

# EFEITO DO GRAU DE TORRA NAS CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DAS MELANOIDINAS DAS INFUSÕES DE CAFÉ

*Nunes<sup>1(\*)</sup>, F.M.; Silvestre<sup>2</sup>, A.J.D.; Coimbra<sup>2</sup>, M.A.*

<sup>1</sup> – Departamento de Química, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5000 Vila Real, Tel:259350242; e-mail: fnunes@utad.pt

<sup>2</sup> – Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3800 Aveiro Tel: 234370706; e-mail: mac@dq.ua.pt

**Palavras-chave:** Infusões de Café; Torra; Melanoidinas; Reacções de Maillard; Polissacarídeos

**Resumo:** Foi desenvolvido um método de fraccionamento e purificação das melanoidinas das infusões de café torrado. Este método envolveu a precipitação em soluções crescentes de etanol, cromatografia de troca aniónica e cromatografia de afinidade de íões cobre (II). Foram isoladas e purificadas seis populações de melanoidinas para as infusões de café com três diferentes graus de torra (suave, média e forte). Estas seis populações de melanoidinas apresentaram diferentes propriedades físico-químicas (solubilidade em etanol e capacidade quelante) e composição de açúcares e proteínas. As fracções isoladas a partir dos três graus de torra apresentaram uma composição similar. Estas fracções de melanoidinas contabilizaram 30 a 33% do material de alto peso molecular solúvel em água fria para os diferentes graus de torra. A análise estrutural permitiu verificar que 16-20% das galactomananas solúveis em água fria, 30-42% das arabinogalactanas e 32-42% do material proteico encontram-se associados a estas populações de melanoidinas. A natureza e abundância dos diferentes polissacarídeos em cada fracção foi dependente da sua solubilidade em etanol. As populações de melanoidinas insolúveis em soluções a 50% de etanol continham maioritariamente galactomananas e as fracções insolúveis em soluções a 75% de etanol continham maioritariamente arabinogalactanas. As populações de melanoidinas com propriedades quelantes continham um conteúdo de açúcares significativamente inferior relativamente às fracções não quelantes, e as fracções solúveis em soluções a 75% de etanol continham apenas quantidades vestigiais de açúcares. A quantidade de compostos resultantes das reacções de Maillard com propriedades quelantes e de compostos fenólicos presentes nas diferentes populações de melanoidinas não permite explicar as diferentes propriedades quelantes das populações de melanoidinas. A presença de uma maior quantidade de açúcares nas populações não quelantes sugere que um diferente arranjo espacial/estrutural dos açúcares nestas populações de melanoidinas modulam a actividade quelante destas melanoidinas.

## 1. INTRODUÇÃO

As melanoidinas são definidas como material macromolecular heterogéneo de cor castanha contendo azoto, resultante da submissão dos alimentos a temperaturas elevadas<sup>1</sup>. As suas características estruturais permanecem desconhecidas, mesmo para os sistemas modelo mais simples de açúcares+aminoácidos.

As infusões de café torrado são uma das principais fontes de melanoidinas na nutrição humana, podendo atingir cerca de 25% dos sólidos totais<sup>2</sup>. As melanoidinas presentes nos alimentos podem apresentar actividades nutricionais interessantes, no entanto têm também sido associados vários riscos ao seu consumo<sup>3</sup>. Por estas razões, o interesse na sua caracterização química e nutricional tem aumentado nos últimos anos.

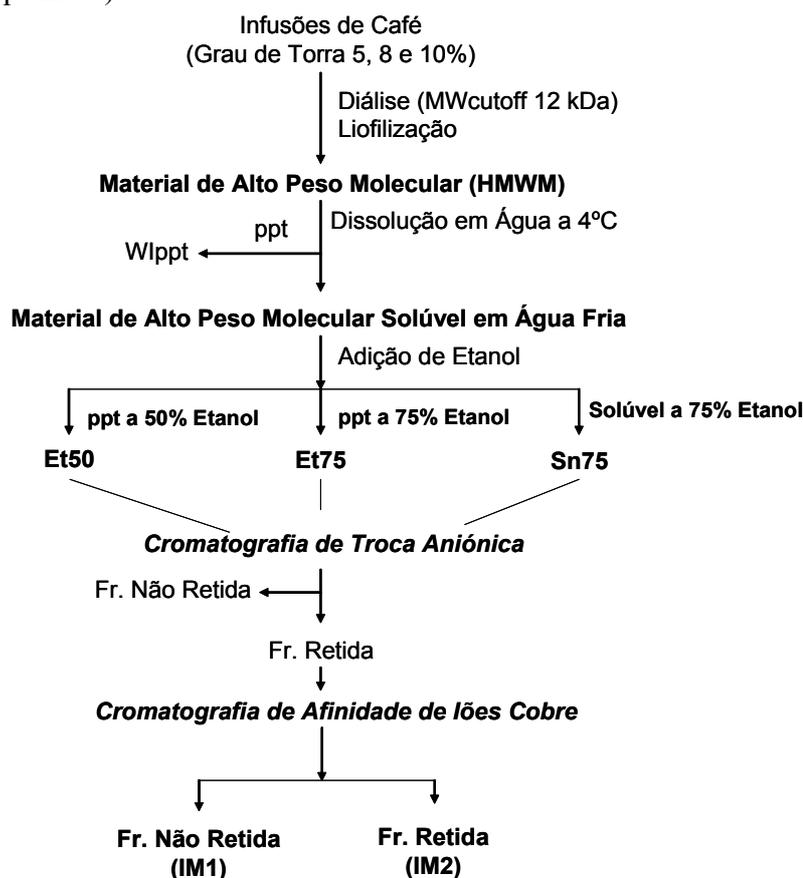
A diversidade de componentes químicos presentes no café verde que podem estar envolvidos na formação de melanoidinas durante o processo de torra, tais como a sacarose, os polissacarídeos, os aminoácidos, as proteínas e os ácidos clorogénicos, podem aumentar ainda mais a complexidade e heterogeneidade química das melanoidinas presentes neste alimento.

O objectivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um método eficiente de separação e fraccionamento das melanoidinas das infusões de café submetido a diferentes graus de torra

e a sua caracterização química no que diz respeito ao conteúdo e natureza de polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos associados.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As infusões de café foram preparadas a partir duma variedade de café arábica (Brasil) com três diferentes graus de torra, uma torra suave correspondendo uma perda de 5% de peso seco relativamente ao peso seco do café verde, uma torra média com uma perda de peso de 8% e uma torra forte correspondente a uma perda de peso de 10%. O procedimento de obtenção das populações de melanoidinas das infusões de café torrado encontram-se a seguir esquematizado (Esquema 1)



**Esquema 1** – Esquema de fracionamento das infusões de café para obtenção das populações de melanoidinas.

A quantidade de açúcares (GC após hidrólise com 1M de ácido sulfúrico e transformação em acetatos de alditol) e a análise estrutural (análise de metilação) foram realizadas por técnicas estabelecidas<sup>4,5</sup>. O conteúdo de ácidos urónicos foi determinado colorimetricamente pelo método de Blumenkrantz e Asboe-Hansen<sup>6</sup>. O conteúdo de proteína foi determinado por GC após hidrólise com 6M HCl e esterificação com isobutanol e acilação com anidrido heptafluorobutírico<sup>7</sup>. O conteúdo de compostos fenólicos condensados foi realizado por fusão alcalina<sup>8</sup> e determinação dos resíduos fenólicos por GC-MS após sililação<sup>9</sup>. A quantificação de furosina, *N*-ε-carboximetil-lisina (CML) e *N*-ε-carboxietil-lisina (CEL) foram realizadas por GC-MS após hidrólise ácida (7,8 M HCl, 24 h durante 110°C, sob azoto) após esterificação com isobutanol e acilação com anidrido heptafluorobutírico<sup>10</sup>. A potência de cor das populações de melanoidinas foi determinada por análise de diluição de cor<sup>11</sup>.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método de fraccionamento desenvolvido neste trabalho permitiu obter seis populações de melanoidinas, Et50IM1, Et50IM2, Et75IM1, Et75IM2, Sn75IM1 e Sn75IM2 a partir das três infusões de café torrado com diferentes graus de torra (Tabela 1), propriedades físico-químicas (solubilidade em etanol e capacidade quelante de íões cobre), composição e natureza química em açúcares e material proteico. Estas fracções de melanoidinas contabilizaram 30-33% do HMWM solúvel em água fria para os diferentes graus de torra, tendo metade deste material apresentado capacidade quelante para os íões cobre imobilizados. A análise estrutural permitiu verificar que 16-20% das galactomananas solúveis em água fria, 30-42% das arabinogalactanas e 32-42% do material proteico se encontram associados a estas populações de melanoidinas.

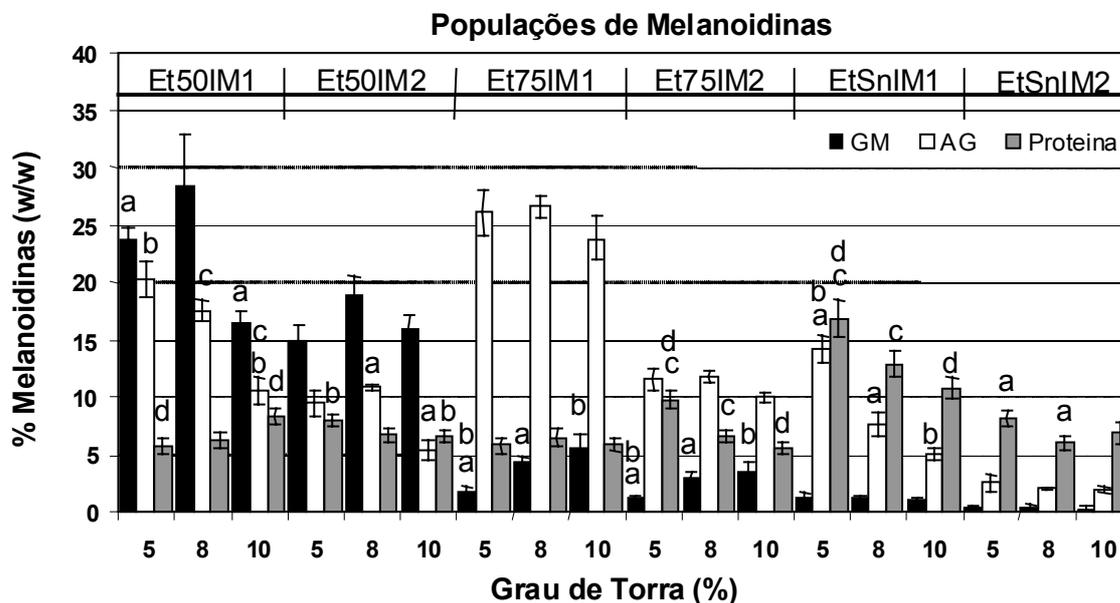
**Tabela 1** – Rendimento, composição em açúcares e aminoácidos das populações de melanoidinas obtidas por fraccionamento do HMWM das infusões de café torrado.

Fracção	Rendimento <sup>a</sup>	Açúcares <sup>b</sup>	Proteínas <sup>c</sup>
DR5			
Et50IM1	3,6	51,3 (3,7)	5,71 (0,41)
Et50IM2	3,3	27,6 (2,4)	8,03 (0,29)
Et75IM1	4,3	37,4 (2,3)	5,82 (0,47)
Et75IM2	2,7	14,8 (1,5)	9,75 (0,52)
Sn75IM1	4,9	20,3 (1,2)	16,8 (1,1)
Sn75IM1	6,1	3,87 (0,52)	8,15 (0,42)
DR8			
Et50IM1	3,1	49,8 (1,2)	6,23 (0,40)
Et50IM2	3,3	31,2 (1,7)	6,72 (0,37)
Et75IM1	5,1	34,2 (1,6)	6,48 (0,53)
Et75IM2	2,8	16,9 (1,0)	6,63 (0,36)
Sn75IM1	4,2	10,9 (1,3)	12,9 (0,72)
Sn75IM1	5,3	2,68 (0,33)	6,07 (0,36)
DR10			
Et50IM1	3,9	30,1 (2,0)	8,31 (0,41)
Et50IM2	5,3	22,6 (0,7)	6,65 (0,32)
Et75IM1	3,5	30,7 (0,8)	5,83 (0,40)
Et75IM2	3,9	14,0 (0,7)	5,76 (0,39)
Sn75IM1	5,4	8,17 (0,62)	10,7 (0,6)
Sn75IM1	2,7	3,77 (0,75)	6,97 (0,61)

<sup>a</sup> percentagem peso/peso relativamente ao HMWM; <sup>b</sup> percentagem de resíduo de açúcares nas fracções; <sup>c</sup> percentagem de resíduos de aminoácidos nas fracções. Os valores entre parêntesis são os respectivos desvios padrão (n=3).

A quantidade de açúcares recuperados nas populações Et50IM1, Et50IM2, Et75IM1, Et75IM2 e Sn75IM1 (Figura 1), que apresentaram características estruturais similares aos polissacarídeos isolados a partir das infusões<sup>4</sup> e paredes celulares<sup>12</sup> de café verde, permitem inferir que uma parte significativa das melanoidinas das infusões de café tem a sua origem nas paredes celulares dos grãos de café. Isto não exclui que outros componentes dos grãos de café também possam intervir na formação destas melanoidinas, já que durante a torra ocorre um colapso das células<sup>13</sup> ocorrendo provavelmente um contacto entre eles. As diferentes proporções de galactomananas (GM) e arabinogalactanas (AG) nas populações de melanoidinas recuperadas a partir das fracções Et50, Et75 e Sn75 podem representar

diferentes localizações dentro do próprio grão de café dada a heterogeneidade das suas paredes celulares<sup>14</sup>.



**Figura 1** – Conteúdo de açúcares tipo galactomanana (GM), arabinogalactanas (AG) e proteína das populações de melanoidinas purificadas a partir do HMWM das infusões de café torrado com diferentes graus de torra. As mesmas letras em cada fração de melanoidina representam diferenças significativas ( $p=0,05$ )

## REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> Ledl F., Scheicher E. *Angew. Chem. - Int. Ed. English*, **1990**, *29*, 565-594.
- <sup>2</sup> Borrelli, R. C.; Visconti, A.; Mennella, C.; Anese, M.; Fogliano, V. *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*, 6527-6533.
- <sup>3</sup> Somoza V. *Mol. Nutr. Food Res.* **2005**, *49*, 663-672.
- <sup>4</sup> Nunes, F. M.; Coimbra, M. A. *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, *49*, 1773-1782.
- <sup>5</sup> Nunes, F. M.; Coimbra M. A. *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*, 1429-1434.
- <sup>6</sup> Blumenkrantz, N.; Asboe-Hansen, G. *Anal. Biochem.* **1973**, *54*, 484-489
- <sup>7</sup> MacKenzie, S. L. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **1987**, *70*, 151-160
- <sup>8</sup> Batistic, L. O.; Mayaudon, J. *Plant Soil*, **1970**, *33*, 473-477.
- <sup>9</sup> Soleas, G. J.; Diamandis, E. P.; Karumanchiri, A.; Goldberg, D. M. *Anal. Chem.*, **1997**, *69*, 4405-4409.
- <sup>10</sup> Knecht, K. J.; Dunn, J. A.; McFarland, K. F.; McCance, D. R.; Lyons, T. J.; Thorpe, S. R.; Baynes, J. W. *Diabetes*, **1991**, *40*, 190-196.
- <sup>11</sup> Hofmann, T. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 3912-3917
- <sup>12</sup> Fischer, M.; Reimann, S.; Trovato, V.; Redgwell, R. J. *Carbohydr. Res.*, **2001**, *330*, 93-101.
- <sup>13</sup> Illy A., Viani R. *Espresso Coffee. The chemistry of Quality*; Academic Press: London, 1995, Chapter 5
- <sup>14</sup> Sutherland, P. W.; Hallett, I. C.; MacRae, E.; Fischer, M.; Redgwell, R. J. *Protoplasma*, **2004**, *223*, 203-211.