05% de tanase foi considerado entre moderado e levemente menos característico que a referência, diferindo significativamente da mesma pelo teste de Dunnett ao nível de 5%; o suco de caju clarificado com 0,1% de tanase foi considerado como tendo sabor característico entre levemente e igual à referência, portanto, não diferindo da

mesma; e o suco clarificado com 0,15% de tanase foi considerado igual à referência em termos de sabor característico.

Tabela IV.10 - Valores médios da avaliação sensorial de suco de caju clarificado com diferentes concentrações de tanase.

Nº da amostra	Amostra	Sabor característico
1 = Refererência	Sem enzima	$4,9^a$
C_6	0,05% de tanase	$3,4^b$
C_7	0,1% de tanase	$4,5^a$
C_8	0,15% de tanase	$5,1^a$
-	$Qm_{ajust.}$	8,97*

Qm_{ajust} - quadrado médio ajustado
*- significativo ao nível de 5%

IV.5 – PROCESSAMENTO COM A ENZIMA CTAA

Como não houve diferença significativa entre o sabor dos sucos obtidos nos tratamentos com 0,1% e 0,15% de tanase, em relação ao suco clarificado sem adição de enzima, optou-se pela concentração de 0,1% para a realização do processamento utilizando a enzima tanase produzida no CTAA. Utilizou-se um extrato enzimático com 770U/mL de atividade tanase e o processamento foi realizado nas mesmas condições dos anteriores.

A caracterização da polpa e do suco clarificado com a enzima CTAA encontra-se na Tabela IV.11 e os resultados dos teores de taninos da polpa,

polpa aquecida, polpa hidrolisada e do suco clarificado estão apresentados na Tabela IV.12.

Tabela IV.11 - Caracterização da polpa e do suco clarificado com a enzima CTAA

Análises	**Polpa**	**S. clarificado**
Vitamina C (mg/100g)	151	140
pH	3,98	3,90
Sólidos solúveis (°Brix)	11,1	10,5
Acidez (g de ácido málico/100g)	0,59	0,52
Turbidez (NTU)	15,2	0,8
L_{HUNTER}	99,5	100,6
a_{HUNTER}	-0,4	-0,7
b_{HUNTER}	1,5	1,7

L_{HUNTER} (0 = preto, 100 = branco)
a_{HUNTER} (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b_{HUNTER} (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo)

Tabela IV.12 - Taninos totais, condensados e hidrolisáveis nas fases do processamento com a enzima CTAA (0,1%v/v)

Taninos (mg/100g)	Totais	Condensados	Hidrolisáveis
Polpa	0,77	0,24	0,53
Polpa aquecida	0,79	0,37	0,42
Polpa hidrolisada	0,79	0,39	0,40
Suco clarificado	0,83	0,28	0,55

Pode-se observar que, em relação ao teor de taninos do suco clarificado, houve um aumento em relação à polpa original, e que, também neste caso, os teores de tanino aumentaram após o aquecimento.

IV.6 – COMPARAÇÃO ENTRE OS TRÊS PROCESSOS

Na Tabela IV.13, está a compilação dos dados, para a polpa original e para o suco clarificado, dos três tipos de processo realizados: sem adição de enzima, com a enzima comercial (0,1%) e com a enzima CTAA (0,1%).

Tabela IV.13- Características da polpa e do suco clarificado nos três ensaios do processo de clarificação do suco de caju

	Sem enzima		Enzima comercial		Enzima CTAA	
Parâmetros	Polpa	Suco	Polpa	Suco	Polpa	Suco
Vitamina C (mg/100g)	171	152	154	136	151	140
Sólidos solúveis(°Brix)	11, 0	10,4	11,0	10,3	11,1	10,5
Acidez (g ácido málico/100g)	0,55	0,48	0,57	0,52	0,59	0,52
pH	4,03	3,96	3,98	4,0	3,98	3,90
Taninos totais (mg/100g)	0,63	0,64	0,5	0,64	0,77	0,83
Taninos cond. (mg/100g)	0,27	0,34	0,36	0,42	0,24	0,28
Taninos hidrolis. (mg/100g)	0,36	0,30	0,14	0,22	0,53	0,55

De uma forma geral houve um comportamento similar para as características dos sucos obtidos nos três processamentos. Observou-se uma redução média de 10% para o teor de vitamina C, como já era esperado devido ao aquecimento promovido para o tratamento enzimático.

Em relação ao teor de sólidos solúveis e à acidez nos sucos clarificados pode-se perceber que houve uma redução média de 6% e 11%, respectivamente, em relação à polpa *in natura*, fato observado também nos demais experimentos.

Pode-se verificar pelas Figuras IV.21 e IV.22 que, para os experimentos sem enzima e com 0,1% de tanase, houve um aumento no teor de taninos. Com relação ao tanino total, o ensaio sem enzima apresentou um aumento de apenas 1,6%, para a tanase comercial foi de 28% e para a tanase CTAA de 7,8%. Para os taninos condensados o ensaio sem enzima apresentou um aumento de 25,9% e para as enzimas comercial e CTAA, o aumento foi da ordem de 16,7%.

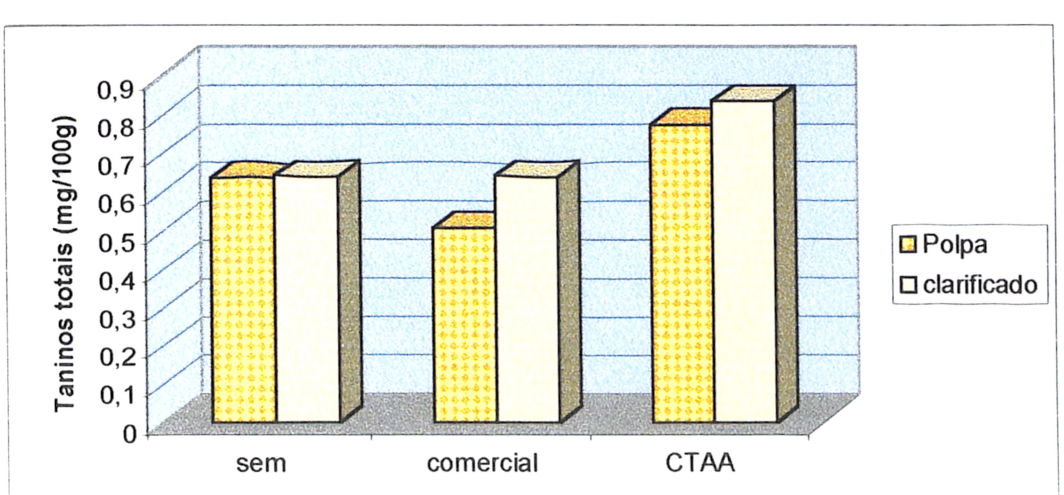


Figura IV.21 –Taninos totais do suco de caju nos experimentos sem enzima, com 0,1% de tanase comercial e 0,1% de tanase CTAA.

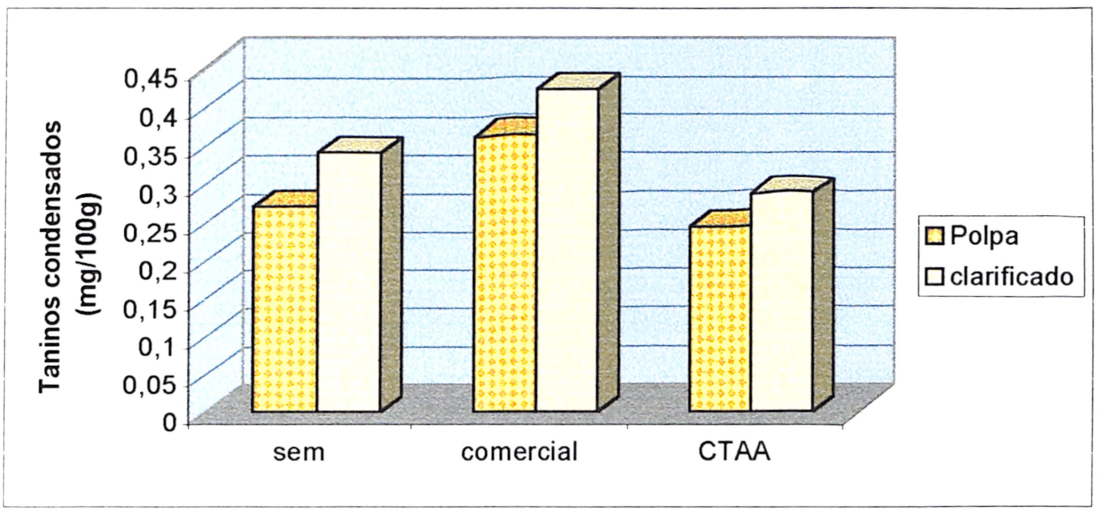


Figura IV. 22 - Taninos condensados do suco de caju nos experimentos sem enzima, com 0,1% de tanase comercial e 0,1% de tanase CTAA.

O processamento com enzima tanase comercial apresentou um aumento de 57,1% no teor de taninos hidrolisáveis. O tratamento com enzima CTAA apresentou um ligeiro aumento de 3,8%; já no ensaio sem enzima houve uma redução de 16,7% (Figura IV.23).

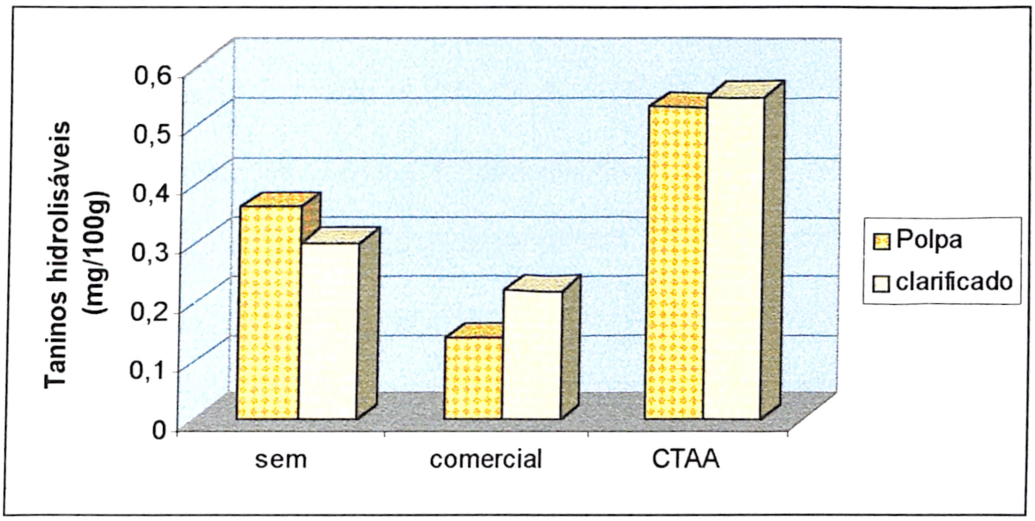


Figura IV. 23 - Taninos hidrolisáveis nos experimentos sem enzima, com 0,1% de tanase comercial e 0,1% de tanase CTAA.

Na tabela IV.14 está a compilação dos resultados obtidos para a luminosidade e turbidez nefelométrica (NTU) do suco de caju nas diferentes etapas dos processamentos.

Tabela IV.14 – Resultados de luminosidade e turbidez nas etapas dos processamentos com 0,1% tanase CTAA, 0,1% tanase comercial e sem enzima.

	Sem enzima		Enzima comercial		Enzima CTAA	
	L_{HUNTER}	Turbidez	L_{HUNTER}	Turbidez	L_{HUNTER}	Turbidez
Polpa	99,5	10,9	98,9	8,0	99,5	15,2
P. hidrolisada	97,9	8,9	99,1	15,8	98,5	43,1
S. clarificado	100,9	2,3	99,7	2,0	100,6	0,8

Embora se tenha notado que houve um aumento de turbidez na polpa hidrolisada dos processos com adição de enzima, foi observado que o tratamento enzimático com a tanase CTAA foi mais eficaz, visto que, após a separação na membrana, a redução da turbidez foi da ordem de 94,7% em relação à polpa *in natura*. Este resultado pode ser explicado pela atividade poligalacturonase observada no extrato enzimático do CTAA e não apresentado na enzima tanase comercial.

O processo, do suco de caju hidrolisado com tanase CTAA, com membrana de microfiltração apresentou fluxo médio de 76 L/hm². Em relação ao fluxo obtido com 0,1% da enzima tanase comercial (72 L/hm²) e ao processo sem enzima, estes se encontram com valores médios de fluxo permeado bem próximos. Na Figura IV.24, verificando a linha de tendência do fluxo permeado dos três processos pode-se observar que o processo com a enzima tanase CTAA apresentou um melhor resultado.

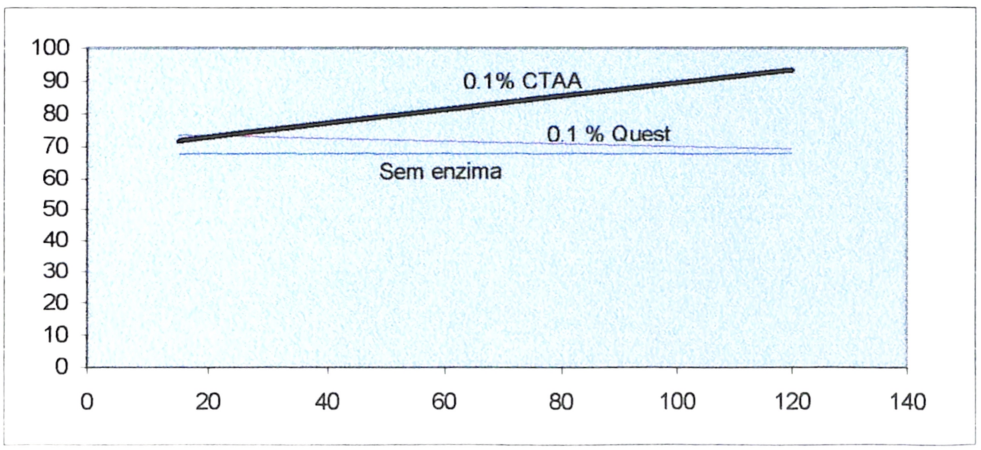


Figura IV.24 - Fluxo permeado do suco de caju com a enzima CTAA (0,1%), com a enzima Quest (0,1%) e sem enzima, em função do tempo de processo

IV.7 – MAIORES CONCENTRAÇÕES DE ENZIMAS

Tendo observado que o processo combinado não foi efetivo na redução do teor de taninos em relação à polpa in natura, foram realizados processos com a tanase comercial (0,3%), tanase CTAA (0,3%) e padrão CTAA (0,05%) + tanase CTAA (0,25%). Na Tabela IV.15, encontram-se os resultados obtidos para a polpa, polpa hidrolisada e suco clarificado, dos processamentos com maiores concentrações da enzima tanase.

O pH do suco clarificado apresentou resultado semelhante ao da polpa *in natura*. Os sólidos solúveis e a acidez dos sucos clarificados apresentaram uma queda em relação aos valores inicias, tendo o teor de sólidos solúveis apresentado uma redução de 16,7% para o ensaio C17 (0,3% tanase CTAA), 36,7% para o ensaio C18 (0,3% tanase comercial), 21,4% e para o ensaio C19 (0,25% tanase e 0,05% hidrolase). A redução da acidez foi da ordem de 22,4% para o C17, 40,9% para o C19 e 48,9% para o C18.

Verificou-se uma redução acentuada de vitamina C no suco clarificado nos tratamentos com maiores concentrações de enzima. Esses resultados podem ser explicados, provavelmente, pela troca da bomba hidráulica para alimentação do sistema de membranas, que promoveu um maior turbilhonamento do suco, tornando-o mais susceptível a sofrer oxidação.

Tabela IV.15 – Resultados de polpa (P), polpa hidrolisada (A) e suco clarificado (C) das análises realizadas nos processamentos com maiores concentrações de tanase.

Determinações analíticas	C17[*1]			C18[*2]			C19[*3]		
	P[*4]	A[*5]	C[*6]	P	A	C	P	A	C
Vitamina C (mg/100g)	142	134	114	150	137	91	171	135	94
Sólidos solúveis(°Brix)	9,6	9,6	8,0	9,8	9,9	6,2	9,1	9,5	7,2
Acidez (g ácido málico/100g)	0,58	0,62	0,45	0,47	0,51	0,24	0,44	0,45	0,26
pH	4,05	4,08	3,99	4,2	4,18	4,39	4,18	4,27	4,18
Taninos totais (mg/100g)	0,84	0,85	0,77	0,86	0,91	0,70	0,83	0,89	0,73
Taninos condensados (mg/100g)	0,31	0,36	0,21	0,27	0,52	0,33	0,18	0,30	0,15
Taninos hidrolisáveis (mg/100g)	0,53	0,49	0,56	0,59	0,39	0,37	0,64	0,59	0,57
Carotenóides	0,159	0,048	0,01	0,152	0,106	0,03	0,165	0,08	0,04
Turbidez (haze)	65	10,8	32,5	80,7	91,1	-0,4	85,9	58,75	0,9
L_{HUNTER}	49,71	83,82	74,22	37,72	29,83	99,14	40,9	51,42	99,71
a_{HUNTER}	0,7	-2,5	-1,2	0,8	2,1	-1,3	2,4	2,4	-0,3
b_{HUNTER}	11,1	6,3	7,2	10,4	8,7	2, 7	10,4	12,1	1,7

L_{HUNTER} (0 = preto, 100 = branco)
a_{HUNTER} (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b_{HUNTER} (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo)

[*1] C17 (0,30% tanase CTAA);
[*2] C18 (0,30% tanase Quest)
[*3] C19 (0,25% tan + 0,05% hidrolase (CTAA)

[*4] P = polpa
[*5] A = alimentação
[*6] C = clarificado

Em relação aos teores de taninos totais, condensados e hidrolisáveis, observando seu comportamento nas Figuras IV.25, IV.26 e IV.27, respectivamente, o tratamento sem enzima apresentou uma redução de taninos hidrolisáveis em função do aumento ocorrido nos taninos condensados, já que os taninos hidrolisáveis são dados pela subtração do tanino condensado sobre o tanino total. Para o tratamento sem enzima não houve diferença em relação aos taninos totais, haja visto que o aumento no teor deste foi insignificante. O pequeno aumento observado nos taninos condensados do suco clarificado foi relacionado ao aquecimento, salientando que em todos os processos foi observado este comportamento antes da adição da enzima.

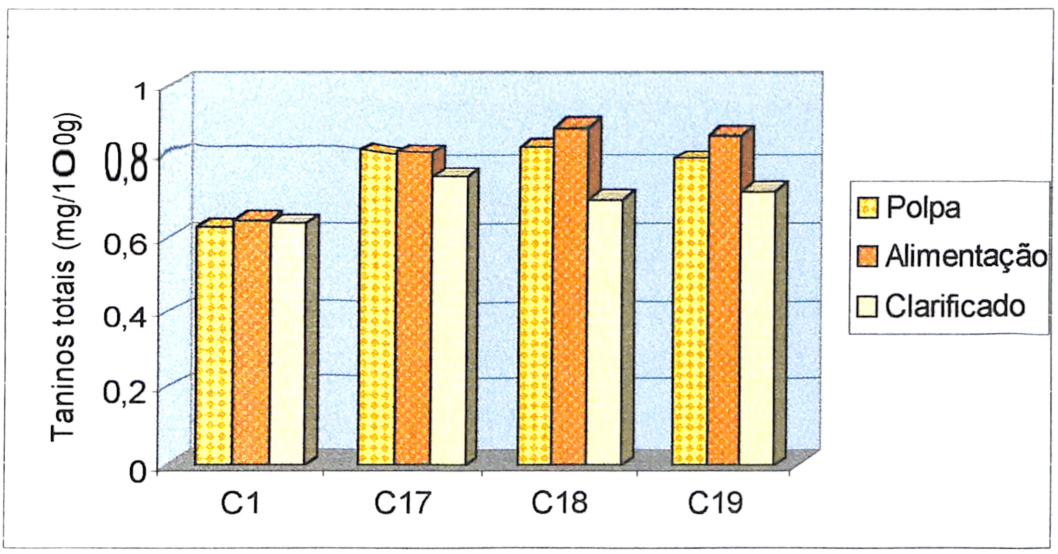


Figura IV.25 - Taninos totais do suco de caju em diferentes etapas do processo utilizando-se 0,3% de tanase CTAA e comercial (C17 e C18, respectivamente) e 0,25% tanase com 0,05% hidrolase, ambas do CTAA (C19), em comparação com o tratamento sem enzima (C1).

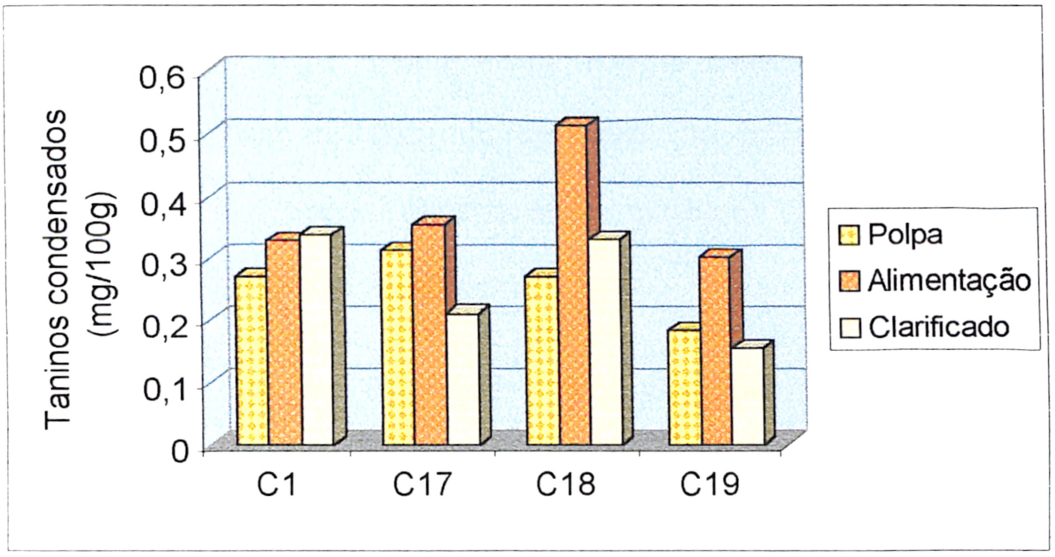


Figura IV.26 - Taninos condensados do suco de caju em diferentes etapas do processo utilizando-se 0,3% de tanase comercial e CTAA (C17 e C18, respectivamente) e 0,25% tanase com 0,05% hidrolase, ambas do CTAA (C19), em comparação com o tratamento sem enzima (C1)

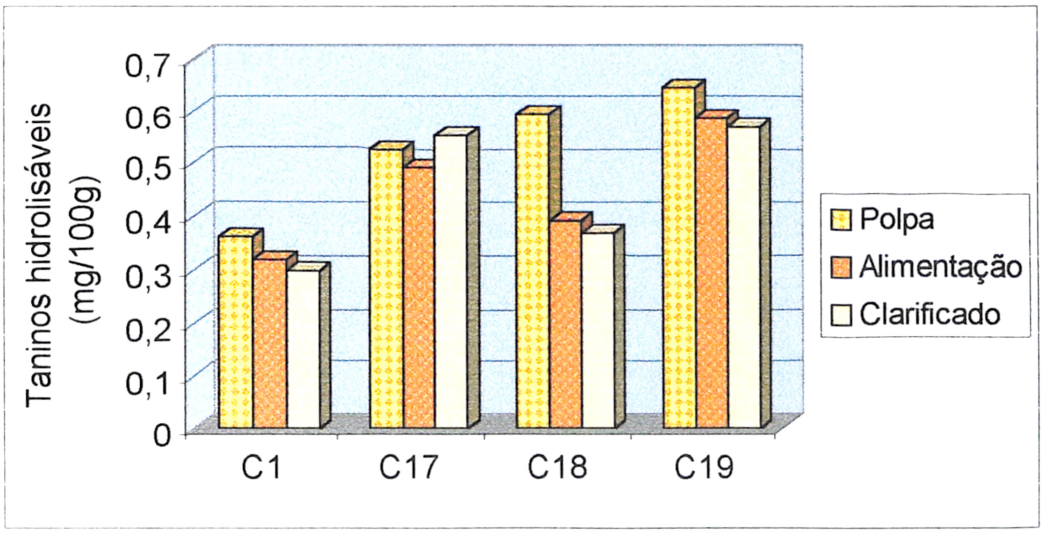


Figura IV.27 - Taninos hidrolisáveis do suco de caju em diferentes etapas do processo utilizando-se 0,3% de tanase comercial e CTAA (C17 e C18, respectivamente) e 0,25% tanase com 0,05% hidrolase, ambas do CTAA (C19), em comparação com o tratamento sem enzima (C1).

No momento, está sendo implantada a metodologia de análise de compostos flavonóides no suco do caju por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), que poderá esclarecer os resultados obtidos para os taninos, em todas as etapas dos processamentos.

No tratamento com 0,3;% da enzima comercial, pode-se observar que houve uma redução de 18,9% no teor de taninos totais, sendo esta redução devido à atividade enzimática sobre os taninos hidrolisáveis.

No tratamento com 0,3% da tanase CTAA pode-se observar uma pequena redução no teor de taninos totais (8,3%), que foi devido à redução no teor de taninos condensados, fato que contradiz a literatura, pois segundo LEKHA & LOSANE (1997), a tanase age apenas em taninos hidrolisáveis, produzindo glicose e ácido gálico.

Para o tratamento contendo 0,25% tanase e 0,05% hidrolase, ambos extratos produzidos no CTAA, houve uma redução de 12,4% no teor de taninos totais, entretanto esta combinação de extratos foi efetiva para a redução tanto de taninos hidrolisáveis quanto de taninos condensados.

Foi observado que, em trabalho de MENEZES (1999), com a mesma concentração de tanase comercial e igual período de tratamento (0,3% v/v e 1 hora), houve uma redução de 11,9% no teor de taninos totais. Com a utilização de 1,0% de tanase em polpa de caju por período de 5 horas de reação enzimática, a

mesma autora obteve uma redução de 84% da turbidez e de 46% dos taninos totais, pela diminuição nos taninos hidrolisáveis.

Os extratos enzimáticos utilizados no presente trabalho, portanto, foram eficientes na concentração de 0,3%, tendo como o mais eficaz o extrato comercial, em virtude da sua maior atividade tanase. Pode ser observado também que pelo fato de terem sido utilizados no suco de caju sem correção do pH, não estando em condições ótimas de suas atividades, estes extratos propiciaram resultados satisfatórios.

Para verificar se o tratamento enzimático teve efeito sobre a cor do suco foi avaliada a relação proporcional entre a luminosidade instrumental da polpa hidrolisada e da polpa *in natura,* comparando-a com o ensaio feito sem adição de enzima. Houve um aumento deste parâmetro como os extratos enzimáticos do CTAA (C17 e C19) de 40,7% e 20,5%, respectivamente; porém, para o ensaio C18 (tanase comercial) houve uma redução de 20,9%, provavelmente pelo fato do extrato enzimático comercial ser muito mais concentrado e portanto mais denso. No entanto, o suco clarificado que apresentou maior aumento de luminosidade foi o do ensaio C18 com 62% de aumento, seguido do ensaio C19 com 59% e do ensaio C17 com 33%, em relação às suas respectivas polpas (Figura IV.28). Quando comparada a proporção de aumento da luminosidade do suco clarificado sem adição de enzima, verifica-se que as enzimas atuaram neste parâmetro.

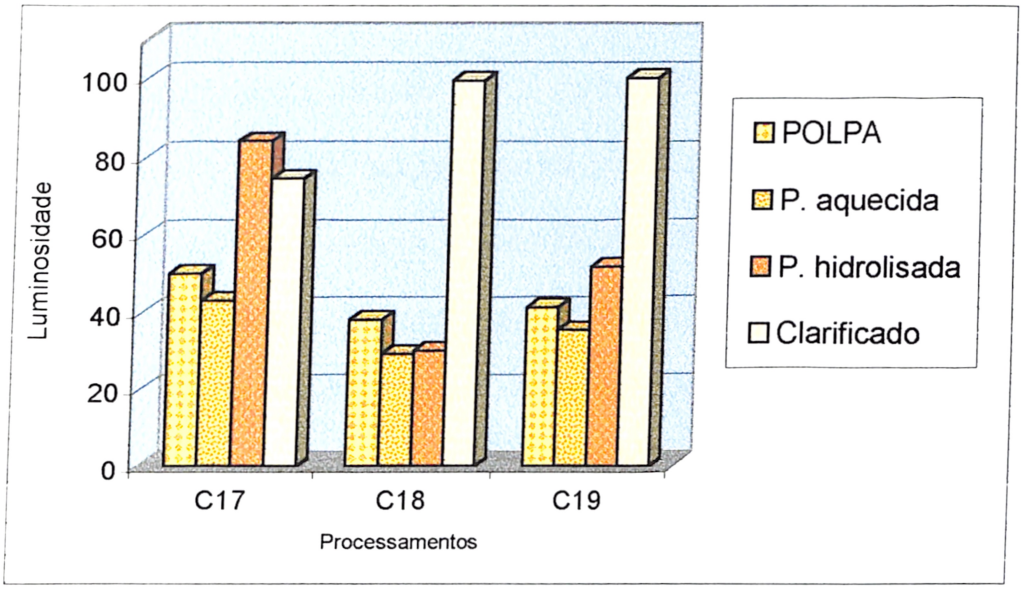


Figura IV.28 – Luminosidade do suco de caju nas diferentes fases do processo de clarificação.

A turbidez dos sucos clarificados com maiores concentrações de enzimas, avaliada no sistema HUNTER, apresentou percentuais de redução maiores que os obtidos no processamento sem enzimas, com exceção da verificada no ensaio C17 (50%), que apresentou uma nebulosidade à saída da membrana, o que pode ter sido causado por uma complexação de taninos com algum componente do suco, provavelmente substâncias pécticas que não foram completamente degradadas, pois foi realizado, no suco clarificado, análise qualitativa para pectina e esta foi positiva. Para o ensaio sem enzima, a turbidez do suco clarificado foi reduzida em 78,6%. Nos processamentos com a tanase comercial (C18) e a combinação de tanase e hidrolase (C19), essa redução foi de 100% e 99%, respectivamente.

O desempenho do fluxo permeado está apresentado na Figura IV.29. O processamento C17 (0,3% tanase CTAA) apresentou um fluxo inicial muito alto e devido ao pequeno volume usado não foi possível observar se este teria um declínio de fluxo como era esperado, não sendo considerado portanto dentro dos valores médios do fluxo permeado dos demais processamentos, que foi de 101L/hm², após a sua estabilização. O fluxo foi considerado muito bom, pois no processo sem enzima, o valor médio foi de 67L/hm².

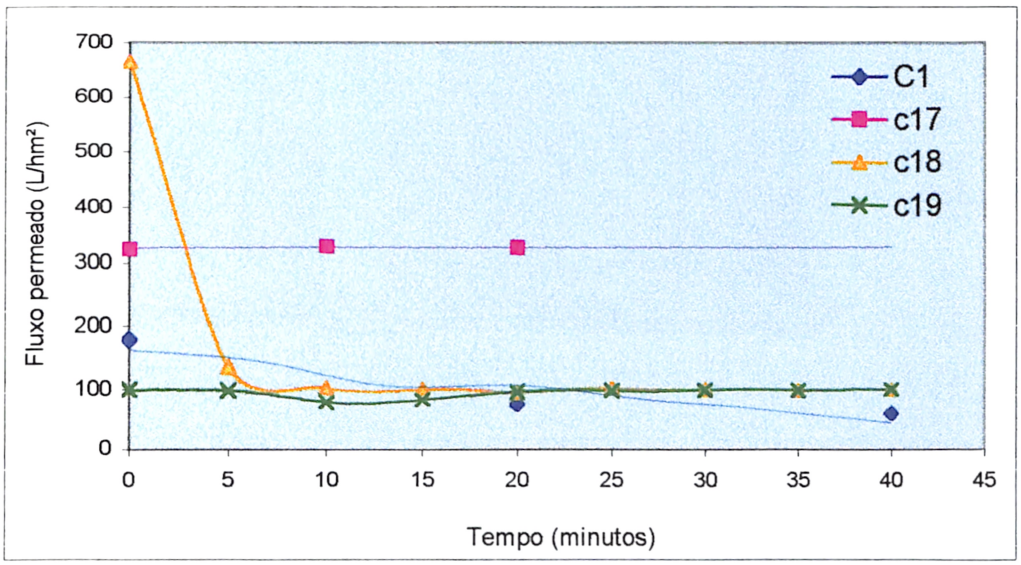


Figura IV.29 – Fluxo permeado do suco de caju nos processamentos com maiores concentrações de enzimas e sem enzima.

MATTA (1999), utilizando enzimas pectinolíticas e processo com membranas para a clarificação e concentração de suco de acerola, observou que os fluxos médios obtidos nos processos sem enzima foram bem inferiores aos fluxos médios dos processos com enzima (53L/hm² e 107L/hm², respectivamente).

Na Figura IV. 30 estão os resultados referentes ao teor de polpa encontrado no suco de caju antes e depois da hidrólise enzimática. Foi observado que o teor de polpa do suco, após a hidrólise enzimática, apresentou 20,5% de redução para o processamento com a tanase CTAA, 9,2% para o processamento com a tanase comercial, e 3,6% para o ensaio com tanase e hidrolase do CTAA.

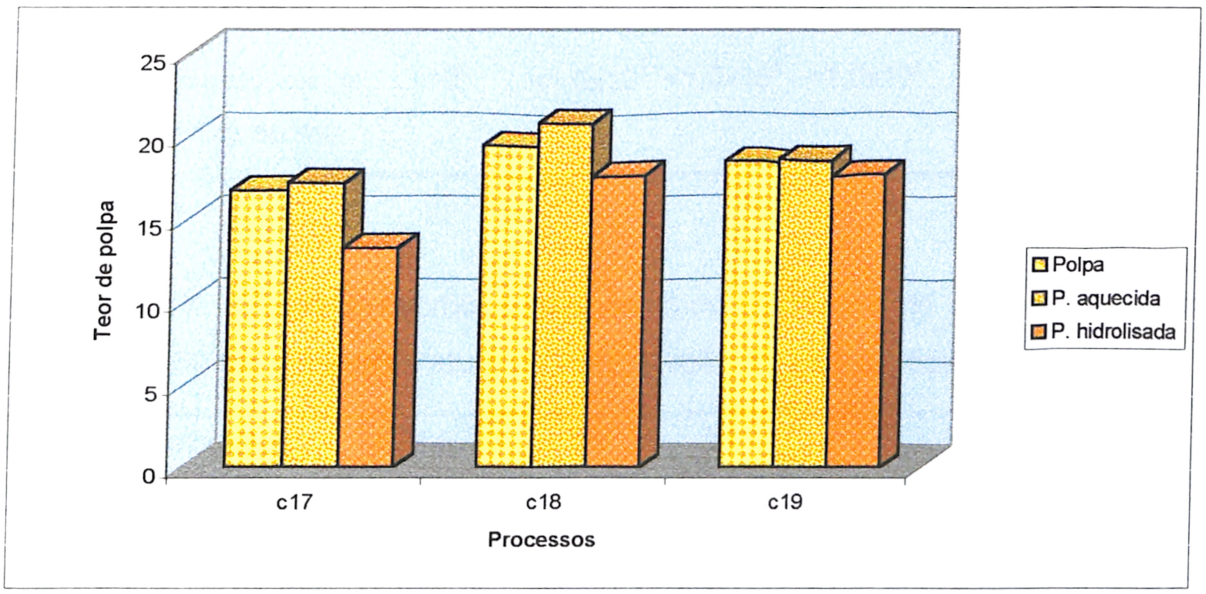


Figura IV.30 – Teor de polpa do suco de caju nas fases do processos de clarificação de suco de caju com maiores concentrações da enzima tanase.

IV.8 – VIDA-DE-PRATELEIRA DO SUCO DE CAJU CLARIFICADO

As condições microbiológicas do suco clarificado foram mantidas durante todo o período de estocagem, em ambas as condições de armazenamento estudadas, atendendo aos padrões estabelecidos pela Legislação de 1998, porém estando em conformidade também com a legislação vigente (Tabela IV.16 e IV.17).

Tabela IV.16 - Análise microbiológica do suco clarificado de caju estocado por período de 60 dias à temperatura ambiente. (*1 sem especificação)

Análises realizadas	PADRÃO	T0	T1	T2	T3	T4
Coliformes totais(NMP/g)	1	<3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Salmonella (25g ou ml)	*2	*2	*2	*2	*2	*2
Contagem padrão em placas (UFC/g ou ml)	*1	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$
Fungos filamentosos e leveduras(UFC/g ou ml)	10^2	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$

*2 - Ausência

Tabela IV.17 – Análise microbiológica do suco clarificado de caju estocado por período de 60 dias à temperatura de refrigeração. (*1 sem especificação)

Análises realizadas	PADRÃO	T0	T1	T2	T3	T4
Coliformes totais(NMP/g)	1	<3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Salmonella (25g ou ml)	*2	*2	*2	*2	*2	*2
Contagem padrão em placas (UFC/g ou ml)	*1	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$
Fungos filamentosos e leveduras(UFC/g ou ml)	10^2	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$

*2 - Ausência

Verificou-se que, em outros trabalhos realizados na Embrapa Agroindústria de Alimentos, o processo de clarificação com membranas de microfiltração ou ultrafiltração mostraram-se como alternativas viáveis ao processamento térmico

Tabela IV.18 – Parâmetros físico-químicos do suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale* L.) durante os 60 dias de armazenamento sob refrigeração (± 6°C)

Parâmetros	Tempo (dias)[1]					Média	Coeficiente de Variação (%)
	Zero	15	30	45	60		
pH	3,91	3,88	3,86	3,77	3,76	3,84 ± 0,07	1,7
Sólidos solúveis (°Brix)	6,5	6,5	6,4	6,4	5,7	6,3 ± 0,3	4,9
Acidez (g ácido málico/ 100g)	0,40	0,38	0,39	0,39	0,44	0,40 ± 0,02	5,3
Vitamina C (mg ácido ascórbico/100g)	104	85	85	61	56	78,2 ± 19,7	25,2
Taninos totais (mg ácido tânico/100g)	0,71	0,69	0,71	0,70	0,67	0,70 ± 0,02	2,2
Taninos condensados (mg catequina/100g)	0,20	0,21	0,21	0,19	0,15	0,19 ± 0,03	13,7
Turbidez (NTU)	1,3	1,7	1,7	1,6	1,6	1,58 ± 0,16	10,4
L_{HUNTER}	90,3	90,1	90,6	90,5	90,6	90,4 ± 0,2	2,3
a_{HUNTER}	- 2,6	- 2,5	-2,7	- 2, 7	- 2,5	- 2,6 ± 0,1	3,8
b_{HUNTER}	2,4	2,3	2,7	2,7	2,4	2,5 ± 0,2	7,5

[1] Média de três amostras.
L_{HUNTER} (0 = preto, 100 = branco)
a_{HUNTER} (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b_{HUNTER} (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo).

para a obtenção da esterilidade comercial (CARVALHO *et al.*, 2001; ROSA *et al.*, *2001;* RODRIGUES *et al.* 2001).

O suco clarificado conforme citado, foi conservado em vidros transparentes com tampa metálica e de acordo com VARNAM & SUTHERLAND (1994), sucos de frutas estocados em embalagens que permitam a exposição à luz apresentam um aumento na velocidade de perda do ácido ascórbico, mas esta é ainda maior em embalagens de plástico permeáveis ao oxigênio. O suco clarificado conservado à temperatura ambiente foi então estocado dentro de um armário.

As características do suco de caju clarificado durante o tempo de armazenamento estão apresentadas nas Tabelas IV.18 e IV.19.

para a obtenção da esterilidade comercial (CARVALHO *et al.*, 2001; ROSA *et al.*, *2001;* RODRIGUES *et al.* 2001).

O suco clarificado conforme citado, foi conservado em vidros transparentes com tampa metálica e de acordo com VARNAM & SUTHERLAND (1994), sucos de frutas estocados em embalagens que permitam a exposição à luz apresentam um aumento na velocidade de perda do ácido ascórbico, mas esta é ainda maior em embalagens de plástico permeáveis ao oxigênio. O suco clarificado conservado à temperatura ambiente foi então estocado dentro de um armário.

As características do suco de caju clarificado durante o tempo de armazenamento estão apresentadas nas Tabelas IV.18 e IV.19.

Tabela IV.18 – Parâmetros físico-químicos do suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale* L.) durante os 60 dias de armazenamento sob refrigeração (± 6°C)

Parâmetros	Tempo (dias)[1]					Média	Coeficiente de Variação (%)
	Zero	15	30	45	60		
pH	3,91	3,88	3,86	3,77	3,76	3,84 ± 0,07	1,7
Sólidos solúveis (°Brix)	6,5	6,5	6,4	6,4	5,7	6,3 ± 0,3	4,9
Acidez (g ácido málico/ 100g)	0,40	0,38	0,39	0,39	0,44	0,40 ± 0,02	5,3
Vitamina C (mg ácido ascórbico/100g)	104	85	85	61	56	78,2 ± 19,7	25,2
Taninos totais (mg ácido tânico/100g)	0,71	0,69	0,71	0,70	0,67	0,70 ± 0,02	2,2
Taninos condensados (mg catequina/100g)	0,20	0,21	0,21	0,19	0,15	0,19 ± 0,03	13,7
Turbidez (NTU)	1,3	1,7	1,7	1,6	1,6	1,58 ± 0,16	10,4
L_{HUNTER}	90,3	90,1	90,6	90,5	90,6	90,4 ± 0,2	2,3
a_{HUNTER}	- 2,6	- 2,5	-2,7	- 2, 7	- 2,5	- 2,6 ± 0,1	3,8
b_{HUNTER}	2,4	2,3	2,7	2,7	2,4	2,5 ± 0,2	7,5

[1] Média de três amostras.
L_{HUNTER} (0 = preto, 100 = branco)
a_{HUNTER} (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b_{HUNTER} (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo).

Tabela IV.19 – Parâmetros físico-químicos do suco clarificado de caju (Anacardium occidentale L.) por período de 60 dias de armazenamento em temperatura ambiente (±30°C)

Parâmetros	Tempo (dias)[1]					Média	Coeficiente de Variação (%)
	Zero	15	30	45	60		
pH	3,91	4,04	3,71	3,79	3,71	3,83 ± 0,14	3,7
Sólidos solúveis (°Brix)	6,5	6,6	6,9	6,9	6,5	6,7 ± 0,2	3,1
Acidez (g ácido málico/ 100g)	0,40	0,37	0,41	0,39	0,50	0,41 ± 0,05	12,2
Vitamina C (mg ácido ascórbico/100g)	104	51	20	10	11	39,3 ± 39,7	101,1
Taninos totais (mg ácido tânico/100g)	0,71	0,67	0,68	0,68	0,69	0,.7 ± 0,0	2,2
Taninos condensados (mg catequina/100g)	0,20	0,16	0,27	0,06	0,03	0,14 ± 0,1	67,2
Turbidez (NTU)	1,3	1,1	1,8	3,7	5,3	2,34 ± 1,8	68,5
L HUNTER	90,3	90,4	86,5	84,1	79,4	86,1 ± 4,6	5,4
a.HUNTER	- 2,6	- 2,9	-3,8	- 4,0	- 2,2	- 3,1 ± 0,8	25,0
b.HUNTER	2,4	3,5	16,8	22,8	31,6	15,4 ± 12,5	81,4

[1] Média de três amostras.
L HUNTER (0 = preto, 100 = branco)
a HUNTER (-80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
b HUNTER (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo)

Verificou-se que a redução do teor de vitamina C, após 60 dias, foi de 46,4% e 89,4%, nas temperaturas de refrigeração e ambiente, respectivamente. Na análise de regressão linear foi observado um ajuste significativo ($p<0,01$) para as duas temperaturas testadas (Figura 1 do Anexo.VI), o que permiti estimar em quanto tempo ocorrerá a degradação completa desse componente.

Este resultado foi contrário ao obtido por MATTA (1999), com suco clarificado de acerola. A vitamina C do suco manteve-se estável durante os 90 dias de armazenamento sob refrigeração à temperatura de 4°C.

SAMPAIO (1990) evidenciou perdas no conteúdo de ácido ascórbico logo após o processamento do suco límpido de caju, preservado pelo método Hot-Pack, da ordem de 40,2% com relação ao fruto *in natura*.

De acordo com FENNEMA (1993), as perdas de ácido ascórbico podem ser minimizadas nas frutas tratadas com SO_2, tanto durante o processamento como durante o armazenamento.

A acidez do suco de caju clarificado, armazenado sob refrigeração e à temperatura ambiente, não apresentou alteração significativa ($p>0,05$) durante o período de estocagem. Entretanto, houve um ligeiro aumento no período entre 45 e 60 dias para os dois ambientes estudados (Figura 2 do Anexo.VI).

Para o pH do suco clarificado armazenado em temperatura ambiente houve uma oscilação de valores e as análises de regressão linear (Figura 3 do Anexo.VI)

mostram que apenas o pH do suco estocado em geladeira apresentou um ajuste significativo ($p<0,05$), podendo, portanto, ser avaliado o seu total tempo de vida.

No período de 15 para 30 dias de estocagem em ambiente, o pH do suco apresentou uma ligeira redução e ocorreu um pequeno aumento da acidez. Neste mesmo período, a luminosidade do suco começou a diminuir. Provavelmente este comportamento se deu devido ao início das reações de Maillard no suco clarificado.

IMUNGI *et al.* (1980) encontraram semelhantes oscilações de acidez conforme variações no pH durante o processamento de suco de goiaba clarificado.

O'BEIRNE (1986), pesquisando a influência do pH no escurecimento do suco concentrado de maçã ácida (cultivar Bramley) durante a estocagem, verificou que a relação baixo pH/ elevado conteúdo de ácido málico, está diretamente associada à velocidade das reações de Maillard.

Em relação à luminosidade instrumental, o suco clarificado armazenado sob refrigeração manteve-se inalterado, enquanto que à temperatura ambiente o suco sofreu um escurecimento ao final dos 60 dias da ordem de 12,1%, observados também a olho nu, como pode ser visto no Anexo.VI. A análise de regressão linear (Figura 4 do Anexo.VI) mostrou que houve um ajuste significativo ($p<0,05$) para o suco clarificado armazenado em ambiente.

Em trabalho de SILVA *et al.* (1999), utilizando cajá para a produção de suco clarificado, realizou-se tratamento enzimático com a enzima Pectinex Ultra SP- L e

Pectinex AR para auxiliar na extração e despectinização da polpa, usando também gelatina e Baykisol-30 para a clarificação do suco. O produto foi preservado pelo método *hot-fill* e estocado a 25°C durante 120 dias. Não foram observadas oscilações significativas nos parâmetros sensoriais e físico-químicos. Observou-se, porém, uma pequena redução no teor de taninos, apenas aos 120 dias. Houve uma redução na luminosidade de 73%, sendo considerada não prejudicial do ponto de vista tecnológico e de vida útil do suco clarificado, pois foram feitas análises sensoriais do produto, com respeito a odor, sabor, cor, aparência e corpo, classificando-o como de aceitabilidade boa e muito boa.

Para as variável de cor a_{Hunter} (intensidade de cor verde/vermelho) foi verificado que não houve diferença significativa para os dois ambientes estudados. Para a variável de cor b_{Hunter} (intensidade de cor azul/amarelo) houve diferença significativa ($p<0,05$) no suco clarificado armazenado á temperatura ambiente e sob refrigeração esta manteve-se estável durante o período de estocagem (Figura 5 do Anexo.VI).

Em estudos realizados por CORNWEL & WROLSTAD (1981) foi comprovado que o escurecimento de sucos concentrados de maçã e pêra durante a estocagem foi proporcionado, principalmente, pelos produtos da reação de Maillard.

Segundo KACEM *et al.* (1987), a reação de Maillard é a mais rápida e o maior defeito de qualidade que aparece durante a estocagem à temperatura

ambiente. Esta é fortemente afetada pelo pH e por variações de temperatura. Além do escurecimento, que afeta diretamente a aparência do produto, reduz a digestibilidade de proteínas e inibe a ação de enzimas digestivas.

Os taninos totais não apresentaram diferença significativa no período estocado, nos dois ambientes estudados, nem tão pouco foram ajustados linearmente à reta (Figura 6 e 7 do Anexo.VI), mostrando que houve uma oscilação dos mesmos durante este período.

Os taninos condensados do suco clarificado estocado à temperatura ambiente apresentaram uma grande redução ao final do período de estocagem, o que pode ser explicado pelas reações nos compostos fenólicos que causam escurecimento em sucos de frutas.

A turbidez apresentou valor inicial de 1,3 NTU e ao final do período observado para a vida de prateleira do suco clarificado de caju estava em 5,3 NTU em temperatura ambiente e 1,6 NTU na temperatura de refrigeração. Contudo, em observação visual (Anexo VII), os sucos clarificados, não apresentaram sedimentos nem nebulosidade em nenhum dos ambientes armazenados.

V – CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos no presente trabalho concluiu-se que:

A turbidez do suco clarificado apresentou uma ótima redução em função do processo com membrana; mesmo no ensaio sem enzima houve uma redução de 78,6%. Em relação ao tratamento enzimático do delineamento experimental pode-se concluir que a turbidez apresentou, em média, uma redução ligeiramente maior do que a do tratamento sem enzima, em torno de 80% de redução. Os ensaios com maiores concentrações enzimáticas, 0,3% tanase comercial (C18) e na combinação de enzimas CTAA (0,25% tanase e 0,05% hidrolase), houve uma redução de turbidez média de 99,5%, sendo considerada, portanto, como excelente resultado.

Os fluxos permeados, obtidos com as enzimas tanase, foram considerados muito bons, tendo em vista o processo realizado sem adição de enzima. Foi obtido uma média de fluxo permeado de 97,6 L/hm² e 104,9 L/hm² para os processos com 0,3% tanase comercial e com a combinação de enzimas do CTAA, respectivamente.

As características físico-químicas do suco clarificado não apresentaram mudanças significativas em função das diferentes concentrações das enzimas utilizadas no delineamento experimental. Este delineamento experimental também não foi efetivo para a redução do teor de taninos, tendo ocorrido, ao contrário, um

aumento destes com o aquecimento, que, entretanto, não foi significativo em relação ao da polpa ($p<0,05$).

Para as concentrações de 0,3% de tanase, tanto a comercial quanto a obtida no CTAA, houve redução no teor de taninos totais. Na combinação das enzimas tanase e hidrolase CTAA foi obtido uma redução, tanto no teor de taninos hidrolisáveis quanto no teor de taninos condensados. Contudo, a mais efetiva foi a tanase comercial (Biopectinase CT), apresentando uma redução de 18,9%, devido à sua maior atividade tanase.

A análise sensorial mostrou que, em termos de sabor característico, os sucos clarificados tratados com 0,10% e 0,15% de tanase foram considerados iguais ao suco clarificado sem adição de enzima, que foi utilizado como referência.

O sistema de recolhimento asséptico na saída da membrana foi eficiente para impedir a contaminação do suco após a clarificação, mantendo o suco estéril por todo o período de vida de prateleira.

O estudo da vida de prateleira mostrou que a temperatura de refrigeração (4° - 8°C) foi a mais adequada para a armazenagem do suco clarificado, pela maior preservação das suas características físico-químicas.

Para trabalhos posteriores podem ser consideradas as sugestões que seguem:

Poderia ser testada a utilização do suco clarificado com 0,3% tanase, para obtenção de concentrado e posteriormente a sua aplicação na formulação de sorvetes, bolos, ou como xarope para refrigerantes.

Um estudo sobre o material retido no processo poderia ser de grande interesse. Este poderia ser utilizado como indutor para produção de tanase por *Aspergillus niger*, tendo em vista a concentração de taninos neste produto. Atualmente é utilizado farelo de trigo como substrato, adicionando-se ácido tânico como indutor. O trabalho proposto poderia estudar a disponibilidade do tanino natural no processo de produção de tanase em fermentação semi-sólida, tendo em conta que, a tanase é uma enzima indutiva, produzida apenas em presença de ácido tânico ou de seus derivados. Esse estudo teria aplicação na redução de custos de investimentos para a produção da enzima, visto que poderia significar uma redução deste insumo no processo. Isto traria o benefício adicional de melhorar a sustentabilidade ambiental, devido à utilização deste resíduo orgânico.

VI – BIBLIOGRAFIA

ÁLVAREZ, S.; RIERA, F.A.; ÁLVAREZ, J., CUPERUS, F.P.; BOUWER, S.TH; BOSWINKEL, G.; VAN GEMERT, R.W.; VELDSINK, J.W.; GIORNO, L.; DONATO, L.; TODISCO, S.; DRIOLI, E.; OLSSON, J.; TRÄGÅRDH, G.; GAETA, S.N. & PANYOR, L. A new integrated membrane process for producing clarified apple and apple aroma concentrate. **Journal of Food Engineering**. V.46, n°2,p.109-125. 2000.

AFONSO HAMM. Brasil é o segundo maior produtor de frutas do mundo. In: Municípios do Ceará. n.42, ano V. Set/Out. p.12. 2001.

ALVES & R.M.V. & GARCIA, E.E.C. Embalagem para sucos de frutas. Coletânea do ITAL, Campinas, v.23, n.2, p.105-122, jul./dez. 1993.

AMIOT, M.J., TACCHINI, M., AUBERT, S., NICOLAS, J. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. **Journal of Food Science**, v.57, p. 958-962, 1992.

ASTN. **Base de dados do mercado nacional**. Intertexto. Gestão da informação, estudos e projetos. 24 p., 2001.

BALBACH, A.,& BOARIM, D.S.F. As frutas na medicina natural. 1° ed. rev., atual. e condens. Itaquaquecetuba, SP: Editora Missionária, 1992.

BANCO DO BRASIL. Cajucultura. **Comércio Exterior. Informe do Banco do Brasil**, Edição n°35 – junho, p.37- 43, 2001.

BANDEIRA, C.T. **Métodos de extração da goma de cajueiro.** Fortaleza : EMBRAPA-CNPCa, 2p. (EMBRAPA-CNPCa. Pesquisa em Andamento, 06), 1991.

BATE-SMITH, E.C. Adstringent tannins of acer species. **Phytochemistry**, v. 16, p.1421-1426, 1977.

BOBBIO, F. O. & BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. São Paulo: Varella. 2ª ed., 222p. 1995.

BON, E.P.S. Uso de biocatalisadores na produção de insumos para a indústria de alimentos. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 3., 1999. Livro de Resumos. Campinas, n. 048, 1999.

BON, E.P.S. Enzimas na indústria de alimentos. In: RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; PASTORE, G.M. **Ciência de alimentos, avanços e perspectivas na América Latina.** Campinas: UNICAMP - Faculdade de Engenharia de Alimentos, p.140-150. 1997.

BRACCO, A. Sucos Tropicais: conquistando um lugar ao Sol. **Alimentos e Tecnologia**, v. 1, n. 89, p.4-9, 1986.

BRASIL, I.M.; MAIA, G.A.; FIGUEIREDO, R.W. Mudanças fisico-químicas durante a extração e clarificação de suco de goiaba (*Psidium guavava* L. Var. Pomifera). **Pesq. Agrop. Bras.**, Brasilia, v. 30, n. 8, p.1097-1106, ago., 1995.

BROADHURST, T.R.B. & JONES, W.T.J. **Scienc Food Agric.**, v.29, p.788, 1978.

CABRAL, L. **Aperfeiçoamento da tecnologia de produção e diversificação do uso de polpa de frutas tropicais.** Projeto 10.1996.750. Embrapa Agroindústria de Alimentos, 1999.

CABRAL, L. **Aplicação da tecnologia de membranas na indústria de alimentos**. Engenharia de Alimentos, Rio de Janeiro: Apostila, n.17. p. 27-30, 1998.

CANNAS, A. Tannins. Animal Science Department. Cornell University. 1999. Disponível em: http ://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/tannin/htm>. Acesso em: 15 ago. 2001.

CANTARELLI, C.; BRENNA, O.; GIOVANELLI, G.; ROSSI, M. Beverage stabilization through enzymatic removal of phenolics. **Food Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 203-213, 1989.

CARMONA, A. Tannins: Thermostable pigments which complex dietary proteins and inhibit digestive enzymes. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, v. 44, n. 4s, p. 31s-35s, 1994.

CARVALHO, L.M.; SILVA, C.A.B.; CASTRO, I.M.; MELLO, J.S.R.; SILVA, D.S.; GODOY, R.L.O. & ABADIO, F.D.B. Avaliação do teor de açúcares em suco de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merr) clarificado. XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Livro de resumos. p.4150. Fortaleza. 2000.

CAVALCANTI, J.J.V. Caju da Mata Atlântica – *Anacardium occidentale.*, site: UNICAMP. Disponível desde 1998. <http:// www/unicamp.br/nipe/rbma/cajmain>. Acesso em: 2 jul. 2001.

CCE - COMUNIDADE COMUM EUROPÉIA. **NORMA n° 95/2/EC,** 20 fev. 1995.

CECCHI, H.M. **Pigmentos, vitamina A e outras propriedades físicas, químicas e sensoriais dos sucos e caju e maracujá.** 1978. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

CHAMCHONG, M. & NOOMHORM, A. Effect of pH and Enzymatic Treatmente on Microfiltration and Ultrafiltration of Tangerine Juice. **Journal of Food Process Engineering,** v. 14, p. 21-34, 1991.

CHEFTEL, J.C. & CHEFTEL , H. **Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos**. Zaragoza: Editorial Acríbia, 1989. v. 1 - 2ª edição, 333 p.

CHERYAN, M. & ALVAREZ, J.R. 1995. Food and beverage industry application. In: VAILLANT, F.; MILLAN, P.; O'BRIEN, G. DORNIER, M. DECLOUX, M. REYNES, M. Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. **Journal of Food Engineering,** v.42, p.215-224, 1998.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and Microfiltration Handbook.** Lancaster: Technomic Publishing Company Inc, 1998. 527 p., p. 471-481.

CHUNG,K.T.; WEI,C.; JONHSON,M.G. Are tannins a double-edge sword in biology and health? **Trends in Food Science & Technology**, v.9, p.165-175, 1998.

CONSTENLA, D.T. & LOZANO, J.E. Hollow fibre ultrafiltration of apple juice macroscopic approach. **Legensmittel-Wissenschaft und Technologie**, 30 (4), pp.373-378.Compendex Abstract FLUIDEX 1997

CORNWELL, C.J. & WROLSTAD, P.E. Causes of browning in pear juice concentrate during storage. **Journal of Food Science**. v.45, p515-518, 1981.

CORNISH-BOWDEN, A. & CÁRDENAS, M.L. In: REHM, H.J., REED, O.G. (Ed.). **Biotechnology**. Weinheim: VCH, 1987, cap. 1.

COSTA, M.C.O. da,. **Estudo da estabilidade do suco de caju (Anacardium occidentale L.) preservados pelos processos hot fill e asséptico.** 1999. 80f. (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

COURI, S. **Efeito de cations na morfologia do agregado e produção de poligalacturonase por *Aspergilus niger* mutante 3T5B8.** 1993. (Doutorado em Tecnologia de Processos Bioquímicos) - Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química. Rio de Janeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

COURI, S., FREITAS, S. **Tecnologia enzimática. Indústria de Alimentos.** Embrapa Agroindústria de Alimentos, 1997. Apostila.

CURL, A.L. & TALBURT, F.W. Deterioration in storage. In: TRESSLER, D.K., JOSLYN, M.A. **Fruit and vegetable juice processing technology**, Westport: Connecticut: AVI, 1961. 1028p, p. 411-445.

DESCHAMPS, S.S. & CHERYAN, M.J. Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans. **J. Food Science**, v.50, p.905, 1985.

DESCHAMPS, S.S. & CHERYAN, M.J. Determination of phenolic compound of dry beans using vanillin, redox and precipitation assays. **J. Food Science**, v.52, p.332, 1987.

DHAR, S. C. & BOSE S.M., Purification, crystallization and Physiochemical properties of tannase of Aspergillus niger. **Leather Sci**., v. 11, 27-38 p., 1964.

DRIOLLI, E.; TODISCO, S.; TALLARICO, P.; CALABRO, V.; GIORNO, L. and DONATO, L. Industrial Membrane use in Fruit Juice Processing. Seminar on the Ecological Applications of Innovation Membrane **Technology in the chemical industry,** Cetraro, Calabria (Italy),1-4 May., 1996.

DUBUC, B. Cashew apple juice, anyone? Green Technology – **IDRC Reports**, Montreal, v. 23, n. 1, p. 14, abr., 1995.

DUKE, J A. **Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants.**. Boca Raton: FL. CRC Press, 1992.

DUXBURY, D.D. New enzymes enhance mechanical processing. **Food Processing,** v. 6, p. 65, 1993.

DZIEZAK, J.D. Enzyme catalysts for food. Membrane separation technology offers processors unlimited potential. **Process Food Technology,** jan., p. 78-85, 1991.

ELEFTHERIADOU, M., QUANTICK, P., NOLAN, M. Factors affeting quality and safety of freshly squeezed orange juice (FSOJ**). Dairy Food and Environmental Sanitation,** v. 18, n. 1, p. 14-23, jan., 1998.

EMBRAPA. **Estudo de pré-viabilidade econômica para produção de suco de caju.** Embrapa Agroindústria De Alimentos 2000.

EMBRAPA AGROINDÚSTRIA DE ALIMENTOS. **Guia da terra Ministério da Agricultura e do Abastecimento.** Brasília, Ano 3 – n. 1, fev. 1999.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Caju, Fortaleza-CE. **Programa Nacional de Pesquisa de Caju**. Fortaleza, EMBRAPA-CNPCa. 59p. (EMBRAPA-CNPCa. , 05), 1991.

EMBRAPA. Produção de castanha – Panorama mundial. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/~vitor/Panorama.html>. Acesso em: 21 fev. 2001.

ENZITEC 99. **4° Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática.** Disponível em: http://www.iq.ufrj.br/users/enzitec/index.htm#enzimas W.R.Santos e E.P.S.Bon. Instituto de Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Ilha do Fundão - Cidade Universitária – Cento de Tecnologia - Bl. A.

EWING, J. New Logic International, VSEP (Vibratory Shear Enhanced Process). Disponível em: <http://www.vsep.com/index.html> Acesso em: 29 fev. 2000.

FAIGH, J.G. Enzyme Formulations for Optimazing Juice Yields. **Food Technology,** v. 9, p. 79-83, 1995.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). State of he World's Forests. 1997. Disponível em: <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/forestry/publclst.htm> Acesso em 12 jul. 2001.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION).Copyright FAO 1990-1998 Disponível em: <http://apps1.fao.org/servlet/xteservlet. Acesso em 05 nov. 2001.

FDA. Sulfiting agents; Affirmation of GRAS status. **Food and Drug Admin**., Fed. Reg.53: 51065 – 51084. 1988.

FELLOWS, P. **Tecnologia del processado de los alimentos: princípios Y práticas**. Zaragoza: Acribia, 1994. 549 p.

FENNEMA, O.R. Química de los alimentos. 2.ed. Zaragoza, España: Acribia, 1993. 1094p.

GALIOTOU-PANAYATOU, M.; RODIS, P.; MACRIS, B.J.; STATHAKOS, D. Purification of a novel enzyme involved in catechin degradatio by calvatia gigantea. Applied Microbiology and Biotechnology, v.28, n.6, p.543-545, 1988.

EWING, J. New Logic International, VSEP (Vibratory Shear Enhanced Process). Disponível em: <http://www.vsep.com/index.html> Acesso em: 29 fev. 2000.

FAIGH, J.G. Enzyme Formulations for Optimazing Juice Yields. **Food Technology,** v. 9, p. 79-83, 1995.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). State of he World's Forests. 1997. Disponível em: <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/forestry/publclst.htm> Acesso em 12 jul. 2001.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION).Copyright FAO 1990-1998 Disponível em: <http://apps1.fao.org/servlet/xteservlet. Acesso em 05 nov. 2001.

FDA. Sulfiting agents; Affirmation of GRAS status. **Food and Drug Admin.**, Fed. Reg.53: 51065 – 51084. 1988.

FELLOWS, P. **Tecnologia del processado de los alimentos: princípios Y práticas**. Zaragoza: Acribia, 1994. 549 p.

FENNEMA, O.R. Química de los alimentos. 2.ed. Zaragoza, España: Acribia, 1993. 1094p.

GALIOTOU-PANAYATOU, M.; RODIS, P.; MACRIS, B.J.; STATHAKOS, D. Purification of a novel enzyme involved in catechin degradatio by calvatia gigantea. Applied Microbiology and Biotechnology, v.28, n.6, p.543-545, 1988.

GIRARD, B. & FUKUMOTO, L.R. Membrane processing of fruti juices and beverages: A Rewiel. **Critical Rewiel in Biotechnology**, v. 20, n. 2, p. 109-175, 2000.

GOMES,C.A.O. **Produção de enzimas despolimerizantes por fermentação em meio semi-sólido por *Aspergillus niger* mutante 3T5B8**. 1995. 110p. Dissertação de mestrado. Rio de janeiro. Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de janeiro.

GOMES, I.; GOMES, J.; STEINER, W. & ESTERBAUER, H. Production of cellulase and xylanase by a wild strain of :Trichoderma viride. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. 36: 701-707, 1992.

GOODWIN, T.W. **Chemistry and biotechnology of plant pigment.** London: Ed. Academic Press London New York, San Francisco. 1976. Second Edition, v.2.

GRAUMLICH, T.R., MARCY, J. E., ADAMS, J.P. Aseptically packaged orange juice and concentrate: a review of the influence of processing and packaging conditions on quality**. Journal Agricultural Food Chemistry**, v.34, p.402-405, 1986.

HABERT. C**; Introdução aos processos de separação por membranas.** 1994. In: Escola Latinoamericana de Processos com Membranas, 1, Rio de janeiro.

HADDOCK, E.A.; GUPTA, R.K.; AL-SAHAFI, S.M.K.; HASLAM, E.; MAGNALOTO, D. The metabolism of gallic acid and hexadydroxydiphenic acid in plants: biogenic

an molecular taxonomic consideration. **Phytochemystry**, v.21, n.5, p.1049-1062, 1982.

HAGERMAN, A. E. & ROBBINS, C. T. Implications of soluble tannin-protein complexes for tannin analysis and plant defense mechanisms. **Journal of Chemical Ecology**, 13(5):1243-59, 1987.

HANSEN, N.I. Recovery of beer form surplus yeast by membrane filtration. Technical Quarterly. **Master Brewers Association of the Americas,** v. 26, n. 1, p. 8-13, 1989.

HASLAM, E. & TANNER, R.J. Spectrophotometric assay of Tanase. **Phytochemistry**, v.9, p.2305-2309, 1970.

HEATHERBELL, D.A., SHORT, J. & STRUEBI, P. **Confructa Studien** 22(5/6): 157, 1977.

HSU, JUINH-CHIN, HEATHERBELL, D.A. and YORGEY, B.M. Effects of Variety, Maturity and Processing on Pear Juice Quality and Protein Stability. **Journal of Food Science,** v. 55, n. 6, p. 1610-1613, 1990.

IBGE. Anuário estatístico do Brasil, 1996. In: CAVALCANTI, J.J.V. Caju da Mata Atlântica – *Anacardium occidentale*. UNICAMP. Disponível em: <http:// www.unicamp.br/nipe/rbma/cajmain>. Acesso em 29 fev. 2000.

IMUNGI, J.K.; SCHEFFELDT, P.; SAINT-HILAIRE, P. Physical-chemical changes during extraction and contraction of clear guava juice. **Lebet Wuss Technology**, v.13, n.5, p.248-251, 1980.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas: Métodos Químicos e Físicos para Análise de alimentos.** São Paulo, 1985.

ITOUA GASSAYE, S.; DAVIN, A.;PEUCHOT, M.; BENAIM, R. Interet des Techniques a membrane dans la production de jus de fruits tropicaux (cas des jus clarifies d'ananas): a evolution des flux de filtration au cours du procede. **Fruits,** v. 46, n. 3, p. 251-258, 1991.

JANSER, E. Enzyme applications for tropical fruit and citrus. **Fruit Processing,** v. 7, n. 10, p. 388-393, 1997.

JOHNSON, D. V. **O caju no nordeste do Brasil: um estudo geográfico.** Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 1974. 169 p.

JUNDILAB. Manual de instrução do Turbidímetro de bolso.

KACEM, B. MATTHEWS, R.F.; CHANDALL, P.G.; CORNELL, J.A. Nonenzymic browning in asseptically packaged orange juice and drinks. Effects of amino acids and anaerobic storage. **Journal of Food Science,** v. 52, n. 6, p. 1665, 1987.

KIESER, M.E., POLLARD, A., TIMBERLAKE, C.F. Components of fruit juices. I. Copper as a cofator affecting sediment in bottled apple juices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 8, p. 151-158, 1957.

KOCH. 1988. **Case History 3. Koch Membrane Systems**, Wilmington, MA. 471-481. In CHERYAN M. Ultrafiltration and Microfiltration Handbook. Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc. 1998. 527 p.

KORTBECH, O.R. Spetacular growth in major markets for juice. **International Trade Forum,** v. 4, n. 3, p. 4-9, July/Sept., 1991.

KOSEOGLU, S.S. Use of membranes in citrus juice. Journal of Membrane Science. Vol.III, p.39-48. 1996.

LEGISLAÇÃO. Portaria nº 451 de 19 de Setembro de 1997, reeditada em 02 de Julho de 1998 (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DO MINISTÉRIO DA SAÚDE)

LEKHA, P.K.; LONSANE, B.K. Production of tannin acyl hydrolase: state of the art. **Advances in Applied Microbiology**, v.44, p.214-257. 1997).

LIMA, V. P.M.S - org. **A Cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil.** Fortaleza: BNB/ Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste, 486p., 1988.

LOPES NETO, A. Importância sócio-econômica da cajucultura. In: CARVALHO, A. R. de, TELES, J. A.(Org) **Caju: negócio e prazer**. Fortaleza: SETUR/Governo do Estado do Ceará, 1997. p. 49-68.

MACIEL, M.I., HANSEN, T.J., ALDEINGER, S.B. Flavor chemistry of cashew apple juice. **Journal Agric. Food Chem**., v. 34, p. 923-927, 1986.

MALDONADO, J. **Membranas e Processos de Separação.** Instituto Nacional de Tecnologia, Rio de janeiro: Apostila, 40 p., 1991.

MANGAS, J.J.;SUAREZ, B;. PICINELLI, A.; MORENO, J. & BLANCO, D. Differentiation by Phenolic Profile of Apple Juices Prepared According to Two Membrane Techniques. **J. Agric. Food Chem.**, v. 45, p. 4777-4784, 1997.

MARTINS,J.V.B. **Perpectivas de desenvolvimento no Brasil de alguns polímeros especiais.** Ministério da Ciência e Tecnologia, Rio de janeiro, p. 40. Relatório de Consultoria para a Comissão de Novos Materiais do MCT, 1987.

MATTA, V. **Estudo da utilização dos processos de separação por membranas para obtenção de suco de acerola clarificado e concentrado.** 1999. 182p. (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MEDINA, J.C.; BLEINROTH,L.W.; BERNHARDT, R.W.; HASHIZUME,T., RENEITO, U.V.; VIEIRA, L.F. **Caju – da cultura ao processamento e comercialização - Série Frutos Tropicais.** Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1978. p.89-148.

MENEZES, J.B.; ALVES, R.E. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do caju**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 20p. EMBRAPA-CNPAT. 17, 1994.

MENEZES, L.F. **Efeito da enzima tanase e gelatina sobre os taninos na clarificação do suco de caju (*Anacardium occidentale* L.).** 1999. 109p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº27, **Regulamento técnico referente a informação nutricional complementar** - Diário oficial da União, Seção 1, 16 jan. 1998.

MAA - Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Oportunidades de investimentos em agricultura irrigada no Estado do Ceará**. Brasília: MMA,/SRH/DNOCS/SDR, 22p., 1998.

MONDOR, M.; GIRARD, B. & MORESOLI, C. Modeling flux behavior for membrane filtration of apple. **Food Research International,** v. 33, n. 7, p. 539-548, 2000.

MOURA FÉ, J.A., HOLANDA, L.F.F., MARTINS, C.B., MAIA, G.A. Características químicas do hipocarpo do caju (Anacardium occidentale L.). **Ciênc. Agron.**, v. 2, p. 109-112, 1972.

MOURA, C.F.H. **Qualidade de pedúnculo de clones de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L. var. nanum) irrigados.** 1998. 96p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

MULDER, M. **Basic principles of membrane techonology**. Kluwer Academic Publishers, Norwell, M.A., 1991.

NAGALAKSHMI, J; JAYALAKSHIMI, R.; SESHADRI, R. Aproaches to decreaming of black tea infusions by solvent decaffeination and tannase treatment. Journal of food Science and Technology, v.22, n.3, p.198-201, 1985.

NAIR, M.K., RAO, E.V.V.B., NAMBIAR, K.K.N. *Cashew (Anacardium occidentale* L.). Kerala: **Central Pantation Crops Research Institute,** p. 169, 1979.

NERY, I.; COURY, S.; PARK, Y.K. Isolamento e seleção de fungos potencialmente produtores de tanase extracelular. In: III SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS , 3., 1999. Resumos ... Campinas, 1999. n. 273.

NOVO INDUSTRY S.A. (Dinamarca). **Celulase determination**: División Enzimes, N. AF 149/5. GB, 1978.

OBEIRNE, D. Effects of pH on nonenzymic browning during storage in apple juice concentrate prepared from Bramley´s Seedling Apples. **Journal of Food Science**. v.51, n.4, p.1073-1074, 1986.

OLIVEIRA, V.H. de; CRISÓSTOMO, L.A.; MIRANDA, F.R. de; ALMEIDA, J.H.S.; **Produtividade de clones comerciais de cajueiro anão precoce (Anacardium occidentale L.) irrigados no município de Mossoró- RN.** Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT. Comunicado Técnico, n. 14, p. 6, 1998.

ORTIZ, L. T.; ALZUETA, C.; TREVINO, J. & CASTANO, M. Effects of fava bean tannins on the growth and histological structure of the intestinal tract and liver of chicks and rats. **Britsh Poultry Science**, v. 35,n. 5, p. 743-54, 1994.

PADILLA-ZAKOUR, O. & McLELLAN, M.R. Optimization and modeling of apple juice cross-flow microfiltration with a ceramic membrane. Journal of Food Science. V.58, n.2, p.369-374, 1993.

PAIVA, F.F. de A. GARRUT, D. dos S.; SILVA NETO, R.M. da. **Aproveitamento industrial do Caju**. Fortaleza: EMBRAPA–CNPAT/SEBRAE/CE. (Embrapa-CNPAT, 38) p.37-44. 85p., 2000.

PAIVA, J.R. de; ALVES, R.E.; BARROS, L. de M.; CAVALCANTI, J.J.V.; ALMEIDA, J.H.S. de; MOURA, C.F.H. **Produção e qualidade de pedúnculo de clones de cajueiro anão precoce sob cultivo irr**igado. Embrapa-CNPAT, Fortaleza, 5p.(Embrapa-CNPAT. Circular Técnica, 19), 1998.

PARENTE, J.I.G., PAULA PESSOA, P.F.A. de P., NEMEKATA, Y**. Diretrizes para a recuperação da cajucultura do Nordeste**. Fortaleza: EMBRAPA/CNPCa, (EMBRAPA – CNPCa. , 04). 51p. , 1991.

PAULA PESSOA, P.F.A.; LIMA, L.A.; PARENTE, J.I.G. *et al.* Cajucultura brasileira: mercado interno versus mercado externo. Fortaleza: **EMBRAPA – CNPAT**, 16p. (EMBRAPA-CNPAT. , 11), 1994.

PAULL, R.E.; ROHRBACH, K.G. Symptom development of chiling injury in pineapple fruit. **Journal of the American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 110, n. 1, p. 100-105, 1985.

PIMENTEL, C.R.M. **Alguns aspectos econômicos da cultura do cajueiro no Piauí.** Fortaleza: EMBRAPA-CNPCa, 13p. (EMBRAPA-CNPCa. , 06). 1992.

PRICE, R.L., HOLANDA, L.F.F., MOURA FÉ, J.A. Constituents of brasilian cashew apple juice. **Ciênc. Agron.**, v.5, n.1-2, p. 61-65, dez., 1975.

REED, J.D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **J. Anim. Sci.**, v. 73, p.1516-1528, 1995.

RIEDL, K., GIRARD, B. &LENCKI, R.W., Interactions responsible for fouling layer formation during apple juice microfiltration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 46, pp. 2458-2464.1998.

ROING, M.G.; RIVERA, Z.S. & KENNEDY, J.F. L-ascórbic acid: na overwiew. International **Journal of Food Sciences and Nutrition,** v. 44, p. 59-72, 1993.

RODRIGUES, R.B., CABRAL, L.M. & MENEZES, H.C de. Estudo do processo de microfiltração na clarificação á frio de suco de camu-camu. XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos

ROMMEL, A. & WROLSTAD, R.E. Composition of flavonols in red raspberry juice as influences by cultivar, processing and enviromental factors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 1941-1950, 1993.

ROSA, S.V.; ROSA, M.F.; GOMES, F.S. & CABRAL, L.M.C. Remoção da microbiota de suco de manga através da microfiltração e ultrafiltração. XX Congresso Brasileiro de Microbiologia.

RZEDOWSKI, W. Use of enzymes in the frui and vegetable industries. **Annales de Technologie Agricole**, v.21, n.4, p.535-543, 1972.

SAMPAIO, T.M.C. **Estudo dos sucos límpidos simples, concentrados e reconstituídos de caju (Anacardium occidentale, L.)**., 1990. 172p. (Tese de Mestrado) Fortaleza: Universidade Federal do Ceará

SANDERSON, G.W. & COGGON, P. **Green tea conversion using tannase and natural tea enzymes**. United States Patent, n. 3.812.266, 21 May. 1974.

SANTOS, W.R. & BON, E.P.S. A situação da tecnologia enzimática no Brasil. In: ENZITEC, Rio de Janeiro, 1999.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SCHULTZ, J.C.; BALDWIN, I.T. & NOTHNAGLE, P.J. Hemoglobin as a binding substrate in quantitative análisis of plant tannins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 4, p. 823-826, 1981.

SCHWEIZERISCHE, FERMENT AG. **La utilización de enzimas en la indústria de los zumos de frutas,** Circular Técnica, n.13, mai. 1980.

SHAHIDI, F. NACZK, M. **Food phenolics – Sources, Chemistry, Effects and Aplications.** Flórida: FSS, 1995. 1 ed., 319 p., p. 75-191.

SREENATH, H.K. & SANTHANAM, K.A. The use of Commercial Enzymes in White Grape Juice Clarification. v.73, nº3, p.241-243. 1992.

SILVA, M.F.V. **Efeito de diferentes tratamentos e embalagens na polpa de acerola e caracetrização dos teores de ácido ascórbico e das antocianinas durante o tempo de armazenamento.** 1999. (Tese de Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SILVA, V.V. **Caju – coleção 500 perguntas – 500 respostas**. Brasília: Embrapa Agroindústria Tropical, 250p. 1998_a.

SILVA, A.P.V.; MAIA, G.A.; OLIVEIRA, S.F.; FIGUEIREDO, R.W. & BRASIL, I.M. Estabilidade do suco clarificado de cajá (Spondia lútea L.) mediante emprego de enzimas pectinolíticas e agentes "fining". **Rev. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.11, p. 1933-381998$_b$.

SOARES, J. B**. O Caju: aspectos tecnológicos**. Fortaleza: Banco Nordeste Brasil, p. 256 Monografia, 24 p., 1986.

SOARES, J.B. & MAIA, G.A. Determinações colorimétricas de ácido ascórbico em alguns frutos regionais. **Pesq. Agrop. Nord.**, v. 2, n.2, p. 79-81, 1970.

SOUZA FILHO, M.S.M. **Aspectos da avaliação física, química, físico-química e aproveitamento industrial de diferentes clones de caju (*Anacardium***

***occidentale* L.).** 1987. 196 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SREENATH, H.K. & SANTHANAM, K. The use of Commercial Enzymes in White Grape Juice Clarification. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. v.73, n.3, p.241-243, 1992.

STACK, A. Quality juice processing**. Fruit Processing,** p. 6-10. Jan.-fev., 1995.

STROHM, G. WUCHERPFENNING, K.; OTTO, K. Fining and clarification of plant-derived beverages. **Advanced Food Research**, v.17, p.153, 1987.,

TARLETON, E.S.; WAKEMAN, R.J. **Understanding flux decline in crossflow microfiltration.** Part III TransIChemE. 72, p. 521-540, 1994.

TELLES, P.R.S. **Industrialização do pseudofruto e da castanha.** In: LIMA, V.P.M.S. (org.) Cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil. Fortaleza: BNB/ Escritório de Estudos Econômicos do NE, 1988. p.357-401.

TODISCO,S.; PEÑA, L.; DRIOLI, E. & TALLARICO, P. Analysis of the Fouling Mechanism in Microfiltration of Orange Juice. **Journal of the Food Processing and Preservation,** v. 20, p. 453-466, 1996.

TRAMMELL, D.J., DALSIS, D.E., MALONE, C.T. Effect of oxygen on taste, ascorbic acid and browning for HTST – Pasteurized, single-strengt orange juice. **Journal of Food Science**. v.51, p.1021-1023, 1986.

TRESSLER, D.K. & JOSLYN, M.A. **Fruti and vegetable juice processing technology.** Westport: Avi Publishing. 1971.

USP – Biblioteca Virtual do Estudante Brasileiro. 1998. Disponível em: <http://www.bibvirt.futuro.usp.br/acervo/paradidat/frutas/caju>. Acesso em: 21 fev. 2001.

VAARNAM, A.H., SUTHERLAND, J.P. Beverages: technology, chemistry and microbiology. London: Chapman & Hall, 1994. v.2, 464p. Cap.2: **Fruit juices**, p.27-72.

VAILLANT, F.; MILLAN, P. O'BRIEN, G.; DORNIER, M. Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. **Journal of Food Engineering,** v. .42, n. 4, p. 215-224, 1999.

VAN SUMERE, C.F. Phenols and phenolic acids. Plant phenolics, v.1, p.29, 1989.

VICENTE, A.M.; CENZANO, I. & VICENTE, J.M. **Manual de indústrias dos alimentos**. Cap.X - Elaboração de sucos, geléias e bebidas refrigerantes. p. 345-355. Ed. Varela. São Paulo. 1996.

WEETAL, H.H.; Enzymatic gallic acid esterifcation. **Biotechnology & Bioengineering**, v.27, n.2, p.124-127, 1985.

WILSON, E.L. & BURNS, D.J.W. Kiwifruit Juice Processing Using Heat Treatment Techniques and Ultrafiltration. **J. Food Sci**., v. 48, p. 1101-1106, 1983.

WOOD, T.M. & GARCIA-CAMPAYO, V.; enzymology of cellulose degradati. **Biodegradation**, v. 1, p. 147-161, 1990.

WU, M.L., ZALL, R.R. & TZENG, W.C. Microfiltration and Ultrafiltration Comparison for Apple Juice Clarification. **Journal of Food Science,** v. 55, n. 4, 1162-1163, 1990.

YÚFERA, E.P. **Química de los alimentos**. Madrid: Síntesis, 1997. 459p.

Anexos

Anexo I - Limpeza da membrana xvii

Anexo II - Ficha de análise utilizada na análise sensorial para comparação do sabor característico do suco clarificado de caju com enzima tanase nas concentrações de 0,05%; 0,10% e 0,15% xviii

Anexo III - Média da permeabilidade hidráulica obtida para os processamentos de clarificação de suco de caju xix

Anexo IV - Tabela da análise de variância dos resultados dos processamentos do delineamento experimental xx

Anexo V - Tabela da análise de variância em função dos fluxos permeados do suco de caju nos processamentos do delineamento experimental . xxi

Anexo VI - Figura 1 – Análise de regressão do teor de **vitamina C** no suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira xxii

Figura 2 – Análise de regressão do teor de **acidez** no suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira xxii

Figura 3 – Análise de regressão do **pH** do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira xxiii

Figura 4 – Análise de regressão da **luminosidade** do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira xxiii

Figura 5 – Análise de regressão da **variável de cor b_{HUNTER}** do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira xxiv

Figura 6 – Análise de regressão do **teor de taninos totais** do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira xxiv

Figura 7 – Análise de regressão **do teor de taninos condensados** do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira ... xxv

Anexo VII - Aspecto do suco clarificado de caju estocado durante o período de vida de prateleira à temperatura ambiente (a) e sob refrigeração (b)..... xxvi

Anexo I - Limpeza da membrana

A limpeza da membrana de microfiltração seguiu as recomendações do fabricante, sendo realizada ao final de cada processamento. Todas as soluções foram preparadas com água destilada.

As seguintes etapas foram realizadas até restabelecimento da permeabilidade original:

A) Enxágüe: com água destilada, circulação por 20 minutos;

B) Limpeza alcalina: solução de hidróxido de sódio a 0,15%(v/v) a 45ºC, partindo de outra solução de hidróxido de sódio 1N, pH 10, circulação por 20 minutos;

C) Enxágüe: com água destilada, circulação por 20 minutos;

D) Limpeza cloro-alcalina: solução de hidróxido de sódio a 0,30%(v/v) a 45ºC, partindo de outra solução de hidróxido de sódio 1N misturada a uma solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm, circulação por 20 minutos;

E) Enxágüe: com água destilada, circulação por 20 minutos;

F) Limpeza ácida: solução de ácido fosfórico 0,04%(v/v) a 45ºC, pH 2, circulação por 20 minutos;

G) Enxágüe: com água destilada, circulação por 20 minutos.

Anexo II

TESTE DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA

Nome:_____Data: _____

Você está recebendo amostras de suco de caju para comparar o **sabor característico** .Está sendo dada uma amostra **referência** marcada com **R**, com a qual você vai comparar cada amostra. Prove cada amostra: determine se é **mais característica**, **comparável**, ou **menos característica** do que a **referência**. Então marque a quantidade de diferença que existe.

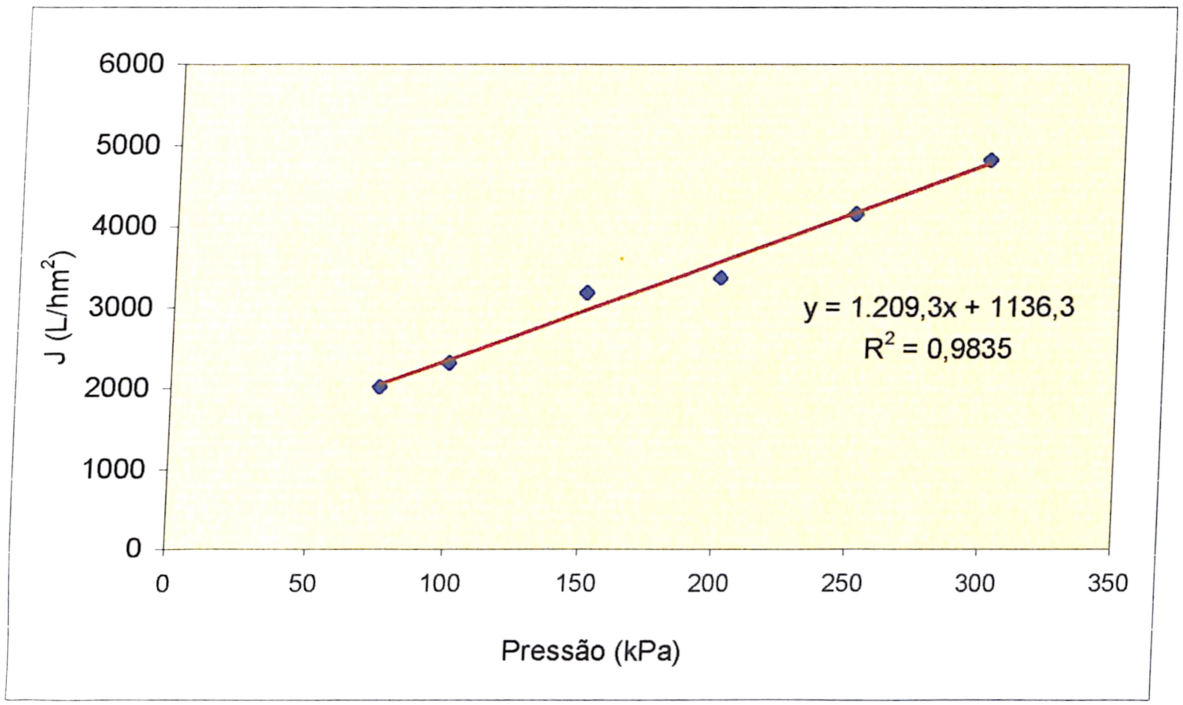
Nº da amostra	____	____	____	____
Mais característica que R	____	____	____	____
Igual a R	____	____	____	____
Menos característica que R	____	____	____	____

Quantidade da diferença				
Nenhuma	____	____	____	____
Leve	____	____	____	____
Moderada	____	____	____	____
Muito	____	____	____	____
Extrema	____	____	____	____

Comentários: _____

Ficha de análise utilizada na análise sensorial para comparação do sabor característico do suco clarificado de caju com enzima tanase nas concentrações de 0,05%; 0,10% e 0,15%.

ANEXO III



Média da permeabilidade hidráulica obtida para os processamentos de clarificação de suco de caju.

Anexo.IV

Tabela da análise de variância dos resultados dos processamentos do delineamento experimental.

Parâmetros analisados	.pH	Acidez	°Brix	Vitamina C	Tan. totais.	Tan. condens.	$L_{HUNTER.}$	Turbidez
G.L.	Valores do teste F de Fisher-Snedecor							
etapas 3	0,33	16,81**	4,36*	4,52*	8,31**	24,83**	16,85**	7,49**
Tratamento 8	1,72	1,05	2,30	1,76	0,92	3,05*	1,61	1,83
Celulase 2	2,11	1,09	2,55	2,68	0,11	6,66*	1,83	6,12**
Tanase 2	0,10	0,09	3,13	1,29	1,13	4,36*	0,42	0,53
Inter. C*T 4	2,34	1,51	1,76	1,54	1,23	0,58	2,10	0,33
Celulase/Tanase1 2	2,56	1,54	3,85*	5,21*	0,87	4,67*	2,03	4,27*
1° grau 1	1,78	3,04	7,68*	9,71**	0,70	1,68	0,03	6,62*
2° grau 1	3,33	0,03	0,02	0,72	1,03	7,67*	4,03	1,91
Celulase/Tanase2 2	2,11	0,77	0,97	0,14	0,91	0,75	1,28	0,93
1° grau 1	2,71	1,12	0,63	0,08	0,28	0,18	1,21	1,63
2° grau 1	1,51	0,42	1,31	0,20	1,54	1,32	1,35	0,23
Celulase/Tanase3 2	2,13	1,80	1,25	0,40	0,79	2,41	2,72	1,58
1° grau 1	0,18	0,12	2,27	0,59	0,81	2,82	5,39*	2,53
2° grau 1	4,08	3,48	0,23	0,21	0,77	1,99	0,04	0,63
Tanase/Celulase1 2	0,42	1,94	2,51	3,04	1,73	1,75	0,34	0,02
1° grau 1	0,83	2,11	3,80	1,59	2,78	2,15	0,64	0,00
2° grau 1	0,00	1,77	1,22	4,49*	0,68	1,35	0,03	0,04
Tanase/Celulase2 2	2,28	0,56	1,31	0,64	0,77	0,35	2,83	0,00
1° grau 1	3,85	1,03	2,56	0,18	0,46	0,01	2,14	0,00
2° grau 1	0,71	0,10	0,06	1,09	1,07	0,70	3,51	0,00
Tanase/Celulase3 2	2,1	0,60	2,83	0,69	1,09	3,43*	1,45	1,18
1° grau 1	3,33	0,00	0,47	1,18	0,01	1,17	2,86	1,10
2° grau 1	0,86	1,21	5,19*	0,20	2,18	5,68*	0,04	1,25

ANEXO V

Tabela da análise de variância em função dos fluxos permeados do suco de caju nos processamentos do delineamento experimental.

ANOVA; Var.:FLUXO; R-sqr=,76703; Adj:,53406 (fluxo.sta)
2 3-level factors, 1 Blocks, 9 Runs; MS Residual=235,2244

DV: FLUXO	SS	df	MS	F	p
(1)CELULASE L+Q	2093,602	2	1046,801	4,450222	0,096141
(2)TANASE L+Q	1004,196	2	502,0978	2,134548	0,233994
Error	940,8978	4	235,2244		
Total SS	4038,696	8			

ANEXO.VI

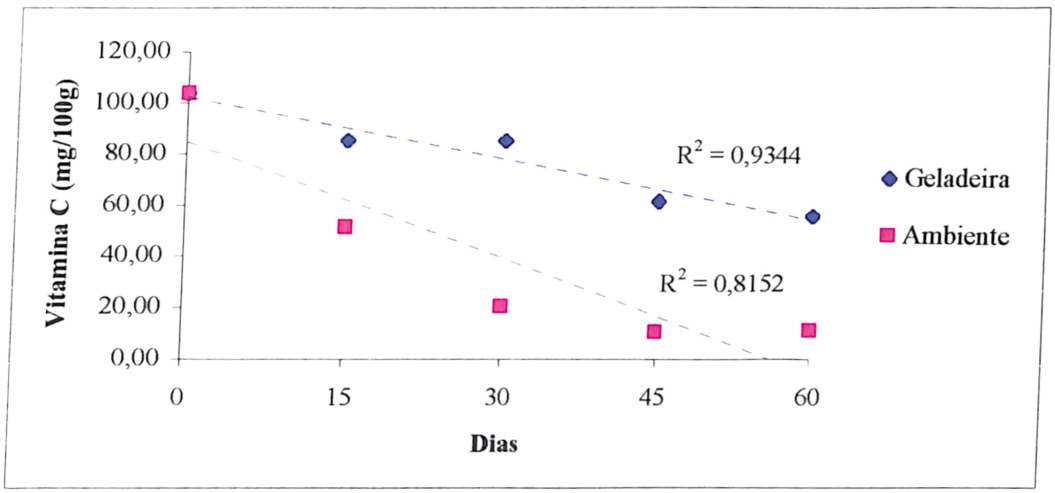


Figura 1 – Análise de regressão do teor de vitamina C no suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira.

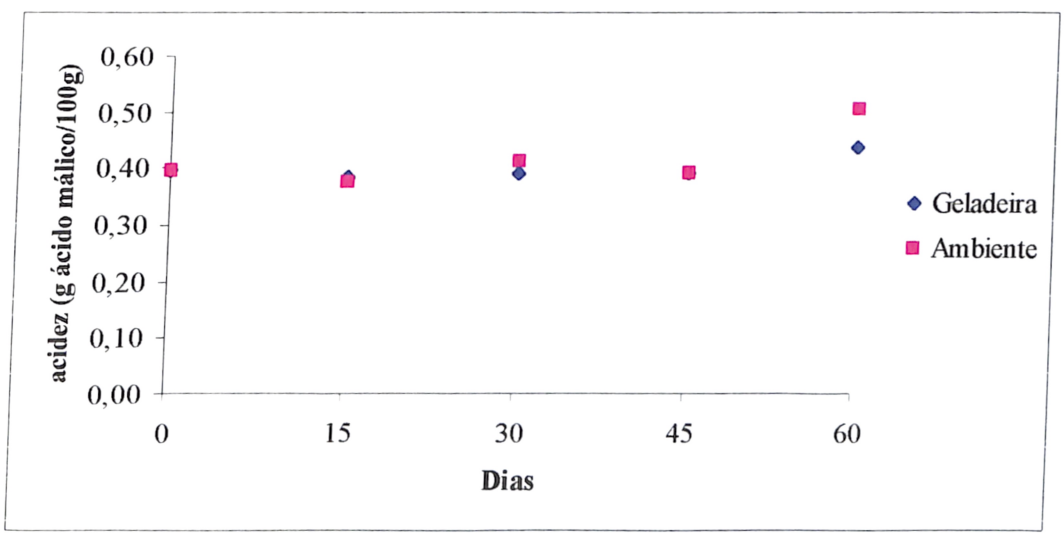


Figura 2 – Análise de regressão do teor de **acidez** no suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira.

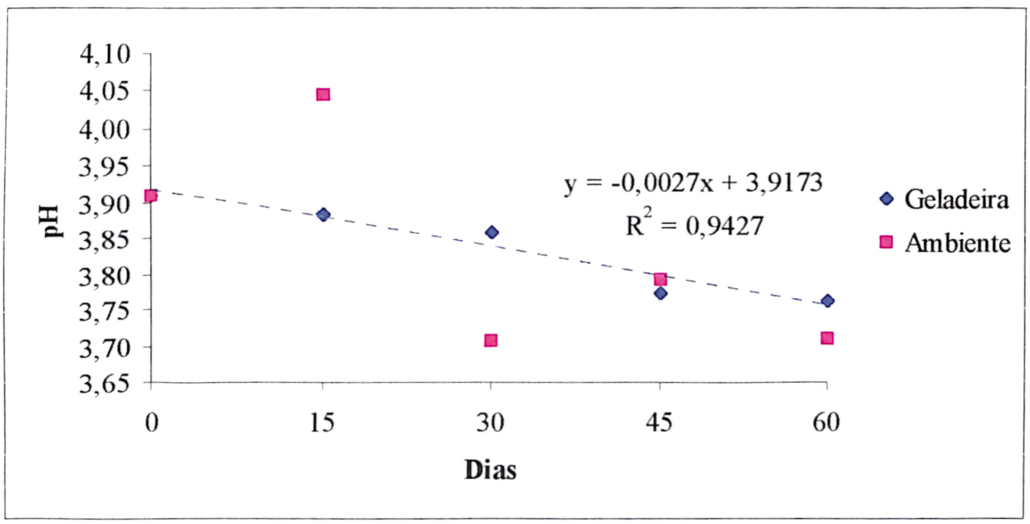


Figura 3 – Análise de regressão do **pH** do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira.

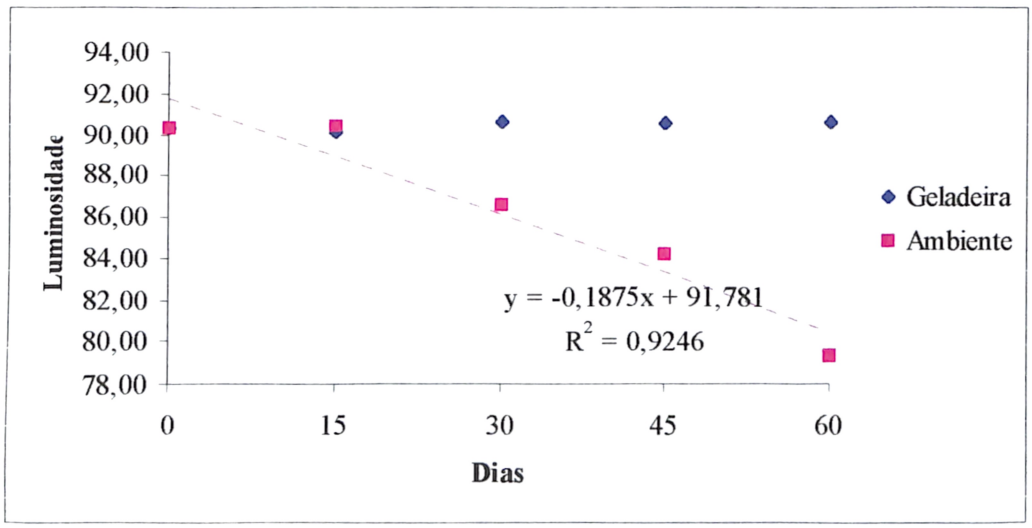


Figura 4 – Análise de regressão da **luminosidade** do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira.

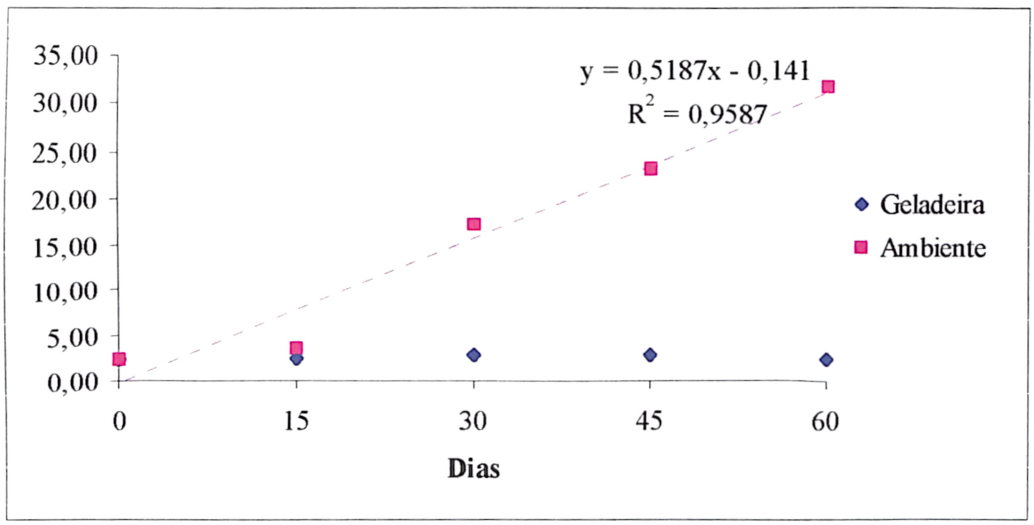


Figura 5 – Análise de regressão da variável de cor b_{HUNTER} do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira.

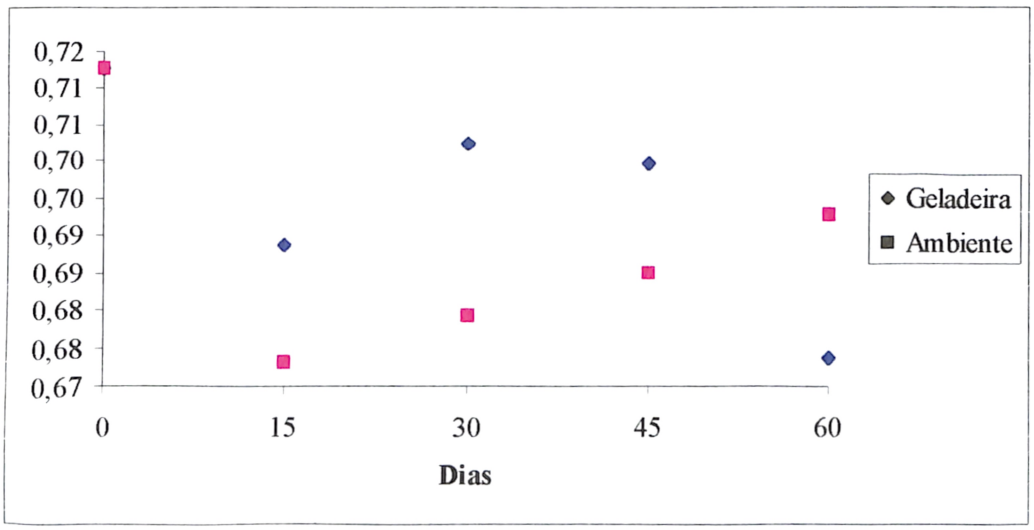


Figura 6 – Análise de regressão do teor de taninos totais do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira.

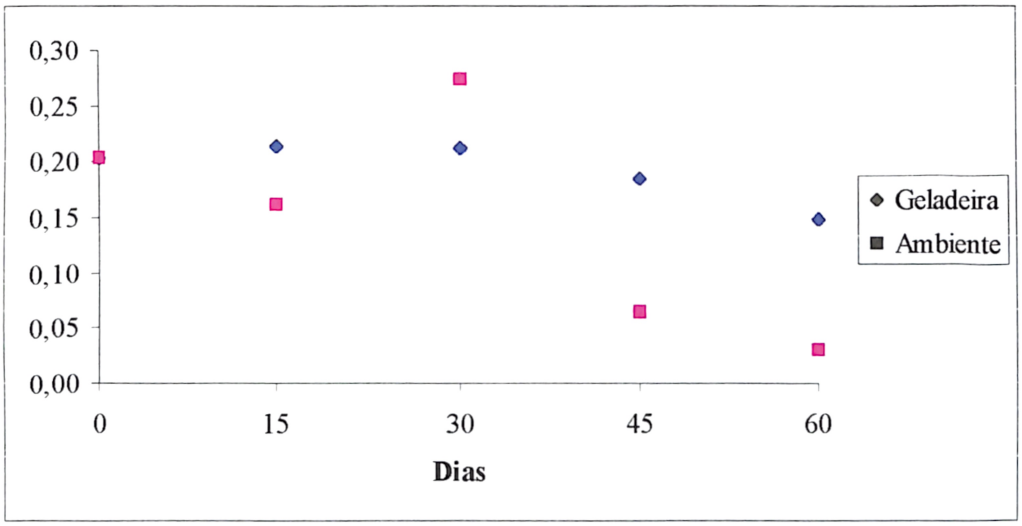
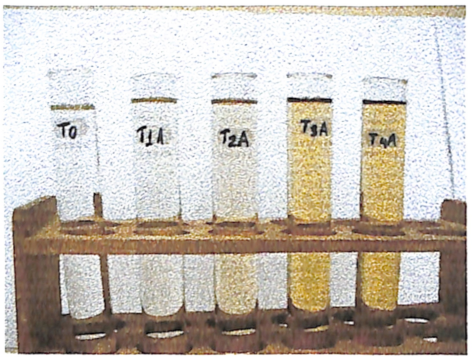
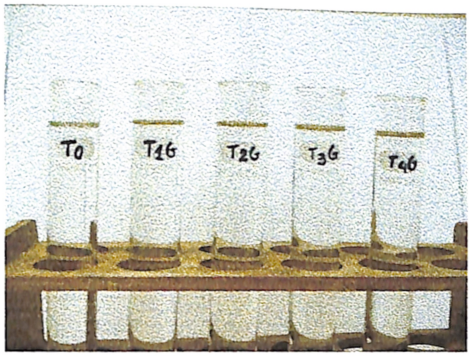


Figura 7 – Análise de regressão do teor de taninos condensados do suco de caju clarificado durante o período de vida de prateleira

ANEXO VII



(a)



(b)

Aspecto do suco clarificado de caju estocado durante o período de vida de prateleira à temperatura ambiente (a) e sob refrigeração (b)