

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DOS GRÃOS DE CAFÉ ROBUSTA E ARÁBICA SOBRE A AÇÃO DA ASPARAGINASE

Ana Carolina V. Porto¹, Filipe C.A. Sousa², Erika F. Souza³, Edmar M. Penha³, Luzimar S. Mattos³, Sidney Pacheco³, Ronoel L.O. Godoy³, Otniel F. Silva³ e Leda M.F. Gottschalk³

¹ Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Departamento de Ciência dos Alimentos

² Universidade Estadual da Zona Oeste. Av. Manuel Caldeira de Alvarenga 1203, 23070-200, Rio de Janeiro.

³ Embrapa Agroindústria de Alimentos. Av. das Américas 29501, 23.020-470, Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail para contato: ana_fobemo@hotmail.com

RESUMO

A presença da acrilamida em alimentos representa riscos à saúde. Seu potencial de formação em alimentos está relacionado à presença de seus precursores, asparagina e açúcares redutores. Evidências apontam a asparagina como principal aminoácido precursor no mecanismo de formação da acrilamida que ocorre durante a reação de Maillard. Sendo assim, a enzima asparaginase tem sido utilizada com o intuito de remediar a formação deste composto em alimentos ricos em asparagina. O objetivo do presente estudo foi minimizar a formação de acrilamida em grãos de café com a utilização da enzima asparaginase. Foram utilizados grãos verdes das variedades de Arábica e Robusta. Os mesmos foram selecionados e pré-tratados com vapor para abertura dos poros submetidos a um vapor fluente (100°C) por 15, 30, 45, e 60 minutos. E, em seguida, submetidos à ação da enzima asparaginase. O tempo de pré-tratamento para o grão do café arábica foi de 30 minutos, onde houve a redução de 60% da quantidade de asparagina. Já para o grão de café robusta o melhor tempo de pré-tratamento foi o de 45 minutos, onde houve a redução de 35% da quantidade de asparagina.

1. INTRODUÇÃO

A acrilamida tem sido considerada substância potencialmente cancerígena e neurotóxica, formada quando alimentos ricos em carboidratos são fritos, assados ou torrados acima de 120°C (Arisseto & Toledo, 2008).

A presença da acrilamida em alimentos pode representar riscos à saúde humana, incluindo o consumo de café. Seu potencial toxicológico em alimentos está relacionado não somente à presença de seus precursores, asparagina e açúcares redutores, mas também com as concentrações desses compostos na matéria-prima, que podem variar significativamente entre diferentes espécies, as práticas de cultivo e o processamento (Borém et al, 2009).

Evidências apontam a asparagina como principal aminoácido envolvido na reação de Maillard, como um dos precursores chave no mecanismo de formação da acrilamida (Neri, 2004). Desta forma, recentemente, para remediar a formação desta, a enzima asparaginase vem sendo utilizada, uma vez que a mesma converte o precursor asparagina em ácido aspártico e amônia (Pedreschi *et al*, 2011).

A aplicação da enzima asparaginase em batatas fritas mostrou ser muito promissora, a acrilamida contida nesse alimento foi reduzida em aproximadamente 90% sem alteração nas propriedades sensoriais do produto (Medeiros *et al*, 2011).

Alguns estudos têm determinado o teor de acrilamida em café e o seu conteúdo parece depender não só de sua espécie botânica, mas também do tipo de processamento a qual este produto é submetido. Uma comparação entre os cafés Robusta e Arábica, que são as espécies de maior impacto econômico, mostrou que o primeiro produz um nível mais elevado de acrilamida. Este dado pode ser justificado devido ao seu maior teor de asparagina (Medeiros *et al*, 2011; Lantz et al., 2006). A formação da acrilamida ocorre rapidamente com o início do processo de torrefação, atingindo um máximo seguido de uma redução, possivelmente devido às perdas físicas e químicas (Alves *et al*, 2010).

O teor de acrilamida em grãos de café torrados é extremamente variável e os níveis normalmente relatados na literatura estão dentro da faixa de 0,027-0,609 mg por kg de café (FDA, 2006; Alves *et al*, 2010).

A utilização de matérias com baixo nível de precursores da formação de acrilamida pode ser utilizada para reduzir a acrilamida no produto final. As condições do processo também podem ser modificadas, de modo a diminuir a quantidade de formação da mesma (Pedreschi *et al*, 2014). Neste trabalho, foi avaliado o efeito do pré-tratamento dos grãos de café Robusta e Arábica para abertura dos poros e melhor acesso da enzima asparaginase na hidrólise da asparagina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras de café

As variedades de café utilizados para análise foram: *Coffea arabica* (Arábica) e *Coffea canephora* (Robusta). Todas as amostras foram adquiridas de regiões produtoras dos estados de Minas Gerais (*C. arabica*) e do Espírito Santo (*C. canephora*), nos respectivos municípios de Machado e Santa Tereza. Os grãos verdes foram moídos e submetidos à extração para determinação da asparagina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

2.2. Pré-tratamento com vapor para abertura dos poros dos grãos de café

Para avaliar a influência do vapor na abertura dos poros dos grãos e conseqüentemente na ação da enzima asparaginase, os grãos de arábica e robusta foram submetidos a diferentes tempos de exposição ao vapor. Aproximadamente 10 g de café (por ensaio) foram submetidos ao vapor fluente (100°C) nos tempos de 15, 30, 45 e 60 minutos. Foi feito um branco (sem enzima) para cada tempo de exposição ao vapor.

2.3. Determinação da atividade enzimática

Como a asparaginase é uma enzima que converte a asparagina em ácido aspártico e amônia, na análise da atividade enzimática, a amônia produzida foi quantificada através do kit da ROCHE/BOEHRINGER enzimático para determinação de amônia.

2.4. Tratamento enzimático

O tratamento enzimático foi feito com 10 g de café pré-tratado em frasco Erlenmeyer de 250 mL. Foram adicionados 1,47 mL da enzima asparaginase diluída 100 vezes (carga enzimática de 3500 ASNU/g de café seco) e o peso foi completado com água deionizada, até atingir 6 g (enzima + água deionizada). Nesta condição, a quantidade de água presente foi de 60%. As amostras foram colocadas em shaker a 60°C durante 1 hora, sob agitação a 200 rpm. Em seguida, os grãos foram distribuídos em placas de Petri e levados para estufa a 80°C por aproximadamente 2 horas, até a secagem total dos grãos (peso seco). Os mesmos foram submetidos à moagem e extração.

2.5. Etapa de moagem e extração

Os grãos de café arábica e robusta foram triturados e moídos com um Mix (PHILIPS WALITA™) e peneirados em peneira fina simples para manter a granulometria padronizada. A extração ocorreu na proporção de 1 g de café para 25 mL de HCl 0,1 M em ultrassom por 20 minutos. Após a extração, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos/4500 rpm. O sobrenadante foi homogeneizado e alíquotas de aproximadamente 1 mL foram microfiltradas em membranas com corte molecular de 0,22µm, sendo 50 µL do microfiltrado transferidos para Vials e submetidos a secagem à vácuo overnight.

2.6. Determinação da asparagina por CLAE

Depois da secagem, as amostras foram derivatizadas com *AccQ-Fluor Reagent Powder* e analisadas por CLAE (coluna, Hypersil C18; fluxo 1,0 mL/min, detector de fluorescência).

3. RESULTADOS

Foi realizado um estudo comparativo entre os valores de asparagina apresentados pelos grãos de café verde sem exposição ao vapor e pelos submetidos aos diferentes tempos de exposição ao vapor e seus respectivos brancos (sem enzima).

O tempo de pré-tratamento encontrado para o grão do café arábica foi o de 30 minutos, onde houve uma redução de aproximadamente 60% da quantidade de asparagina quando comparado com o grão submetido ao mesmo tempo de exposição ao vapor e sem tratamento enzimático (Figura 1).

Já no grão do café robusta o melhor tempo de pré-tratamento foi o de 45 minutos, onde houve a redução de aproximadamente 35% da quantidade de asparagina no grão de café (Figura 2).

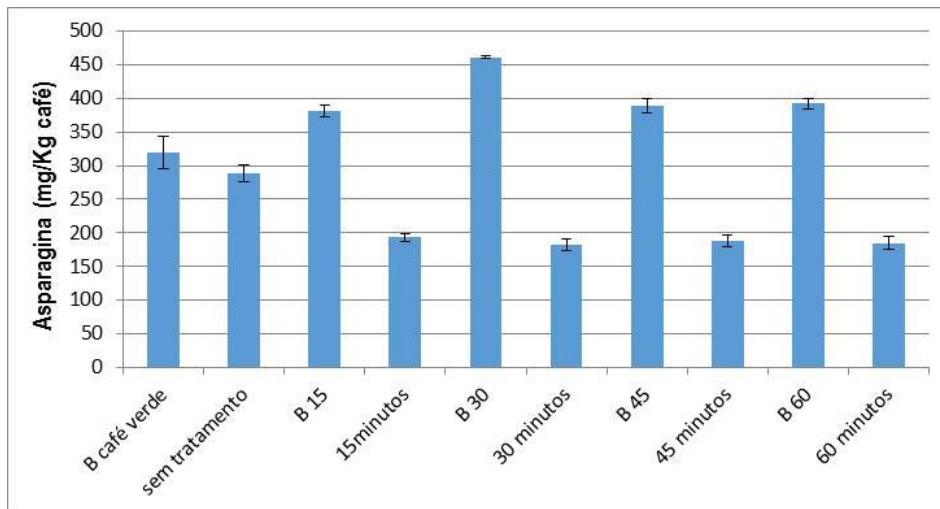


Figura 1: Gráfico de influência do pré-tratamento com vapor no café arábica.

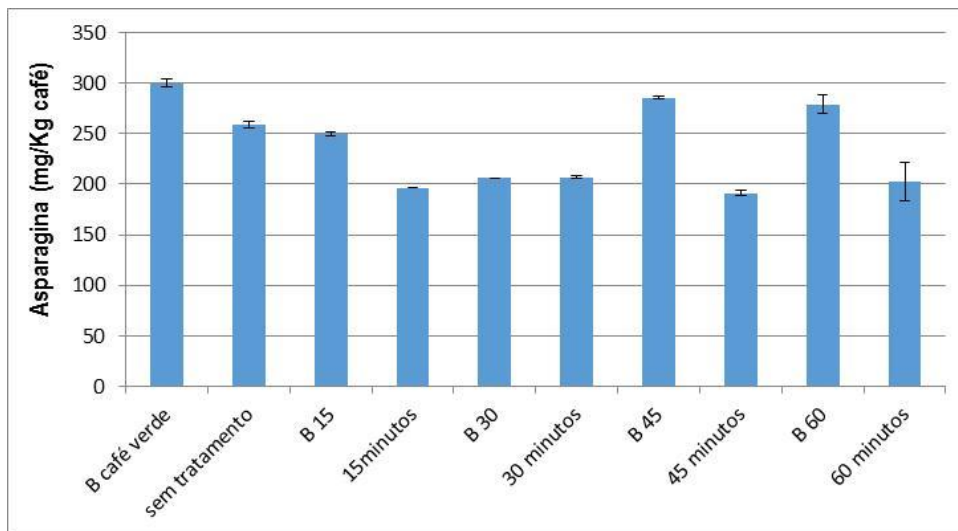


Figura 2: Gráfico de influência do pré-tratamento com vapor no café robusta.

Os resultados mostraram a efetividade da enzima asparaginase (Acrylaway CB L) na redução da asparagina livre nos grãos verdes de café, tanto da espécie arábica quanto da espécie robusta. O pré-tratamento com vapor é essencial para diminuir a formação da acrilamida por meio da diminuição de asparagina livre no grão de café verde.

Nos estudos realizados nesta área específica (de aplicação asparaginase no café), Hendriksen (2013) conseguiu alcançar bons resultados (entre 30% -60 % na redução de asparagina para o café robusta e arábica, respectivamente).

Portanto, os resultados encontrados nas análises da influência do pré-tratamento com vapor nos grãos de cafés com a implementação da nova metodologia de extração foram satisfatórios.

5. REFERÊNCIAS

- Alves, R.C., Soares, C., Casal, S., Fernandes, J.O., Beatriz, M., Oliveira, P.P., 2010. Acrylamide in espresso coffee: influence of species, roast degree and brew length. *Food Chem.* 119(3), 929-934.
- Arisseto, M.A.P., Toledo, C., 2008. Estimativa preliminar da ingestão de acrilamida no Brasil. *Revista Brasileira de Toxicologia.* 1(21), 9 -14.
- Borém, F.M., Dias, E.C., Guerreiro, M.C., Pereira, R.G., Oliveira, P.D., Nobre, G.W., Neves, J.B., 2009. Perfil de aminoácidos nos frutos verdes do cafeeiro processados por via seca e via úmida. VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 20(10), 234-238.
- FDA, 2006. Survey data on acrylamide in food: individual food products. FDA/Center for Food Safety and Applied Nutrition, Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydata.html#u1004>, (acesso em 20 de março de 2013).
- Lantz, I., Ternité, R., Wilkens, J., Hoenicke, K., Guenther, H., Van Der Stegen, G.H.D., 2006. Studies on acrylamide levels in roasting, storage and brewing of coffee. *Mol. Nutrition and Food Res.* 50(11), 1039 – 1046.
- Medeiros, V.R., Mestdagh, F., Van Poucke, C., Kerkaert, B., De Muer, N., Denon, Q., Van Petechem, C., De Meulenaer, B., 2011. Implementation of acrylamide mitigation strategies on industrial production of french fries: challenges and pitfalls. *J. Agric. Food Chem.* 59(8), 898 – 906.
- Neri, V.C.C., 2004. Acrilamida em Alimentos: Formação Endógena e Riscos à Saúde. PPGUS/INCQS. FIOCRUZ.
- Pedreschi, F., Mariotti, S., Granby, K., Risum, J., 2011. Acrylamide reduction in potato chips by using commercial asparaginase in combination with conventional blanching. *Food Sci. Technol.* 44(3), 1473–1476.



XX SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS XI SIMPÓSIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSA

01 a 04 de setembro de 2015
Fortaleza, Ceará, Brasil

Pedreschi, F., Mariotti, S., Granby, K., 2014. Current issues in dietary acrylamide: formation, mitigation and risk assessment. *J. Sci. Food and Agriculture*, 94, 09-20.