

## ESTRUTURA DOS POLISSACARÍDEOS DAS INFUSÕES DOS CAFÉS TORRADOS. OCORRÊNCIA DE COMPLEXOS POLISSACARÍDEOS-MELANOIDINAS

Fernando M. Nunes<sup>1</sup> e Manuel A. Coimbra<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-911 Vila Real. fnunes@utad.pt

<sup>2</sup> Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro

### 1 INTRODUÇÃO

O material de alto peso molecular (HMWM) das infusões de café torrado retém a cor castanha característica destes cafés. Neste material, por hidrólise, foram identificados monossacarídeos, aminoácidos e compostos fenólicos (Aurich *et al.*, 1967; Heinrich e Baltes, 1987; Navarini *et al.*, 1999; Homma, 2001; Nunes e Coimbra, 2001, 2002a, 2002b), no entanto, pela soma da quantidade destes compostos no HMWM, verifica-se que uma grande parte do material ainda permanece por caracterizar.

Os polissacarídeos são um dos componentes mais abundantes do HMWM. Os principais polissacarídeos do HMWM dos cafés torrados são as galactomananas (GM) e as arabinogalactanas (AG) (Nunes e Coimbra, 2001, 2002a, 2002b). As AG do café verde encontram-se covalentemente ligadas a proteínas, sendo acídicas devido à presença de ácido urónico como resíduos terminais (Redgwell *et al.*, 2002). Ao contrário das AG, as GM são constituídas só por componentes glucídicos.

Pelo facto de não ter sido possível separar fisicamente os polissacarídeos do material de cor castanha, tem sido sugerido que os polissacarídeos possam estar covalentemente ligados às melanoidinas, possivelmente através das reacções de Maillard que ocorrem durante a torra do café. No entanto, a possível existência de ligações covalentes entre os polissacarídeos e os compostos fenólicos condensados e/ou melanoidinas de natureza açúcar-aminoácido permanece ainda por esclarecer.

As melanoidinas são os produtos finais das reacções de Maillard, genericamente definidos como compostos castanhos de alto peso molecular, que contêm azoto (Ledl e Schleicher, 1990) e que possuem carácter aniónico. Com o aumento do grau de torra do café, a quantidade de azoto que não é proveniente directamente dos resíduos aminoácidos aumenta, possivelmente por formação de compostos derivados das reacções de Maillard.

De forma a tentar responder à questão da existência ou não de complexos polissacarídeo-melanoidina e da quantidade de polissacarídeos associados nestes complexos, os polissacarídeos foram extraídos a partir do HMWM de três cafés torrados com diferentes graus de torra. As fracções obtidas por fraccionamento em soluções de etanol, cromatografia de troca iónica e cromatografia em fase activada com ácido aminofenilborónico foram caracterizadas por análise de açúcares, metilação e análise de aminoácidos.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

A torra do café Brasil (BR, arábica não lavado), a moagem e a preparação do material de alto peso molecular (HMWM) foram efectuadas de acordo com Nunes e Coimbra (2001).

O HMWM de cafés com três graus de torra distintos (5, 8 e 10) foi fraccionado por adição de etanol após remoção por centrifugação do material insolúvel em água fria (4°C), obtendo-se três fracções; uma fracção insolúvel em 50% de etanol (Et50), uma insolúvel em 75% de etanol (Et75) e uma solúvel em 75% de etanol (EtSN).

As fracções Et50, Et75 e EtSN foram ainda fraccionadas por cromatografia de troca aniónica em Q-Sepharose FF, obtendo-se, para cada uma, uma fracção não retida (QSA) e uma fracção eluída com 1M NaCl (QSB). As fracções QSA foram fraccionadas por cromatografia de ácido aminofenilborónico em Sepharose obtendo-se três fracções, uma não retida (PB1), uma eluída com 200 mM de manitol (PB2) e outra eluída com 250 mM de ácido acético (PB3).

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O fraccionamento do HMWM por precipitação em etanol deu origem a quatro fracções com composição polissacarídica e proteica distinta e todas castanhas. A fracção Et50 era maioritariamente constituída por GM e a fracção Et75 era maioritariamente constituída por AG. A fracção EtSN era constituída por AG com uma grande quantidade de arabinose nas suas cadeias laterais.

As fracções Et50, Et75 e EtSN foram fraccionadas por cromatografia de troca aniónica em Q-Sepharose FF, o que permitiu obter duas fracções, uma não retida de cor castanha clara e uma retida e eluída com NaCl 1M, de cor castanha escura (Fig. 1). A análise de açúcares permitiu verificar que as fracções retidas (B e C) não eram tão ricas em polissacarídeos como as fracções não retidas (A). A análise de açúcares e de aminoácidos permitiu também verificar

que as fracções retidas continham uma maior percentagem em ácidos urónicos e uma maior quantidade de resíduos Glx e Asx, resíduos possivelmente aniónicos se provenientes de Glu e Asp, respectivamente. Estas fracções retidas eram também as mais castanhas e as que continham uma maior quantidade de material não identificado.

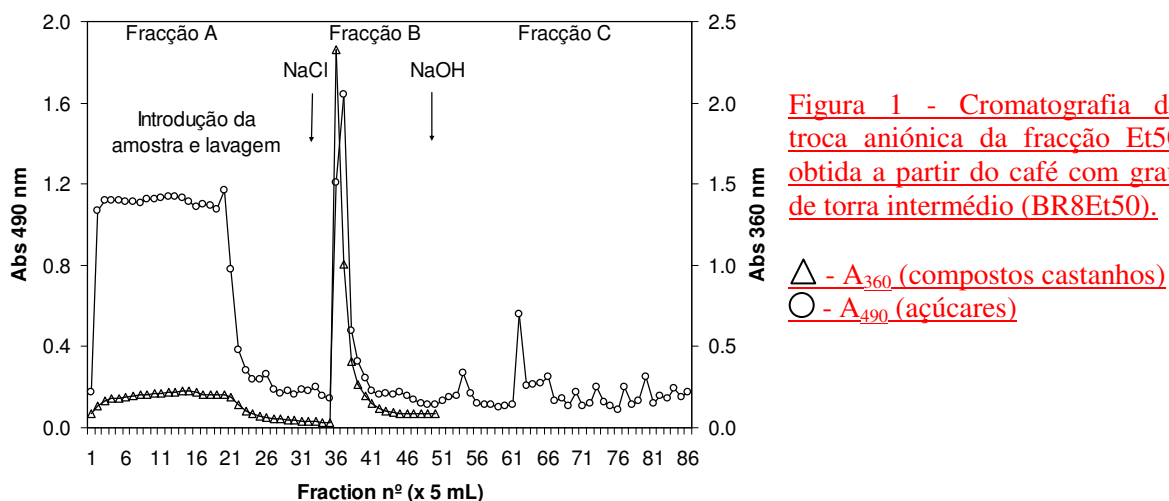


Figura 1 - Cromatografia de troca aniónica da fracção Et50 obtida a partir do café com grau de torra intermédio (BR8Et50).

△ - A<sub>360</sub> (compostos castanhos)  
○ - A<sub>490</sub> (açúcares)

As fracções não retidas na coluna de troca aniónica (Et50QSA), que correspondiam a cerca de 60-70% do material eluído, foram posteriormente fraccionadas por cromatografia de ácido aminofenilborónico em Sepharose (Fig.2). A maioria do material (~60%) foi retida na coluna e eluída com manitol. Para o café com menor grau de torra, esta fracção era amarela clara, e continha 75% de galactomananas, 3% de arabinogalactanas e 2% de proteína. Nesta fracção, o material não identificado foi de 20%. Para os cafés com torra média e escura as fracções eram castanhas e continham 56% de galactomananas, 1% de arabinogalactanas e 2% de proteína; 41% do material não foi identificado.

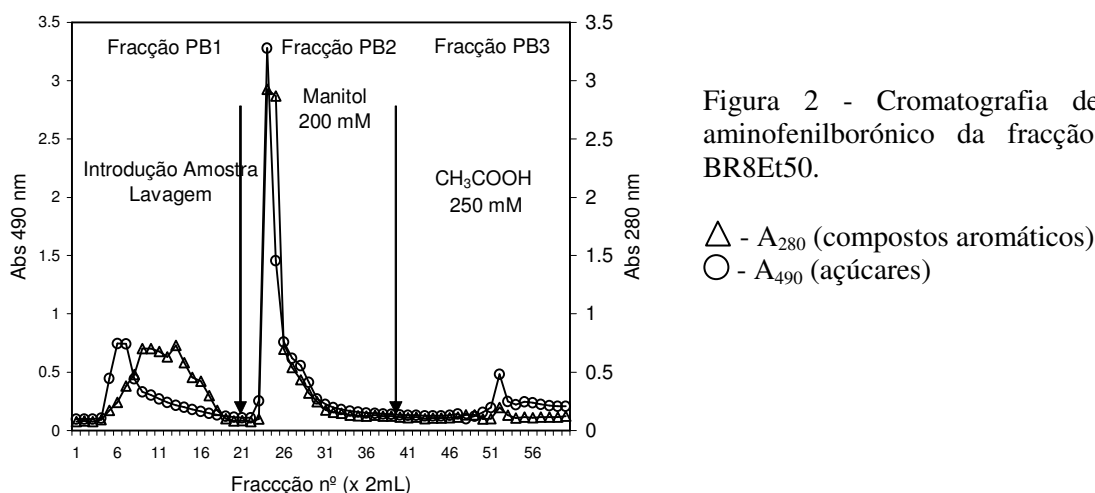


Figura 2 - Cromatografia de ácido aminofenilborónico da fracção A de BR8Et50.

△ - A<sub>280</sub> (compostos aromáticos)  
○ - A<sub>490</sub> (açúcares)

## 4 CONCLUSÕES

A retenção de galactomananas desprovidas de carga durante a cromatografia de troca aniónica em todas as fracções obtidas por precipitação em etanol e a co-eluição com os compostos de cor castanha e a co-eluição dos compostos castanhos com as galactomananas nas fracções Et50 retidas na coluna de ácido aminofenilborónico, indica que uma elevada percentagem das galactomananas extraídas para o HMWM estão covalentemente ligadas com os compostos castanhos, possivelmente associados em complexos entre melanoidinas e polissacarídeos. No entanto, para uma conclusão definitiva, o nosso trabalho está a prosseguir de forma a isolar e identificar os resíduos envolvidos na formação das ligações entre estes complexos.

## 5 REFERÊNCIAS

- Aurich, H.; Hofmann, R.; Klocking, R., Mucke, D. (1967) *Z. Lebensm. Untersch. Forsch.*, 135, 59-64.
- Heinrich, L.; Baltus, W (1987) *Z. Lebensm. Untersch. Forsch.*, 185, 366-370.
- Homma, S. (2001) In *Coffee, Recent Developments*, Eds Clarke, R. J.; Vitzthum. Blackwell Science. Chapter 2, pag 50-67.
- Ledl, F.; Schleicher, E. (1990). *Angew. Chem. Int.*, 29, 565-594.
- Navarini, L.; Gilli, R.; Gombac, V.; Abatangelo, A.; Bosco, M. (1999) *Carbohydr. Polym.*, 40, 71-81.
- Nunes, F. M.; Coimbra, M. A. (2001). *J. Agric. Food Chem.*, 49, 1773-1782.
- Nunes, F. M.; Coimbra, M. A. (2002a). *J. Agric. Food Chem.*, 50, 1429-1434.
- Nunes, F. M.; Coimbra, M. A. (2002b). *J. Agric. Food Chem.*, 50, 1429-1434.
- Redgwell, R. J.; Curti, D.; Fischer, M.; Nicolas, P.; Fay, L. B. (2002) *Carbohydr. Res.*, 337, 239-253.