

PERFIL ENZIMÁTICO DA SUPERÓXIDO DISMUTASE NA AVALIAÇÃO DE GRÃOS DE CAFÉS DESMUCILADOS

Murilo Ferraz Tosta²; Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa³; Ana Claudia Almeida da Silva⁴; Guilherme Euripedes Alves⁵; Diego Egídio Ribeiro⁶; Marcos Paulo Santos Luz⁷; Carlos Henrique Cardeal Guiraldeli⁸; Diego Domingues Macedo⁹; Flávio Meira Borém¹⁰

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

² Estudante de Doutorado em Engenharia Agrícola/UFLA, mutosta@hotmail.com;

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

³ Estudante de Engenharia Agrícola/UFLA, anaclaudia.alsi@gmail.com;

⁴ Estudante de Doutorado em Engenharia Agrícola/UFLA, guiuualves@gmail.com;

⁵ Estudante de Doutorado em Engenharia Agrícola/UFLA, diegoagro10@hotmail.com;

⁶ Pesquisador, MS, UFLA, Lavras-MG marcospauloluz@gmail.com;

⁷ Estudante de Agronomia/UFLA; ch_cardeal@hotmail.com;

⁸ Estudante de Agronomia/UFLA; diego.domingues@hotmail.com;

⁹ Professor do Departamento de Engenharia/UFLA, flavioborem@deg.ufla.br.

RESUMO: Nos diversos segmentos produtivos, a busca por qualidade é uma das maiores preocupações. O café é um dos poucos produtos cujo valor cresce com a melhoria da qualidade da bebida. Essa qualidade é determinada, principalmente, pelo sabor e aroma formados durante a torração a partir de componentes químicos e bioquímicos presentes no café cru. Assim este trabalho buscou relacionar atividade da enzima SOD com a qualidade final da bebida do café processado via úmida, em função de três faixas de altitudes (acima de 1.200m, entre 1.000 e 1.200m e abaixo de 1.000m), duas variedades de *Coffea arabica* L. (Bourbon amarelo e Acaiá) e três safras agrícolas (2009/10, 2010/11 e 2011/12). Foram colhidos apenas frutos maduros das cultivares Bourbon Amarelo e Acaiá seguido de separação hidráulica, descascamento e desmucilamento mecânico. Para a realização das análises foram utilizados somente os grãos chatos retidos nas peneiras 16 a 18/64 de polegada, eliminando-se os grãos chatos retidos na peneira 19/64 de polegada e os grãos mocas retidos na peneira com crivo oblongo de 11 x ¾ 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. Nas condições em que foi desenvolvido o presente trabalho, conclui-se que: a enzima superóxido dismutase (SOD) tem relação positiva com a qualidade dos grãos de cafés; cafés da variedade Bourbon Amarelo, tendem a apresentar menor atividade da enzima SOD; cafés produzidos em maiores altitudes apresentam menor atividade da enzima SOD.

PALAVRAS-CHAVE: altitude, enzima, qualidade da bebida.

ENZYMATIC PROFILE IN SUPEROXIDE DISMUTASE FOR COFFEE BEANS WET PROCESSED.

ABSTRACT: Different production segments, the search for quality is a major concern. Coffee is one of the few products whose value grows with the improvement of the quality of the beverage. This quality is determined mainly by the taste and aroma formed during roasting from chemical and biochemical components present in coffee beans. So this study aimed to relate the activity of the enzyme SOD with the focused of the coffee processed wet, according to three tracks altitudes (above 1,200 meters, between 1,000 and 1,200 m and below 1,200), two varieties of *Coffea arabica* L. (Yellow Bourbon and Acaiá) and three growing seasons (2009/10, 2010/11 and 2011/12. Were harvested ripe fruit of cultivars Yellow Bourbon and Acaiá followed by hydraulic separation, and processed using the wet method. To make out the analyzes were used only beans retained in the sieves 16 to 18/64 inch, eliminating the beans retained in the sieve 19/64 inch and grains billy clubs retained in the sieve with oblong screen 11 x ¾ inch. Subsequently, all defects have been removed, to achieve uniformity and, above all, to minimize interference that were not related to the factors under study. In the conditions of the present study was developed, it is concluded that: superoxide dismutase (SOD) has positive relationship with the quality of coffee beans; coffees of the Bourbon variety Yellow, tends to present lower activity of SOD enzyme;; coffee produced at higher altitudes have lower activity of SOD enzyme.

KEYWORDS: altitude, enzyme, beverage quality.

INTRODUÇÃO

Nos diversos segmentos produtivos, a busca por qualidade é uma das maiores preocupações. O café é um dos poucos produtos cujo valor cresce com a melhoria da qualidade da bebida. Essa qualidade é determinada, principalmente, pelo

sabor e aroma formados durante a torração a partir de componentes químicos e bioquímicos presentes no café cru (BORÉM, 2008). Acredita-se que exista alguma relação entre os aspectos bioquímicos com a qualidade final da bebida, e que esses aspectos possam contribuir na explicação do fenômeno da qualidade do café. Nos grãos, as principais alterações relacionadas com o processo de deterioração é a degradação e inativação de componentes bioquímicos, como as enzimas (COPELAND, MCDONALD, 2001), provocando a redução da atividade respiratória (VIDIGAL, 2009;2008) e a perda da integridade das membranas celulares (MCDONALD, 1999).

Os mecanismos enzimáticos protetores contra radicais livres incluem algumas enzimas, como exemplo a superóxido dismutase (SOD), podendo monitorizar e caracterizar a qualidade do café em grão, contribuindo para a compreensão das causas das perdas qualitativas ocorridas devido à oxidação de lipídios. Esses processos de deterioração provocam mudanças significativas no sabor e aroma da bebida, indicando uma conseqüente perda de qualidade (AGUIAR et al, 2005; HAMID et al, 2002; HEIM, TAGLIAFERRO, DENNIS, 2002; VEIGA, 2010). A redução na atividade dessa enzima está relacionada com a estrutura celular, a qual é comprometida pela alteração nas membranas.

Os radicais livres são produzidos durante o metabolismo da planta, particularmente em cloroplastos e mitocôndrias (PUNTARULO et al., 1991). E as co-enzimas SOD constituem o primeiro grupo de enzimas que catalisa a reação de dismutação de radicais de superóxidos livres (O_2^-), para oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (MCDONALD, 1999). No entanto, seu excesso acarreta efeitos prejudiciais, tais como a lipoperoxidação de membranas e oxidação de proteínas (GRATÃO et al., 2005).

Assim, neste trabalho buscou-se relacionar atividade da enzima SOD com a qualidade final da bebida do café processado via úmida, em função de três faixas de altitudes (acima de 1.200m, entre 1.000 e 1.200m e abaixo de 1.000m), duas variedades de *Coffea arabica* L. (Bourbon amarelo e acaí) e três safras agrícolas (2009/10, 2010/11 e 2011/12).

MATERIAL E MÉTODOS

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

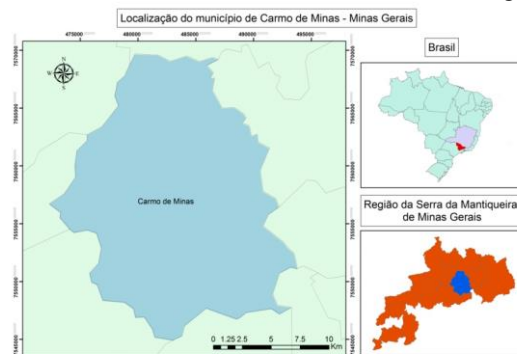


Figura 1. Localização do município de Carmo de Minas, na região da Serra da Mantiqueira do estado de Minas Gerais e no Brasil.

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 das cultivares Bourbon Amarelo e Acaí seguido de separação hidráulica, despulpamento e desmucilamento mecânico. Todos os procedimentos de colheita, processamento e secagem foram realizados seguindo Borém (2008). Após a secagem, as amostras foram embaladas em sacos de papel kraft 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 tamanho. Foram utilizados somente os grãos chatos retidos nas peneiras 16 a 18/64 de polegada, eliminando-se os grãos chatos retidos na peneira 19/64 de polegada e os grãos mocos retidos na peneira com crivo oblongo de 11 x ¾ 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, na presença de nitrogênio líquido, utilizando um moinho IKA A11 base analítica. Na seqüência, as amostras trituradas foram armazenadas em "deep-freezer" a -80 °C até a realização das análises.

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 β -mercaptoetanol), na proporção de 250 μ 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 μ 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 os géis de eletroforese da enzima superóxido dismutase dos grãos de café processados via úmida, a atividade da SOD é maior no genótipo Acaia (Figura 2). Para as três faixas de altitudes estudadas o genótipo Acaia apresentou maior atividade da enzima SOD, demonstrando que os grãos estavam com alta concentração de EROS e por tanto, houve a necessidade de uma maior atividade da enzima para combater os radicais livres. Logo, a qualidade dos grãos pode ser relacionada com essa alta atividade enzimática. Atividades mais intensas foram observadas nas altitudes intermediárias (1.000 a 1.200 m) com poucas variações entre as três safras agrícolas, demonstrando que o efeito dos anos não interfere na qualidade dos grãos a nível celular. Para o genótipo Bourbon, o qual é considerado uma variedade que se obtém melhores bebidas, a atividade da SOD foi pouco observada demonstrando que a qualidade dos grãos se relaciona com a qualidade da bebida do café e consequentemente com a atuação das enzimas nos grãos.

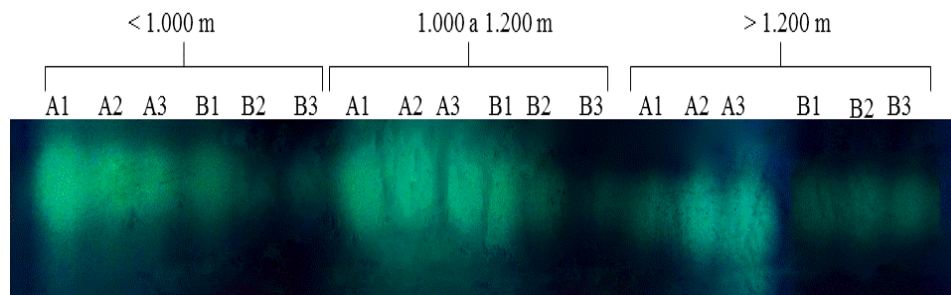


Figura 2. Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via úmida, revelados para a enzima superóxido dismutase. A = Acaia; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 = Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.

A enzima SOD é conhecida como removedora de radicais livres ou “scavenger”. A redução na atividade dessa enzima está relacionada à perda de viabilidade dos grãos e consequentemente, redução na qualidade (BRANDÃO JÚNIOR et al., 1999). Esse sistema enzimático está envolvido em uma resposta antioxidativa por neutralizar potencialmente o oxigênio tóxico ativado, formado durante as condições de estresses (WINSTON, 1990) as quais podem causar danos aos grãos. Situações de estresse, como a remoção severa da água das células, induzem a processos oxidativos e produção de radicais livres, os quais são altamente reativos (HENDRY, 1993).

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvido o presente trabalho, conclui-se que:

- A enzima superóxido dismutase (SOD) tem relação positiva com a qualidade dos grãos de cafés;
- Cafés da variedade Bourbon Amarelo, tende apresentar menor atividade da enzima SOD;
- Cafés produzidos em maiores altitudes apresentam menor atividade da enzima SOD.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, A. T. E. et al. Diversidade química de cafeeiros na espécie *Coffea canephora*. *Bragantia*, Campinas, v. 64, n. 4, p. 577-582, 2005.
- ALFENAS, A. C. (Ed.). *Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos*. Viçosa, MG: UFV, 2006. 627 p.
- BORÉM, F. M. Pós-colheita do café. Lavras: UFLA, 2008. v. 1, p. 631.

- BRANDÃO JUNIOR, D. da S.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 21, n. 1, p. 114-121, 1999.
- COPELAND, L. D.; MCDONALD, M. B. *Principles of seed science and technology*. 4th ed. New York: Chapman & Hall, 2001. 467 p.
- GRATÃO, P. L. et al. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology*, Victoria, v. 32, n. 6, p. 481-494, June 2005.
- HAMID, A. A. et al. Characterisation of antioxidative activities of various extracts of *Centella asiatica* (L) Urban. *Journal of Food Chemistry*, Washington, v. 77, n. 4, p. 465-469, June 2002.
- HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; DENNIS, J. B. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, Amsterdam, v. 13, n. 10, p. 572-584, Oct. 2002.
- HENDRY, G. A. F. Oxygen and free radical processes in seed longevity. *Seed Science Research*, Wallingford, v. 3, n. 3, p. 141-153, Sept. 1993
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Green coffee: determination of loss mass at 105 °C, ISO 6673:2003. New York, 1999.
- MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.
- PUNTARULO, S.; GALLEANO, M.; SANCHEZ, R. A.; BOVERIS, A. Superoxide anion and hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes during germination. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.1074, n. 2, p.277-283, July 1991.
- VEIGA, A. D. et al. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 34, n. 4, p. 953-960, jul./ago. 2010.
- VIDIGAL, D. de S. et al. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 31, n. 2, p. 129-136, 2009.
- VIDIGAL, D. de S. et al. Teste de condutividade elétrica para sementes de pimenta. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 30, n. 1, p. 168-174, 2008.
- LINGLE, T. R. *The coffee cupper's handbook: a systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor*. 3. ed. Long Beach: Speciality Coffee Association of America, 2001. 47 p.
- WINSTON, G. W. Physiochemical basics for free radical formation in cells : production and defenses. In: ALSCHER, R. G.; CUMMING, J. R. (Ed.). *Stressresponses in plants : adaptation and acclimation mechanisms*. New York: Wiley-Liss, 1990. p. 57-86.