

## CARACTERIZAÇÃO DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE EM CAFÉS NATURAIS, PRODUZIDOS EM DIFERENTES ALTITUDES<sup>1</sup>

Murilo Ferraz Tosta<sup>2</sup>; Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa<sup>3</sup>; Diego Domingues Macedo<sup>4</sup>; Diego Egídio Ribeiro<sup>5</sup>; Guilherme Euripedes Alves<sup>6</sup>; Marcos Paulo Santos Luz<sup>7</sup>; Carlos Henrique Cardeal Guiraldeli<sup>8</sup>; Ana Claudia Almeida da Silva<sup>9</sup>; Flávio Meira Borém<sup>10</sup>;

<sup>1</sup> Trabalho financiado pelo MAPA/CNPq, com apoio da UFLA, Embrapa Café, INCT-Café e FAPEMIG

<sup>2</sup> Estudante de Doutorado em Engenharia Agrícola/UFLA, mutosta@hotmail.com

<sup>3</sup> Pesquisadora Embrapa Café, Setor Sementes, DAG/UFLA, sttela.rosa@embrapa.br

<sup>4</sup> Estudante de Agronomia /UFLA, diego.domingues@hotmail.com

<sup>5</sup> Estudante de Doutorado em Engenharia Agrícola/UFLA, diegoagro10@hotmail.com

<sup>6</sup> Estudante de Doutorado em Engenharia Agrícola/UFLA, guialves@gmail.com

<sup>7</sup> Pesquisador, MS, UFLA, Lavras-MG marcospauloluz@gmail.com

<sup>8</sup> Estudante de Agronomia/UFLA;ch\_cardeal@hotmail.com

<sup>9</sup> Estudante de Engenharia Agrícola /UFLA; anaclaudia.alsi@gmail.com

<sup>10</sup> Professor do Departamento de Engenharia/UFLA, flavioborem@deg.ufla.br

**RESUMO:** O cenário da cafeicultura brasileira está em constante diferenciação, a qual indica que a comercialização do café busca o segmento dos cafés especiais. O crescimento desse setor deve-se à busca do consumidor por produtos de melhor qualidade. Para isso, é importante o conhecimento dos fatores determinantes da qualidade, que são os genéticos, os ambientais e os tecnológicos envolvidos nos processos de produção. Diante disso, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos do genótipo e da altitude, na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD). Foram coletadas amostras de café (*Coffea arabica* L.), ao longo de três safras agrícolas (2009/10, 2010/11 e 2011/12), em lavouras comerciais localizadas no município de Carmo de Minas - MG, Brasil. O delineamento experimental foi baseado no estudo da interação entre variáveis ambientais e genéticas. O ambiente foi estratificado em três classes de altitude (< 1.000 m, entre 1.000 a 1.200 m e >1.200 m). Foram coletados frutos de dois genótipos, Bourbon Amarelo (frutos amarelos) e Acaiá (frutos vermelhos). Os cafés foram colhidos, processados, secos, armazenados e feitos às análises bioquímicas. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com técnicas específicas estabelecidas. Conclui-se que a enzima SOD é um marcador pouco preciso da qualidade do café natural. Por meio das imagens, observa-se que de maneira geral, a atividade da enzima SOD foi maior no genótipo Acaiá, para as três faixas de altitudes.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Coffea arabica*, qualidade de bebida, análise sensorial.

## CHARACTERIZATION OF SUPEROXIDE DISMUTASE, IN NATURAL COFFEE, AND THE INTERACTION BETWEEN GENOTYPE AND ALTITUDE

**ABSTRACT:** The Brazilian coffee is constantly differentiation, which indicates that the marketing of coffee search the segment of specialty coffees. The growth of this sector is due to the consumer's search for better quality products. Therefore, it is important to know the determinants of quality, which are genetic, environmental and technological involved in production processes. Thus, this study was to evaluate the effects of genotype and altitude, in the assessment of superoxide dismutase (SOD). Specifically, we sought to relate the enzyme images with the quality of coffee beans. Coffee samples were collected (*Coffea arabica* L.), over three growing seasons (2009/10, 2010/11 and 2011/12), in commercial fields located in the municipality of Carmo de Minas - MG, Brazil. The experimental design was based on the study of the interaction between environmental and genetic variables. The room was divided into three classes altitude (<1,000 m, between 1000-1200 and > 1,200 m). Fruits were collected from two genotypes, Bourbon Yellow (yellow fruit) and Acaiá (red fruits). The coffees were collected, processed, dried, stored and made to biochemical analyzes. All procedures were performed in accordance with established techniques specific. It was concluded that the enzyme activity are imprecise markers of quality of coffee beans. By means of the images, it was observed that in general, the activity of SOD was higher in Acaiá genotype for the three altitudes of tracks.

**KEYWORDS:** *Coffea arabica*, beverage quality, sensory analysis.

## INTRODUÇÃO

O conceito de café especial está intimamente ligado ao prazer que a bebida pode proporcionar, por meio de algum atributo específico ou processo de produção. Cafés especiais se diferenciam dos cafés comuns por características que incluem atributos físicos e sensoriais (LEROY et al., 2006). A qualidade e a complexidade da bebida é, certamente, o principal diferencial de um café especial, o qual é tanto mais valorizado quanto mais rara e exótica for a sensação de prazer e percepção sensorial proporcionada ao consumidor.

A qualidade do café tem sido avaliada por critérios como sabor, aroma, tamanho e forma do grão, cor, potencial de torra, método de preparo, ano de colheita, (CHOI et al., 2010) e são influenciados por fatores genéticos, como, por exemplo, diferentes cultivares, fatores ambientais e procedimentos na pós-colheita (BERTRAND et al., 2006; VAAST et al., 2006).

Dentre esses fatores, o genótipo, o ambiente e o processamento são considerados fundamentais na obtenção de um produto final com qualidade (AVELINO et al., 2002; 2005; BORÉM, 2008; DECAZY et al., 2003). Diversos autores analisaram a composição química do café e suas variações qualitativas e quantitativas, decorrentes das espécies e variedades estudadas, dos efeitos isolados do processamento bem como do ambiente de produção (AVELINO et al., 2005; CAMPA et al., 2005; DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010; KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006; KY et al., 2001; MONTEIRO; FARAH, 2012).

Algumas enzimas são consideradas essenciais na qualidade sensorial do café, sendo assim alguns eventos bioquímicos, como oxidação, degradação e inativação de enzimas, são algumas das alterações relacionadas ao processo de deterioração (COPELAND; MCDONALD, 2001; MCDONALD, 1999; VIDIGAL et al., 2008, 2009). Algumas enzimas envolvidas nesse processo de deterioração, têm potencial para monitorar e caracterizar a qualidade dos grãos (VEIGA et al., 2010).

As perdas qualitativas dos grãos de café ocorrem devido à oxidação dos lipídios causando importante modificação no sabor e odor, ou seja, como consequência da deterioração (AGUIAR et al., 2005; HAMID et al., 2002; HEIM; TAGLIAFERRO; DENNIS, 2002). Retardar ou inibir a oxidação, evitando o início ou a propagação das reações em cadeia de oxidação, é possível pela ação dos antioxidantes, um exemplo de sistema antioxidante de defesa é a enzima superóxido dismutase (SOD) (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006)

Diante disso, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a atividade da enzima superóxido dismutase de grãos de café (*Coffea arabica* L.), no processamento via seca dos genótipos Acaia e Bourbon Amarelo.

## MATERIAIS E METODOS

As amostras de café (*Coffea arabica* L.) foram coletadas nas safras agrícolas (2009/10, 2010/11 e 2011/12) de fazendas comerciais localizadas no município de Carmo de Minas, Minas Gerais, Brasil (Figura 1).

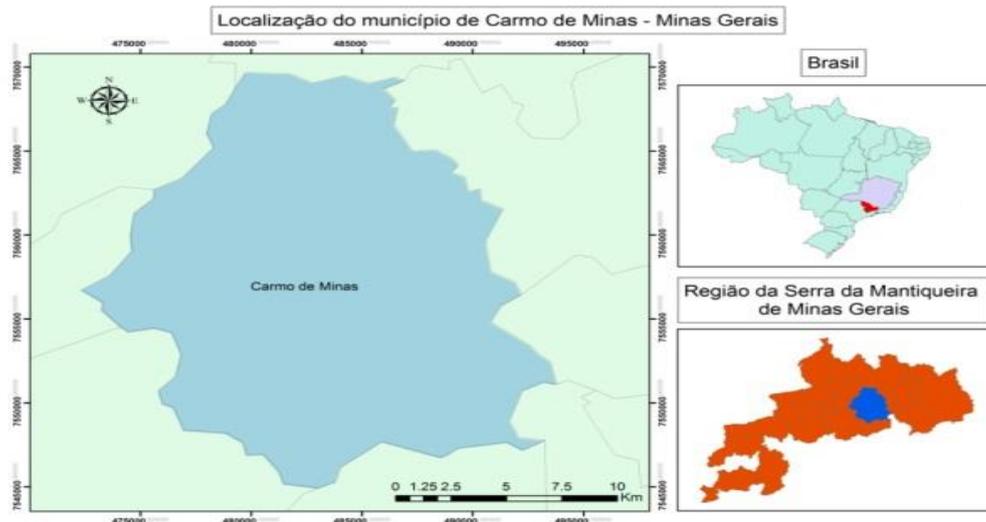


Figura 1. Localização do município de Carmo de Minas, na região da Serra da Mantiqueira do estado de Minas Gerais e no Brasil.

O delineamento experimental foi baseado no estudo da interação entre variáveis ambientais e de genótipo. O ambiente de cultivo do café foi estratificado em três classes de altitude (inferior a 1.000 m, entre 1.000 e 1.200 m e superior a 1.200 m). Para cada um dos ambientes apenas os frutos maduros foram colhidos da cultivar Bourbon Amarelo e Acaiá, processados pela via seca. Todos os procedimentos de colheita, processamento e secagem foram realizados seguindo Borém (2008). Após a secagem, as amostras foram embaladas em sacos de papel e revestidas com sacos plásticos, identificadas e armazenadas em câmara fria com temperatura controlada, a 10 °C e umidade relativa de 60%, por um período de 30 dias.

Em seguida, as amostras foram beneficiadas separando-se os grãos quanto à forma e o tamanho. Foram utilizados somente os grãos chatos das peneiras 16 a 18/64 de polegada, eliminando-se os grãos chatos retidos na peneira 19/64 de polegada e os grãos moça retidos na peneira com crivo oblongo de 11 x 3/4 de polegada. Posteriormente, todos os defeitos foram retirados, visando à uniformização e, sobretudo, à minimização de interferências que não fossem relacionadas aos fatores em estudo.

Na preparação das amostras para a análise bioquímica os grãos foram triturados utilizando um moinho IKA A11 base analítica e em seguida, armazenados em "deep-freezer" a - 80 °C até as análises serem realizadas.

#### **Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)**

Para a extração das enzimas, foi utilizado o tampão Tris HCL 0,2M pH 8,0 + (0,1% de  $\beta$ -mercaptoetanol), na proporção de 250  $\mu$ L por 100 mg de grãos. O material foi homogeneizado em vortex e mantido, por 60 minutos, em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm, por 45 minutos, a 4 °C. A corrida eletroforética ocorreu em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 50  $\mu$ L do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética efetuada a 120 V, por 5 horas. Terminada a corrida, os géis foram revelados para a enzima superóxido dismutase (SOD), conforme Alfenas (2006).

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Analisando o gel de eletroforese da enzima superóxido dismutase dos grãos de café processado via seca (Figura 2), observa-se que para a altitude < 1.000 m, o genótipo Acaiá apresentou, nas duas primeiras safras agrícolas (09/10 e 10/11), maior atividade da enzima, em comparação com o genótipo Bourbon Amarelo, no qual foi observado maior atividade no

terceiro ano (11/12). Na faixa de altitude de 1.000 a 1.200 m, observou-se para o genótipo Acaia a maior atividade da enzima, exceto para o tratamento B2 (Figura 2) que obteve-se maior atividade da SOD. Para a faixa de altitude >1.200 m, o genótipo Acaia apresentou maior atividade enzimática. De maneira geral, a atividade da enzima SOD foi maior no genótipo Acaia, para as três faixas de altitudes. Atividades mais intensas foram observadas nas altitudes intermediárias (1.000 a 1.200 m) e nas maiores altitudes (>1.200 m), com poucas variações entre as três safras agrícolas.

Esses resultados mostram que não existe um perfil predominante para a enzima SOD, quando ocorre a interação entre altitude e genótipos, para os três anos de coleta do experimento. A relativa uniformidade da atividade da SOD nos grãos de cafés pode estar relacionada à alta qualidade dos grãos de cafés, com pequenas diferenças na qualidade sensorial e fisiológica. Elevada atividade dessas enzimas em plantas promove proteção e tolerância das mesmas ao estresse (SAATH, 2010). Gomes-Júnior et al. (2006), estudando o metabolismo antioxidante em cafeeiro, observaram aumento na atividade da SOD, devido ao estresse causado pela atividade do cádmio.

Contudo, a cultivar Bourbon foi a que apresentou a menor ativação da enzima SOD e segundo Figueiredo et al. (2013), esta cultivar apresenta grande potencial para a produção de cafés especiais e notas sensoriais melhores que outras cultivares, podendo então, relacionar a menor ativação da enzima SOD com grãos de melhor qualidade.

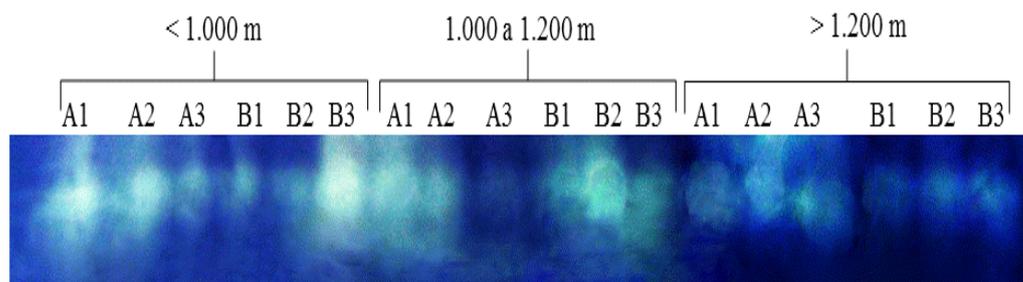


Figura 1 Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via seca revelados para a enzima superóxido dismutase. A= Acaia; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.

## CONCLUSÃO

1. A enzima SOD é um marcador pouco preciso da qualidade do café natural.
2. Por meio das imagens, de maneira geral, a atividade da enzima SOD é maior no genótipo Acaia, para as três faixas de altitudes.
3. O genótipo Bourbon Amarelo cultivado acima de 1.200 m de altitude e processado por via seca apresenta, no grão cru, maior atividade da enzima, superóxido dismutase.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVELINO, J.; BARBOZA, B.; ARAYA, J. C.; FONSECA, C.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; CILAS, C. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitudeterroirs of Costa Rica, Orosí and Santa María de Dota. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.85, n.11, p.1869-1876, 2005.
- BERTRAND, B.; VAAST, P.; ALPIZAR, E.; ETIENNE, H.; DAVRIEUX, F.; CHARMETANT, P. Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of Arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. *Tree physiology*, v.26, n.9, p.1239-48, 2006.
- BORÉM, F. M. Pós-colheita do café. Lavras: UFLA, 2008. v. 1, p. 631
- CAMARGO, A. P.; SANTINATO, R.; CORTEZ, J. G. Aptidão climática para qualidade da bebida nas principais regiões cafeeiras de Arábica do Brasil. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 19, 1992, Araxá. Anais... Varginha: Ed. Bom Pastor, p.70-74, 1992.

- CAMPA, C. et al. Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild *Coffea* species. *Food Chemistry*, Oxford, v. 93, n. 1, p. 135-139, Nov. 2005.
- CHOI, M.; CHOI, W.; PARK, J. H.; LIM, J.; KWON, S. W. Determination of coffee origins by integrated metabolomic approach of combining multiple analytical data. *Food Chemistry*, v.121, n.4, p.1260-1268, 2010.
- DECAZY, F. et al. Quality of different Honduran coffees in relation to several environments. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 68, n. 7, p. 2356-2361, 2003.
- DUARTE, G. S.; PEREIRA, A. A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry*, London, v. 118, n. 3, p. 851-855, Feb. 2010.
- FIGUEIREDO, L. P., BORÉM, F. M., CIRILLO, M.Â., RIBEIRO, F. C., GIOMO, G. S., & SALVA, T. D. J. G. (2013). The potential for high quality bourbon coffees from different environments. *Journal of Agricultural Science*, 5(10), 87-98. <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v5n10p87>.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases I: occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, Bethesda, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.
- GOMES-JÚNIOR, R. A. et al. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. *Chemosphere*, Oxford, v. 65, n. 8, p. 1330- 1337, 2006.
- KNOPP, S. E.; BYTOF, G.; SELMAR, D. Influence of processing on the content of sugars in green arabica coffee beans. *European Food Research and Technology*, Berlin, v. 223, n. 2, p. 195-201, June 2006.
- KY, C. L. et al. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry*, Oxford, v. 75, n. 2, p. 223-230, 2001.
- LEROY, T.; RIBEYRE, F.; BERTRAND, B.; CHARMETANT, P.; DUFOUR, M.; MONTAGNON, C.; MARRACCINI, P.; POT, D. Genetics of coffee quality. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v.18, n.1, p.229-242, 2006.
- SAATH, R. Qualidade do café natural e despulpado em diferentes condições de secagem e tempos de armazenamento. 2010. 229 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- VAAST, P.; BERTRAND, B.; PERRIOT, J.; GUYOT, B.; GÉNARD, M. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.86, n.2, p.197-204, 2006.