

## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

### **Efeito do tratamento enzimático na extração dos compostos fenólicos presentes em maçã cultivada em sistema convencional e orgânico**

**Eduarda Francine Weschenfelder, Igor Tatto Pan, Luciani T. Piemolini-Barreto, Ivana Greice Sandri<sup>1</sup>**

Universidade de Caxias do Sul – Curso de Engenharia de Alimentos  
Caixa Postal 1352 – 95070-560 Caxias do Sul – RS - E-mail: [igsandri@ucs.br](mailto:igsandri@ucs.br)

#### **RESUMO**

*Neste trabalho foi avaliado o conteúdo de compostos fenólicos em maçãs produzidas nos sistemas de cultivo convencional e orgânico e, a influência do tratamento enzimático sobre a recuperação destes compostos. Para maceração e clarificação as frutas sofreram hidrólise enzimática com a preparação comercial Novozym<sup>®</sup>33095 (Novozymes América Latina LTD, Brasil), com concentração de 100 ppm e foram incubadas a 50 °C durante 60 minutos. Foi possível observar que as enzimas pectinolíticas empregadas nas etapas de maceração e clarificação, aumentaram em torno de 20%, os teores de compostos fenólicos. Observou-se também diferença significativa nos teores dos compostos fenólicos das frutas produzida em cultivo convencional e orgânico, com maiores valores nas frutas produzidas em cultivo orgânico.*

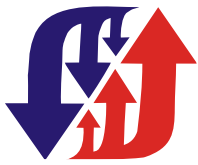
Palavras-chave: hidrólise enzimática, suco de maçã, cultivo orgânico, cultivo convencional

#### **INTRODUÇÃO**

A maçã está entre as frutas mais produzidas e consumidas em todo mundo. É uma parte importante da dieta humana e uma excelente fonte de nutrientes, devido a sua composição bioquímica (Maria John et al, 2014; Savikin et al, 2014). Estudos epidemiológicos mostraram uma correlação inversa entre o consumo de maçãs e/ou produtos semelhantes, e o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, disfunção do sistema respiratório, câncer de próstata, fígado e cólon (Tsao et al, 2003; Boyer, Liu, 2004; Delfino-Rius et al., 2015). Os polifenóis são os compostos responsáveis por estas propriedades preventivas e antioxidantes das maçãs (Hagena et al, 2007; Savikin et al, 2014).

No processamento do suco da maçã é realizada a etapa de tratamento enzimático, que envolve a adição de enzimas pectinolíticas, as quais hidrolisam as moléculas da pectina, para que estas possam ser removidas do produto. Esse processo é importante para a redução da viscosidade. As substâncias pécicas se não forem removidas podem obstruir filtros e formar uma névoa no produto final (Sandri, Piemolini-Barreto, Fontana, 2013). O tratamento enzimático também favorece a extração dos compostos bioativos, como por exemplos os compostos fenólicos presentes no fruto como observado por Sandri et al. (2014).

O estudo da extração destes compostos é importante para compreensão do seu uso (Savikin et al, 2014). A extração de substâncias bioativas a partir de material vegetal depende



## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

de muitos fatores, tais como solventes, o método de extração, tempo de extração, entre outros (Alberti et al, 2014; Vongsak et al., 2013). Este trabalho teve como objetivo avaliar a influenciada do tratamento enzimático sobre a extração dos compostos fenólicos presentes no suco de maçã cultivada em sistema convencional e orgânica.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Matéria-prima

As maçãs cultivadas em sistema orgânico e convencional, foram colhidas nas safras de 2014/2015, no município de Caxias do Sul, RS. As amostras foram armazenadas em câmara fria a  $-15^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises.

#### Processo de produção do suco de maçã

Para obter a polpa, amostras de cerca de 200 g de frutas selecionadas e limpas foram picadas manualmente, adicionadas em sacos de polietileno e, tratadas com a preparação enzimática comercial Novozym<sup>®</sup>33095 (Novozymes América Latina LTD, Brasil) com concentração de 100 ppm. Para cada ensaio, amostras controle (isentas de enzimas pectinolíticas) foram realizadas. Controle e tratamento foram incubadas num banho termostático (modelo B. Braun Biotech Certomat WR, Alemanha) a  $50^{\circ}\text{C}$  durante 60 minutos, posteriormente, obteve-se o suco por trituração da polpa, e o mesmo foi tratado novamente com a preparação enzimática comercial Novozym<sup>®</sup>33095 (Novozymes América Latina LTD, Brasil), nas mesmas condições acima descrita, para clarificação. Após o tratamento de clarificação, o material obtido foi filtrado sobre papel de filtro Whatman N<sup>o</sup>. 1 para se obter o suco.

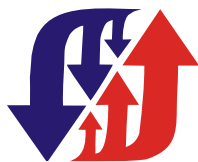
Para a extração dos compostos fenólicos adaptou-se a metodologia descrita por Ceymann et al. (2012). Pesou-se 2,5 g da fruta e/ou 2,5 mL do suco. Posteriormente, foram adicionados 50 mL de metanol com 1% de ácido fórmico. As amostras foram homogeneizadas em ultrassom por 5 min e filtradas.

Para a quantificação dos compostos fenólicos foi utilizado o reagente de Folin-Ciocalteu, onde a 0,5 mL da amostra, adicionou-se 2,5 mL de Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 7,5%. O tubo foi agitado em Vórtex e incubado por 5 min em Banho-Maria a  $50^{\circ}\text{C}$ . Após 15 min de repouso o complexo azul formado foi quantificado em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 760 nm (Roesler et al., 2007). A concentração de fenólicos foi estimada correlacionando-se a absorbância das amostras a uma curva padrão realizada a partir de 7 pontos com concentração de 1,56 a 75  $\mu\text{g/mL}$  de ácido gálico, onde o resultado é expresso em mg de equivalentes de ácido gálico/L de extrato ou de suco (mg EAG/L).

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando one-way (ANOVA), sendo essa uma análise de variância, utilizando teste de Tukey com probabilidade inferior a 5% ( $p < 0,05$ ).

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os teores de compostos fenólicos presentes em maçã cultivada em sistema orgânico e convencional são apresentados na Tabela 1.



## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

Tabela 1 – Variação dos polifenóis totais presentes nas maçãs cultivadas em sistema convencional e orgânica e nos sucos derivados, expressos em mg EAG/L.

Etapa do Processo	Com tratamento enzimático		Sem tratamento enzimático	
	Convencional	Orgânico	Convencional	Orgânico
Maçã <i>in natura</i>	24,685 ± 0,186 <sup>d</sup>	28,940 ± 1,076 <sup>c</sup>	24,685 ± 0,186 <sup>d</sup>	28,940 ± 1,245 <sup>c</sup>
Suco após a maceração	30,548 ± 1,502 <sup>b</sup>	34,835 ± 1,871 <sup>a</sup>	25,056 ± 1,230 <sup>d</sup>	29,108 ± 1,906 <sup>c</sup>
Suco após a clarificação	30,875 ± 1,502 <sup>b</sup>	34,982 ± 1,871 <sup>a</sup>	24,126 ± 1,502 <sup>d</sup>	28,386 ± 1,089 <sup>c</sup>

Os valores correspondem à média de triplicatas. Os tratamentos com a mesma letra não diferem estatisticamente em nível de 5% ( $p < 0,05$ ).

Quando se avalia o efeito do tratamento enzimático sobre os compostos fenólicos observa-se um aumento significativo nos teores destes compostos, independente do sistema de cultivo. Foi determinado um aumento de 20% nos teores de polifenóis totais nos sucos tratados enzimaticamente, quando comparado a condição controle. Resultados semelhantes também foram evidenciados por Zielinski et al. (2014), que constataram um aumento de até 67% no teor de polifenóis em maçãs de diferentes variedades trituradas, quando as enzimas foram empregadas.

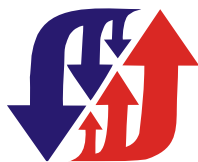
De acordo com os resultados é possível observar também que o conteúdo de compostos fenólicos determinado para o sistema orgânico foi maior quando comparado ao convencional, em torno de 13%. Este resultado já foi evidenciado por Brandt, Mølgaard (2001), Rembiakowska (2007) e Mikulic et al. (2010). Segundo Benbrook (2005), os alimentos orgânicos têm em média 30% mais compostos fenólicos, quando comparado aos cultivos convencionais. Kalinowska et al. (2014) e Wojdylo, Oszmianski, Bielicki (2010) relatam que este aumento está relacionado a não utilização de agrotóxicos e pesticidas, aumentando os mecanismos de defesa da planta.

### CONCLUSÕES

As enzimas pectinolíticas empregadas nas etapas de maceração e clarificação aumentam os teores de fenólicos no produto final de forma significativa. É possível observar também que o conteúdo de compostos fenólicos determinado para o sistema orgânico foi maior quando comparado ao convencional, principalmente quando tratado enzimaticamente.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberti A, Zielinski AAF, Zardo DM, Demiate IM, Nogueira A, Mafra LI. 2014. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. *Food Chem.* 149:151-158
- Benbrook CM, Elevating Antioxidant Levels in Food through Organic Farming and Food Processing. An Organic Center of Science Review. Organic Center for Education and Promotion (2005).
- Boyer J, Liu, RH. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrit J.* 3: 1–15.
- Brandt K, Mølgaard, JP (2001). Organic agriculture: Does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? *J Sci Food Agric.* 81: 924-931.
- Ceymann, M.; Arrigoni, E.; Schärer, H.; Nising, AB.; Hurrell, RF. (2012). Identification of apples rich in health-promoting flavan-3-ols and phenolic acids by measuring the polyphenol profile. *J. Food Comp. Anal.* 26: 128-135.



## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

- Delpino-Rius A, Eras J, Vilaró F, Cubero MÁ, Balcells M, Canela-Garayoa R. 2015. Characterisation of phenolic compounds in processed fibres from the juice industry. *Food Chem.* 172: 575-584.
- Hagena SF, Borge GI, Bengtsson GB, Bilger W, Berge A, Haffner K, Solhaug KA. 2007. Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh. cv. Aroma): effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biol. Technol.* 45: 1-10.
- Kalinowska M, Bielawska A, Lewandowska-Siwkiewicz H, Priebe W, Lewandowski W. 2014. Apples: content of phenolic compounds vs. Variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. *Plant Physiol Bioch.* 84: 169-188.
- Maria John KM, Enkhtaivan G, Kim JJ, Kim DH. 2014. Metabolic variation and antioxidant potential of *Malus prunifolia* (wild apple) compared with high flavon-3-ol containing fruits (apple, grapes) and beverage (black tea). *Food Chem.* 163: 46-50.
- Mikulic PM, Slatnar A, Stampar F, Veberic R. 2010. The influence of organic/integrated production on the content of phenolic compounds in apple leaves and fruits in four different varieties over a 2-year period. *J Sci Food Agric.* 90:2366-78.
- Rembiakowska E. (2007). Quality of plant products from organic agriculture. *J Sci Food Agric.* 87: 2757-2762.
- Roesler R, Malta LG, Carrasco LC, Holanda RB, Sousa CASI, Pastore GM. 2007. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 27:53-60.
- Sandri IG, Piemolini-Barreto LT, Fontana RC, da Silveira MM. 2014. Application of enzymatic preparations to produce araçá pulp and juice. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 34: 657-662.
- Sandri, IG, Piemolini-Barreto LT, Fontana RC. 2013. Enzymes in food processing. In P. S. Panesar & S. S. Marwaha (Eds.), *Biotechnology in agriculture and food processing: opportunities and challenges* (pp. 331-355). India: Taylor & Francis Group
- Savikin K, Živkovića J, Zdunić G, Gođevac D, Đorđević B, Dojčinović B, Đorđević N. 2014. Phenolic and mineral profiles of four Balkan indigenous apple cultivars monitored at two different maturity stages. *J. Food Comp. Anal.* 35:101-111.
- Tsao R, Yang R, Young JC, Zhu H. 2003. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *J. Agric. Food Chem.* 51: 6347-6353
- Vongsak B, Sithisarn P, Mangmool S, Thongpraditchote S, Wongkrajang Y, Gritsanapan W. 2013. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method, *Ind Crop Prod* 44: 566-571
- Wojdyło, A, Oszmianski, J, Bielicki, P. 2010. Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant activity of three varieties of apple from organic and conventional farming. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 55:173-177.
- Zielinski AAF, Alberti A, Braga CM, da Silva KM, Canteri MHG, Igarashi Mafra LI, Granato D, Nogueira A, Wosiacki G. 2014. Effect of mash maceration and ripening stage of apples on phenolic compounds and antioxidant power of cloudy juices: a study using chemometrics. *LWT - Food Sci Technol*, 57: 223-229.