



Aplicação de tanase obtida de *Aspergillus tamarii* URM 7115 e seu efeito em suco de caju integral

Miqueas Jamesse Gouveia^a, Marcelo Rodrigues Figueira de Mello^a, Tatiely Gomes Bernardes^a
 Tony Cley Campos Leite^a, Amanda Reges de Sena^{a*}

^a Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Brasil

* Autor correspondente (amandareges@barreiros.ifpe.edu.br)

INFO

Keywords

Anarcadium occidentale L.
antioxidant activity
TanninAcylHydrolase

ABSTRACT

Application of tannase obtained from Aspergillus tamarii URM 7115 and its effect on whole cashew juice. Tannin Acyl Hydrolase is an enzyme that catalyzes the hydrolysis of hydrolysable tannins and can be used in several industrial areas, such as food and pharmaceutical. The present work had as objective to produce tannase obtained from *Aspergillus tamarii* URM 7115 under submerged fermentation and to verify its effect on the integral cashew juice. The total tannins, total phenolics, antioxidant activity and some physical-chemical parameters (pH, °Brix, vitamin C and total acidity) were analyzed before and after application of the enzyme. The tests showed a reduction of at least 50% of the total tannin content, 47-54% increase in phenolics and an increase in total antioxidant activity of 20 to 23%. In addition, the samples of cashew juice before and after enzymatic application presented acceptable results for pH, °Brix, vitamin C and total acidity. The treatment with tannase in whole cashew juice, in addition to reducing astringency, other advantages were observed, such as increased antioxidant activity, less turbidity and maintenance of nutritional and physicochemical quality.

RESUMO

Tanino Acil Hidrolase é uma enzima que catalisa a hidrólise de taninos hidrolisáveis e pode ser utilizada em diversas áreas industriais, como alimentícia e farmacêutica. O presente trabalho teve como objetivo produzir tanase obtida de *Aspergillustamarii* URM 7115 sob fermentação submersa e verificar seu efeito no suco de caju integral. Foram analisados os teores de taninos totais, fenólicos totais, atividade antioxidante e alguns parâmetros físico-químicos (pH, °Brix, vitamina C e acidez total) antes e pós aplicação da enzima. Os ensaios demonstraram uma redução de no mínimo 50 % do teor total de taninos, aumento entre 47 a 54 % no teor de fenólicos totais além de ser verificado um aumento na atividade antioxidante total de 20 a 23 %. Ademais, as amostras do suco de caju integral antes e após aplicação enzimática apresentaram resultados aceitáveis para pH, Brix, vitamina C e acidez total. O tratamento com a tanase em suco de caju integral, além da redução da adstringência foi observada outras vantagens como aumento da atividade antioxidante, menor turvação e manutenção da qualidade nutricional e físico-química.

Palavras-chaves

Anarcadium occidentale L.
atividade antioxidante
Tanino acil hidrolase

Received 20October 2021; Received in revised from 30October2021; Accepted 17January2022



INTRODUÇÃO

Os taninos são compostos que fazem parte do sistema de defesa vegetal e classificados como polímeros fenólicos do metabolismo secundário dos vegetais, atuando como agentes antimicrobianos e fago-inibidores para herbívoros. A terminologia tanino é utilizada pelas literaturas botânicas devido à palavra “tenante” que está associada a sua aplicação no curtimento de couro (Haslam, 1988; Monteiro, 2005).

Tais substâncias estão presentes em muitos frutos e produtos de origem vegetal para o consumo humano, dando a estes produtos um sabor adstringente causado pela precipitação de proteínas salivares, sendo desta forma uma das características específicas dos taninos (Bruneton, 1991; Monteiro, 2005).

Estes compostos fenólicos são classificados em taninos complexos, condensados e hidrolisáveis (galotaninos e elagitaninos), sendo estes últimos facilmente hidrolisados em meios ácidos ou básicos, ou por ação enzimática (Khanbabae e Ree, 2001).

Tanino acil hidrolase (E.C. 3.1.1.20), conhecida como tanase, é uma enzima extracelular, induzível, produzida por micro-organismos, como bactérias, fungos filamentosos e leveduras, principalmente os fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* na presença de ácido tânico (Aguilar, 1999). Essa enzima hidrolisa os ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis (Banerjee et al., 2001). O ácido tânico é um típico tanino hidrolisável, também chamado de galotanino, que pode ser hidrolisado pela tanase em ácido gálico e glicose (Helbig et al., 2003). Essa enzima é amplamente utilizada na indústria de alimentos, sucos, cervejarias, farmacêutica e química. Ela é principalmente aplicada para produção de ácido gálico, chás instantâneos, na estabilização da cor do vinho, refrigerantes a base de café, processo de tratamento de couro, remoção de adstringência em bebidas (Lekha e Lonsane, 1997).

A aplicação da tanase em sucos proporciona a diminuição da concentração dos taninos presentes no meio, os quais são responsáveis pelo surgimento de turbidez, sabor amargo e adstringência, características estas muitas vezes indesejáveis. Além disso, a hidrólise destes compostos provoca alterações nutricionais e sensoriais desejáveis, uma vez que a liberação do grupo galoil tem um efeito retardante na oxidação do ácido ascórbico aumentando a sua ação antioxidante (Rout e Banerjee, 2006; Srivastava, 2009).

O efeito da aplicação de enzimas obtidas de micro-organismos em sucos e bebidas já vem sendo reportado por outros pesquisadores tais

como: Rout e Banerjee (2006), Srivastava e Kar (2010), Selwal et al. (2011) e Sharma et al. (2014) onde verificaram tanto a diminuição do teor de tanino quanto o aumento da concentração de ácido gálico.

O pseudofruto do cajueiro (*Anacardium occidentale*L.), conhecido como caju, é consumido não só pelas características organolépticas, mas também pela sua qualidade nutricional, que está associado ao alto teor de vitamina C. A polpa tem o seu mercado pequeno devido ao seu alto teor de taninos, que além da adstringência indesejável, causam instabilidade durante o armazenamento (Couri, 2002). Quando retirada as características indesejáveis do suco, o mesmo pode servir de matéria-prima para a elaboração de suco concentrado, refrigerantes, vinhos e outros produtos (Paula et al., 1995).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi aplicar tanase obtida de *Aspergillus tamarii* URM 7115, sob fermentação submersa, e verificar seu efeito no suco de caju integral.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Campus Barreiros. O fungo foi obtido da Coleção de Cultura Micoteca URM do Departamento de Micologia, do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco e no IFPE/Campus Barreiros foi preservado, a 4°C, em água destilada esterilizada em frascos de penicilina (Castellani, 1939). Durante o experimento foi realizado o repique do fungo semanalmente, em tubos de ensaios inclinados.

Produção de tanase

A produção enzimática ocorreu em frascos Erlenmeyers de 125 mL contendo 25 mL de meio de fermentação (0,3 % de nitrato de sódio (NaNO₃); 0,1 % de fosfato de potássio (K₂HPO₄); 0,05 % de sulfato de magnésio (MgSO₄); 0,05 % de cloreto de potássio (KCl); 0,0001 % de sulfato de ferro (FeSO₄); 1 % de ácido tânico, pH 5,0). Após a autoclavagem e arrefecimento do meio, o mesmo foi adicionado de ácido tânico (5 %, p/v) após passar em membranas de 0,45 µm. O meio foi então inoculado com suspensão de 1x10⁶ esporos/mL. A suspensão foi feita após remoção dos esporos com solução de Tween (0,3 %, p/v), previamente esterilizada, contendo NaCl (0,9 %, p/v). Os esporos foram contados em câmara de Neubauer. Após a inoculação os meios foram incubados a 26°C em Shaker a 67 h/100 rpm (Sena et al., 2017). Após fermentação, as soluções foram filtradas e centrifugadas a 10000 rpm por 15

minutos a 4°C e o sobrenadante, considerado extrato enzimático bruto, foi adicionado na relação de (1:1) a uma solução de gelatinas dissolvida a 2,5 % durante 30 minutos e depois centrifugado para remoção do ácido tânico residual. O sobrenadante foi congelado para posterior análise da atividade enzimática e aplicação. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Determinação da atividade enzimática

A atividade da tanase foi estimada pelo método de Sharma et al. (2000) modificado por Pinto, Couri e Gonçalves (2006), onde se utilizou rodanina etanólica e ácido tânico como substrato. O meio reacional consistiu em 250 µL do substrato, dissolvido em tampão citrato 0,05 M (pH 5), e 250 µL da amostra enzimática, ficando estes em contato por 5 minutos a 30 °C. A reação enzimática foi paralisada pela adição de 300 µL de rodanina etanólica 0,667% (p/v). Após 5 minutos a 30 °C, 200 µL de hidróxido de potássio 0,5 N foram adicionados, formando um cromógeno de coloração violeta. Ao passar 5 minutos, na temperatura supracitada, o volume obtido foi diluído adicionando 4 mL de água destilada em cada reação. Tubos designados de controles (extrato enzimático adicionado no final da reação) foram usados simultaneamente. Após 10 minutos a 30 °C procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 520 nm. A unidade de atividade tanásica (U/mL) foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1 µmol de ácido gálico por minuto nas condições de ensaio. Foi utilizado ácido gálico como padrão para a curva de calibração. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Preparo do suco de caju integral

Os frutos da pitomba foram obtidos no pomar da Instituição e encaminhados ao Laboratório de Frutas e Hortaliças do campus. Os mesmos foram selecionados e higienizados em água clorada a 50 ppm durante 30 minutos. Em seguida foi feito o enxágüe dos frutos, os mesmos foram despulpados em despulpadeira industrial e o suco obtido foi filtrado.

Biotransformação do suco de caju integral por tanase de *Aspergillus tamaris* URM 7115

Em frascos Erlenmeyers (125 mL) foram adicionados 30 mL do suco, aos quais foram acrescidos de 6 % (v/v) de extrato enzimático. Como controle foi utilizado o suco sem adição da enzima. Em seguida, os frascos foram mantidos em agitador rotativo a 150 rpm com temperatura ajustada para 30 °C, durante 4 horas. Os ensaios foram realizados em triplicata. Após aplicação, a

enzima foi desnaturada a 70 °C durante 10 min (Rout e Banerjee, 2006).

Análises físico-químicas do suco de caju integral antes e após aplicação enzimática

- pH

O pH do suco obtido foi determinado após filtração e aferição direta em pHmetro antecipadamente calibrado (Ial, 2008).

- Sólido solúveis em °Brix, a 20°C

Os sólidos solúveis foram determinados por refratômetro digital gotejando duas gotas da amostra na superfície do aparelho previamente calibrado (Ial, 2008).

- Acidez titulável por potenciometria

Foram pesados 10 g do suco de caju integral, filtrado e homogeneizado em béquer de 300 mL, posteriormente este foi diluído em 100 mL de água destilada e agitados. Logo após foi introduzido o eletrodo na solução e em seguida a mesma foi titulada com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até o pH permanecer entre 8,2 e 8,4 (Ial, 2008). O potenciômetro foi calibrado antes das análises com soluções tampão de pH 7 e 4.

- Vitamina C

Para determinar o teor de vitamina C transferiu-se a amostra (10 g) para um Erlenmeyer de 300 mL com auxílio de 50 mL de água. Após homogeneização da solução foram adicionados 10 mL de solução de ácido sulfúrico 20 % (v/v). A amostra foi homogeneizada e logo após foram adicionados 1 mL da solução de iodato de potássio (0,02 M) e 1 mL da solução de amido 1 %. Em seguida foi realizada a titulação com solução de iodato de potássio até atingir coloração azul (Ial, 2008). Todas as análises foram executadas em triplicata.

Determinação do teor de taninos totais do suco de caju integral antes e após aplicação enzimática

A estimativa do teor de taninos totais foi feita pelo método de precipitação proteica (Haggerman e Butler, 1978) utilizando o ácido tânico como padrão. Um mL do suco foi posto em contato com 3 mL de solução de Albumina de Soro Bovino (1 mg/mL) e mantida durante 15 minutos a temperatura ambiente. Os tubos foram centrifugados a 5500 rpm por 15 minutos, o sobrenadante descartado e o precipitado dissolvido em 3 mL da solução de dodecil sulfato de sódio (1 %, p/v) contendo trietanolamina (5 %, v/v). Um mL de solução de FeCl₃ (0,01 M) foi adicionado e mantido durante 15 minutos à temperatura

ambiente para a estabilização da cor. Após este período procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 510 nm contra um branco. Os resultados foram representados em porcentagem de redução de taninos. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Determinação de fenólicos totais do suco de caju integral antes e após aplicação enzimática

Para determinar o teor de compostos fenólicos totais foram pipetados, em tubos de ensaio, 50 µL da amostra e 125 µL do reagente Folin Ciocalteu, diluído na proporção de 1:10. Os tubos foram agitados e mantidos em repouso por 3 minutos. Após o período de tempo, foi adicionado 1 mL de carbonato de sódio (7,5 %, m/v) e 1,35 mL de água destilada. Os tubos foram mantidos por 2 horas ao abrigo da luz. Após o período de reação, o espectrofotômetro foi zerado com o controle (branco) e em seguida realizadas as leituras a 765 nm (Singleton et al., 1999). Os valores obtidos foram comparados com a curva padrão de ácido gálico (5 a 100 mg/100 g). O conteúdo total de fenólicos foi expresso em mg equivalente de ácido gálico por 100 g de suco.

Determinação da atividade antioxidante do suco de caju integral antes e após aplicação enzimática

Para análise de atividade antioxidante foram pipetados, para tubos de ensaios, 100 µL da amostra e 3,9 mL de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a 60 µM (diluídos em metanol). Os tubos foram agitados e mantidos por 20 minutos ao abrigo da luz (Brand-Williams et al., 1995). Um controle negativo foi utilizado, trocando-se a amostra por metanol. Controles positivos foram analisados, trocando-se a amostra por ácido gálico. Decorrido o tempo foram medidas as absorbâncias das amostras a 517 nm. A capacidade de sequestro de radical DPPH foi calculada de acordo com a equação: $[(A_0 - A_1)/A_0] * 100$

Onde A_0 foi a absorbância do controle negativo e A_1 a absorbância na presença do composto (amostra e controle positivo).

Análises estatísticas

Após obtenção dos resultados, realizou-se a comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade por meio do programa Sistema de Análise de Variância (SISVAR) (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade enzimática

Após a fermentação do *Aspergillus tamaritii* URM 7115 verificou-se que a atividade enzimática média da tanase nas condições destes ensaios foi de $34,23 \pm 0,17$ U/mL.

Em outro trabalho com produção de tanase, Nascimento et al. (2014) realizaram estudos para seleção de 14 amostras de *Aspergillus* sp isoladas do solo da Caatinga de Pernambuco, para produção de tanase em meios contendo resíduos agroindustriais oriundos da indústria de sucos e bebidas (cascas de café, tangerina e uva). As fermentações submersas ocorreram a 30 °C, 150 rpm, 120 horas. Os resultados obtidos para a atividade enzimática foi de 4,0 U/mL. Em outra pesquisa desenvolvida por Costa et al. (2012) a produção de tanase por *Aspergillus tamaritii* foi estudada em culturas submersas. O fungo produziu tanase após dois dias de crescimento em meio mineral contendo ácido tânico e ácido gálico a 2 % como fonte de carbono, o melhor resultado foi 20,4 U/mL. Sharma et al. (2015) tiveram como objetivo produzir tanase de *Aspergillus* sp isolados de solos de diferentes localidades. Após fermentação submersa com substrato rico em tanino, acrescido de 1 % de ácido tânico, os autores obtiveram uma atividade enzimática de 20 U/mL. Tendo como base os trabalhos supracitados verifica-se que a atividade enzimática da tanase obtida neste trabalho foi superior, isso pode estar relacionado tanto com as condições da fermentação quanto a quantidade de indutor (ácido tânico) utilizado na fermentação.

A enzima obtida foi utilizada na biotransformação do suco de caju integral.

Aplicação enzimática no suco de caju integral e análises físico-químicas

A enzima obtida foi adicionada ao suco de caju integral e em seguida foram analisados o teor de taninos totais, fenólicos totais, atividade antioxidante e alguns parâmetros físico-químicos (pH, Brix, vitamina C e acidez total). A avaliação físico-química se faz necessária uma vez que a biotransformação não pode influenciar a perda de qualidade no que diz respeito aos padrões mínimos preestabelecidos para o Padrão de Identidade e Qualidade de um produto específico, neste caso o suco de caju integral. Os resultados dos parâmetros físico-químicos estão distribuídos na Tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos do suco de caju integral antes e após aplicação enzimática

Determinações físico-químicas	Suco integral antes da aplicação	Suco integral após aplicação enzimática	Legislação (BRASIL, 2018)	
			Mínimo	Máximo
pH	3,46 a	3,45 a	3,80	-
Sólidos solúveis totais (°Brix) a 20 °C	10,23 ± 0,32 a	10,10 ± 0,17 a	10	-
Vitamina C (mg/100 g)	109,80 ± 0,34 a	103,42 ± 0,55 a	80	-
Acidez total expressa em ácido cítrico (g/100 g)	0,74 ± 0,017 a	0,72 ± 0,005 a	0,18	-

Médias seguidas por letras distintas na horizontal diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados foram comparados com os valores exigidos em legislação (Brasil, 2018). Como pode ser verificado todos os parâmetros avaliados para o suco antes e após aplicação foram estatisticamente iguais. Em relação ao pH as amostras do suco de caju integral antes (3,46) e após aplicação enzimática (3,45) apresentaram resultados aceitáveis. Considerando que é permitido até 20 % de variação, as amostras encontram-se dentro do padrão. O suco tratado enzimaticamente apresentou um valor de 10,10 °Brix, encontrando-se dentro das especificações pré-estabelecidas em legislação vigente. A concentração de vitamina C no suco sem (109,80 g/100g) e com tratamento enzimático (103,42 g/100 g) foram estatisticamente iguais entre si e encontram-se em conformidade com a quantidade exigida na legislação. Segundo Sharma et al. (2017), o ácido ascórbico oxida durante incubação e a oxidação será proporcional à temperatura de incubação. Em relação à acidez total, em ácido cítrico, verificou-se que o suco sem tratamento enzimático apresentou conteúdo de 0,72 g/100g e o suco com tratamento enzimático um valor de 0,74 g/100g.

A partir dos resultados pode ser evidenciado que a aplicação da tanase no suco de caju integral não afetou significativamente os parâmetros

avaliados no que diz respeito aos padrões de identidade e qualidade do produto.

Abdullah et al. (2020) avaliaram a eficiência da aplicação de tanase, produzida por *Aspergillus ficuum*, na degradação de taninos presentes em suco de caju. Após a aplicação da enzima os autores verificaram que o valor de pH manteve-se inalterado. No entanto, o conteúdo em vitamina C teve uma diminuição. Trabalho desenvolvido por Monteiro et al. (2021) após avaliar a biotransformação do suco de pitanga integral verificaram que o suco tratado com tanase não teve seus parâmetros físico-químicos alterados quando comparado com a legislação vigente.

Redução de taninos totais

Existem várias aplicações para a tanase e entre elas, a sua utilização na diminuição da adstringência de sucos de frutas devido ao conteúdo de taninos presentes nos mesmos. A tanase extraída de *Aspergillus tamarii* URM 7115 hidrolisou os taninos presentes no suco de caju. A Tabela 2 indica seu efeito após aplicação. A partir de três repetições das condições de aplicação (6% de extrato enzimático, 30 °C, 150 rpm por 4 h) foi verificada uma redução média de 50 % no teor total.

Tabela 2 - Aplicação de extrato enzimático, contendo tanase de *Aspergillus tamarii* URM 7115, para a redução de taninos em suco de caju integral

Ensaio	Redução de taninos experimental (%)
1	50,83 ± 0,15 a
2	51,26 ± 0,29 a
3	50,35 ± 1,31 a

Letras diferentes na vertical representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre si.

A utilização de tanase na detanificação de sucos vem sendo explorada e pode minimizar custos de produção pela indústria. Couri et al. (2002) comparou o tratamento da polpa do caju após aplicar tanase e utilizar gelatina, separadamente, visando à redução no teor de taninos totais. Os autores verificaram uma redução de 46 % no teor de taninos totais após utilizar tanase e 39 % após uso da gelatina. Lima et al. (2014) produziram e aplicaram tanase, extraída de *Penicillium montanense* URM 6486, em suco de uva. Após aplicação os autores obtiveram uma redução de 46 % de taninos após 2 horas de aplicação. Sharma et al. (2014) aplicaram tanase de *Aspergillus niger*, parcialmente purificada, em suco de goiaba sendo observado decréscimo no conteúdo de ácido tânico em 17,60, 29,04 e 44,38 % após 30 minutos de tratamento utilizando 0,5, 1,0 e 2,0 % de extrato enzimático, respectivamente.

Com base nos resultados dos pesquisadores supracitados pode-se observar que tanto as condições de aplicação, o tipo de micro-organismos e o meio em que foi aplicado, vão ter influência na diminuição do teor de taninos. A

presença de alto teor de tanino nos frutos é responsável pela turvação e formação de sedimento, cor, amargor e adstringência do suco durante o armazenamento, neste sentido é desejável a aplicação de tanase para remoção dos mesmos.

Fenólicos totais e Atividade antioxidante

Os resultados do teor de fenólicos totais e atividade antioxidante encontram-se na Tabela 3. Como pode ser observado houve diferença significativa entre os ensaios testes (estatisticamente superiores) e o controle, demonstrando a biotransformação do suco de caju. Após o tratamento enzimático houve aumento médio de 51 % no teor de fenólicos no suco de caju integral, além de ser verificado um aumento médio de 22,32 % na atividade antioxidante total. Os dados apresentados mostraram uma correlação positiva entre as análises realizadas. Isto quer dizer que, ao aumentar o conteúdo em compostos fenólicos houve um aumento na atividade antioxidante.

Tabela 3 -Resultados obtidos após a aplicação de extrato enzimático, contendo tanase de *Aspergillus tamarii* URM 7115, no teor de fenólicos totais e atividade antioxidante no suco de caju integral

Ensaio	Fenólicos totais experimentais (mg EAG/100 g)/Aumento de fenólicos (%)	Atividade antioxidante experimental – DPPH (%)/ aumento da atividade antioxidante (%)
1	250,60 ± 4,21/51,48 a	46,76 ± 0,20/22,92 a
2	255,47 ± 7,29/54,40 a	46,82 ± 0,17/23,08 a
3	243,30 ± 8,42/47,07 a	46,01 ± 0,79/20,95 a
C	165,45 ± 42,07 b	38,04 ± 1,20 b

C: Controle. Letras diferentes na vertical representam diferenças significativas (p<0,05) entre médias.

Estudos tem demonstrado que o consumo de frutas e vegetais reduzem o risco de doenças crônicas como o câncer, doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral (Yeum et al., 2003). Isso pode ser devido à presença de diversos compostos fitoquímicos.

Os sucos de frutas (romã, amora, framboesa, etc.) foram recentemente aclamados por seus benefícios para a saúde, em particular, pelo seu potencial antioxidante de combate a doenças (Beniwal, 2013). Em relação ao caju, pesquisadores avaliaram o teor em fenólicos e atividade antioxidante, recomendando o consumo do pseudofruto para prevenção de doenças crônicas. Entretanto, até o momento não foi reportado por outros pesquisadores o efeito de tanase, após aplicação, na atividade antioxidante e no teor de fenólicos em suco de caju integral.

Alves et al. (2013) avaliaram o teor de fenólicos

no pseudofruto do caju e encontraram um valor médio de 279,3 ± 50,4 mg EAG/100 g no conteúdo de fenólicos totais e 22,7 ± 11,2 % de atividade antioxidante. Vieira et al. (2011) determinaram o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante em polpa de frutos tropicais e encontraram na polpa de caju o valor médio de 201,61 ± 19,15 mg EAG/100 g em fenólicos totais e uma atividade antioxidante maior do que as polpas de goiaba, cajá e tamarindo. Silva Neto et al. (2021) após avaliar a biotransformação de suco de pitomba integral utilizando tanase de *S. cerevisiae* CCMB 520 verificaram uma redução de 19,20 % no teor de taninos, um aumento nos compostos fenólicos (10,54 para 13,059 mg EQ AG/100 g) e um aumento no poder antioxidante (78,52 para 97,78 %).

Vale ressaltar que os radicais livres podem estimular processos oxidativos e a atividade

antioxidante dos compostos fenólicos reduz o risco dessas doenças (Vetran, 2013). Neste sentido, os resultados deste estudo demonstram a importância da aplicação de tanase no suco de caju visando aumentar a ingestão de substâncias antioxidantes potencialmente protetoras contra diversas doenças crônicas, tais como obesidade, diabetes e cânceres.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados verificou-se a importância do uso de tanase na biotransformação de compostos para melhorar a sua atividade funcional e potencial nutracêutico. Os antioxidantes naturais presentes na dieta aumentam a resistência aos danos provocados pela oxidação, apresentando assim um impacto significativo para a saúde humana. Neste sentido, os resultados sugerem que a tanase obtida de *Aspergillus tamarii* URM 7115 pode ser utilizada potencialmente para aplicação biotecnológica industrial, como produção de sucos, visando à diminuição do teor de taninos, aumento de compostos fenólicos e atividade antioxidante total. Vale destacar que após a biotransformação do suco de caju integral não houve perda na qualidade nutricional e alterações nas características físico-químicas.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (IFPE), Campus Barreiros, pela bolsa concedida e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro (469406/2014-3).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah S, Pradhan RC, Aflah M, Mishra S. Efficiency of tannase enzyme for degradation of tannin from cashew apple juice: Modeling and optimization of process using artificial neural network and response surface methodology. *Journal of Food Process Engineering*, v. 43, n.10, p.1-10, 2020. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13499>
- Aguilar C, Augur C, Viniegra-González G, Favela E. A comparison of methods to determine Tannin Acyl Hydro-lase Activity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.42, n.3, p.355-361, 1999.
- Alves MSO, Alves AM, Naves MMV. Compostos bioativos e atividade antioxidante de pseudofrutos de caju arbóreo do Cerrado. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v.72, n.4, p.327-331, 2013.
- Banerjee D, Mondal KC, Pati BR. Production and characterization of extracellular and intracellular tannase from newly isolated *Aspergillus aculeatus* DBF 9. *Journal of Basic Microbiology*, v.41, n.6, p.313-318, 2001.
- Beniwal V, Kumar A, Sharma J, Chhokar V. Recent advances in industrial application of tannases: areview. *Recent Patents on Biotechnology*, v.7, n.3, p.228-233, 2013.
- Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft/Technologie – Food Science and Technology*, v.28, n.1, p.25-30, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brasil. Instrução Normativa nº 37, de 1 outubro de 2018. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Poder executivo, Brasília, DF, 8 out. 2018. Seção 1.
- Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. AS/Espanha: Ed. Acribia, 1991. 594p.
- Castellani A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, v.24, p.270-276, 1939.
- Couri S, Menezes LF, Pinto GAS, Souza MLM, Freitas SP. Comparação entre os tratamentos com tanase e com gelatina para clarificação do suco de caju (*anacardium occidentale* L.). B.CEPPA, Curitiba, v.20, n.1, p.41-54. 2002.
- Costa AM, Kadowaki MK, Minozzo MC, Souza CGM, Boer CG, Bracht A, Peralta RM. Production, purification and characterization of tannase from *Aspergillus tamarii*. *African Journal of Biotechnology*, v.11, n.2, p.391-398, 2012.
- Ferreira, DF. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFPA)*, v.35, p.1039-1042, 2011.
- Haslam E. Plant polyphenols (syn. vegetable tannins) and chemical defense-A reappraisal. *Journal of Chemical Ecology*, v.14, n.10, p.1789-1805, 1988. <https://doi.org/10.1007/BF01013477>
- Helbig E, Oliveira AC, Queiroz KS, Reis SM. Effect of soaking prior to cooking on the levels of phytate and tannin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the protein value. *Journal of Nutritional Science and Vitaminiology*, v.49, n.2, p.81-86, 2003. <https://doi.org/10.3177/jnsv.49.81>
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos. São Paulo: 4ª edição, 2008. 1020p.
- Khanbabaee K, Ree TV. Tannins: Classification and definition. *Natural Product Reports*, v.18, n.6, p.641-649, 2001. <https://doi.org/10.1039/b101061j>
- Lekha PK, Lonsane BK. Production and application of tannin acyl hidrolase: state of the art. *Advances in Applied Biochemistry and Microbiology*. *Advances Applied Microbiology*, v.44, p.215-260, 1997. [https://doi.org/10.1016/s0065-2164\(08\)70463-5](https://doi.org/10.1016/s0065-2164(08)70463-5)
- Lima JS, Cruz R, Fonseca JC, Medeiros EV, Maciel MHC, Moreira KA, Motta CMS. Production, Characterization of tannase from *Penicillium montanense* URM 6286 under SSF using agroindustrial wastes, and application in the clarification of grape juice (*Vitis vinifera* L.). *Scientific World Journal*, v.2014, p. 1-9, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/182025>

- Monteiro JM, Albuquerque UP, Araújo EL. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Química Nova*, v.28, n.5, p.892-896, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029>
- Monteiro GCD, Araujo MIF, Barbosa PPS, Mello MRF, Leite TCC, Assis AS, Sena AR. Biotransformation of Pitanga Juice by Tannase from *Saccharomyces cerevisiae* CCMB 520. In: *Saccharomyces*. 1ed. 1-20 p. 2021.
- Nascimento KBM, Martins AGR, Takaki GMC, Silva CAA, Okada K. Utilização de resíduos agroindustriais para produção de tanase por *Aspergillus* isolado do solo da caatinga de Pernambuco, Brasil. *E-xacta*, Belo Horizonte, v.7 n.1, p. 95-103, 2014. <https://doi.org/10.18674/exacta.v7i1.1146>
- Paula PFA, Souza L, Pimentel CRM. Situação atual e perspectiva da agroindústria do caju. In: Araújo JPP, Silva VV. *Cajucultura: modernas técnicas de produção*. Fortaleza: EMBRAPA- CNPAT, p.23-42, 1995.
- Pinto GAS, Couri S, Gonçalves EB. Replacement of methanol by ethanol on gallic acid determination by rhodanine and its impacts on the tannase assay. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, v.5, n.5, p.1560-1568, 2006.
- Rout S, Banerjee R. Production of tannase under mSSF and its application in fruit juice debittering. *Indian Journal of Biotechnology*, v.5 p.346-350, 2006.
- Selwal MK, Yadav A, Selwal KK, Aggarwal NK, Gupta R, Gautam SK. Tannase production by *Penicillium atramentosum* KM under SSF and its applications in wine clarification and tea cream solubilization. *Brazilian Journal Microbiology*, v.42, n.1, p.374-387, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000100047>
- Sena AR, Oliveira BFM, Campos TCL, Nascimento TCES, Moreira KA, Assis SA. Application of aqueous biphasic systems as strategy to purify tannase from *Aspergillus tamarii* URM 7115. *Preparative Biochemistry Biotechnology*, v.47, n.9, p.945-951, 2017. <https://doi.org/10.1080/10826068.2017.1365249>
- Silva Neto GJ, Barbosa JAP, Assis AS, Leite TCC, Sena AR. Biotransformação do suco de pitomba integral por tanase de *Saccharomyces cerevisiae* CCMB 520. In: One GMC, Rocha BL (Org.). *NUTRIÇÃO: Os desafios da pesquisa na atualidade*. 1ed. João Pessoa: Instituto Medeiros de Educação Avançada, v.2, p.143-165, 2021.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, v.299, p.152-178, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sharma HP, Patel H, Sugandha. Enzymatic added extraction and clarification of fruit juices-A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.57, n.6, p.1215-1227, 2017. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.977434>
- Sharma NK, Beniwal V, Kumar N, Kumar S, Pathera AK, Ray A. Production of tannase under solid-state fermentation and its application in detannification of guava juice. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, v.44, n.3, p.281-290, 2014. <https://doi.org/10.1080/10826068.2013.812566>
- Sharma S, Bhat TK, Dawra RK. A spectrophotometric method for assay of tannase using rhodanine. *Analytical Biochemistry*, v.279, n.1, p.85-89, 2000. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4405>
- Sharma P, Chaturvedi A, Sharma L. Parametric Optimization for Extracellular Tannase Production in Submerged Fermentation by Isolated *Aspergillus* Species. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, v.4, n.4, p. 232-239, 2015.
- Srivastava A, Kar R. Characterization and application of tannase produced by *Aspergillus niger* ITCC 6514.07 on pomegranate rind. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.40, n.4, p.782-789. 2009. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000400008>
- Srivastava A, Kar R. Application of immobilized tannase from *Aspergillus niger* for the removal of tannin from myrobalan juice. *Indian Journal of Microbiology*, v.50, n.1, p. 46-51, 2010. <https://doi.org/10.1007/s12088-010-0029-6>
- Vetran IC, Costabile G, Di Marino L, Rivelles AA. Nutrition and oxidative stress: a systematic review of human studies. *International Journal Food Science and Nutrition*, v.64, n.3, p.312-326, 2013. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.738651>
- Vieira LM, Sousa MSB, Mancini-Filho J, Lima A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.33, n.3, p.888-897, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011005000099>
- Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v.430, n.1, p.97-103, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2004.03.006>