

DETERMINAÇÃO DO PERFIL DAS AMINAS BIOGÊNICAS NO PROCESSAMENTO DO CAFÉ IMATURO

Eduardo Carvalho Dias, Rosemary G. A. F. Pereira, Flávio Meira Borém, Susana Casal, José Oliveira Fernandes - UFLA

A qualidade final do café é determinada de acordo com uma grande variedade de critérios, incluindo os métodos utilizados na pós-colheita, que colaboram na formação das substâncias presentes nos grãos após a torração. As aminas estão presentes nas plantas em consequência do seu desenvolvimento normal e são necessárias para a realização de várias funções fisiológicas. Atuam no organismo humano como vasoativas e neuroativas, devido ao seu efeito nos sistemas vascular e neural. A ingestão de alimentos contendo altas quantidades de aminas pode causar efeitos tóxicos e reações alérgicas. A importância na determinação nos níveis das aminas é em função de serem substâncias tóxicas, e a sua toxicidade depende da resposta individual e na presença simultânea de outras aminas no consumo dos alimentos. A presença do defeito verde nos lotes de café está associada ao processo de colheita no Brasil, e durante o processo de secagem pode ocorrer a fermentação destes grãos, comprometendo a qualidade do café. A partir do descascamento do café imaturo ocorreu uma diminuição dos processos fermentativos através da realização de uma secagem mais uniforme, reduzindo a porcentagem de defeitos, contribuindo para a melhoria da qualidade. O objetivo desse trabalho foi verificar composição das aminas nos grãos imaturos a partir dos diferentes procedimentos realizados no processamento do café. Foram determinadas as aminas, putrescina, espermina, espermidina, cadaverina, histamina, serotonina e tiramina. O conhecimento das aminas nos grãos de café é relevante por estabelecer diferenças na composição dos grãos normais, na qualidade e segurança no consumo do café torrado.

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Lavras (Lavras/MG), e no Setor de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (Portugal). Os frutos do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) da cultivar Topázio, (safra 2006/2007) foram colhidos no campus da Universidade Federal de Lavras. Após a limpeza e separação hidráulica, o lote de café obtido da mistura de cereja e verdes, foi realizado o descascamento dos frutos maduros com a pressão do descascador regulada de maneira a permitir, a obtenção de no máximo 10% de frutos cerejas na porção de frutos verdes. A porção de 90% de frutos verdes e 10% de frutos maduros foi dividida em 3 parcelas, constituindo a matéria prima deste trabalho. A primeira parcela foi usada como controle. Outra parte desta mistura foi descascada com pressão regulada, resultando em uma parcela natural e outra de café descascado. A terceira parte da mistura foi colocada em duas caixas durante 12 horas. Uma das caixas foi preenchida com água. Após o período de repouso os frutos foram descascados com pressão regulada originando o café verde descascado e o natural em repouso na água, e descascado e natural em repouso sem água (Nobre, 2009). A secagem do café imaturo natural foi realizada em terreiros ao sol em camadas finas intercaladas com pequenas leiras de no máximo 2 cm com revolvimento de até 12 vezes por dia. Ao atingir a meia-seca, a secagem foi conduzida em leiras de 15 cm, revolvidas pelo menos 10 vezes ao dia, até atingir 11% do teor de água. O café verde descascado foi seco em terreiro em camadas de 2 cm com revolvimento de 16 vezes por dia.

As amostras foram processadas em moinho refrigerado Tecnal modelo analítico TE 631 /2 Brasil, por um período de 2 minutos em uma granulometria fina. Na segunda moagem foi utilizado um moinho de bolas, utilizando nitrogênio líquido por 1 minuto e em seguida as amostras foram congeladas. As amostras foram liofilizadas e passadas em uma peneira de 0,75 mm, pesadas e preparadas para a análise. Na extração das aminas, utilizou-se o ácido tricloroacético a 5% (TCA), e o bis-2-etilhexilfosfato (BEHPA 0,1M em clorofórmio). Foram realizadas três extrações com 5% TCA em um tubo plástico, com um total de 25 mL, seguida de agitação de cada fração por 10 minutos. Após a separação por meio de centrifugação a 4000 rpm, os extratos foram filtrados. Uma porção de 2 mL foi submetida a uma extração por par-iônico, como procedimento de limpeza. A solução foi extraída com 2 mL de solução de BEHPA no vortex, centrifugada a 4000 rpm e a fase inferior levada para um segundo tubo. A extração foi feita com 2 mL de HC1 0,1 M, com agitador mecânico.

No HPLC foram utilizados o ácido fosfórico, acetonitrila e metanol, e água purificada com um sistema "Seral " (SeralPur Pro 90 NC), e as soluções foram filtradas e degaseificadas. A eluição foi realizada com um gradiente linear de A - 0,05 M de ácido fosfórico e B - metanol/acetonitrila (1:1) em 1 mL min⁻¹ em um programa de eluição por gradiente desenvolvido por Hornero-Mendez e Garrido-Fernandez (1994). A detecção foi realizada pelos detectores Diode Array Detector (DAD), no comprimento de onda de 254 nm, e no detector fluorimétrico programado para 252 nm e emissão de 500 nm. Os compostos em estudo foram identificados por comparação cromatográfica com derivado padrão e por co-eluição. Os testes de pureza dos picos foram realizados com o Diode Array Detector (DAD).

Nos grãos do café imaturo, foi verificado um maior conteúdo de putrescina, apresentando em média de (76%), seguida pela espermidina (9,6%), espermina (8,9%) e serotonina (2,2%), no perfil das aminas analisadas. Não foi verificada diferenças nos níveis de putrescina e serotonina no processamento dos grãos do café imaturo. A espermina e espermidina apresentaram variações significativas em relação ao processamento via seca e via úmida dos frutos do café imaturo. A diminuição nos níveis da espermina e espermidina pode ser devida ao processo de descascamento dos frutos imaturos. Nos grãos imaturos analisados foram encontrados níveis médios de 6,8 mg kg⁻¹ de espermina e de 7,3 mg kg⁻¹ de espermidina nos diferentes processamentos realizados.

As aminas espermina e espermidina apresentaram-se em níveis mais elevados no café natural, podendo ser devido ao maior tempo de processamento deste tipo de café, sendo que a formação das aminas depende da ação de enzimas descarboxilantes, e a temperatura interfere de forma significativa no processo e nas condições de secagem dos frutos. As alterações químicas, bioquímicas e fisiológicas que ocorrem no processamento do café imaturo descascado e natural, em razão da presença ou ausência da casca dos frutos determinaram que após dois dias do processamento via úmida, ocorre um processo de divisão celular acelerado, enquanto que no processamento via seca, acontece somente cerca de uma semana após o início da secagem. Junto com a germinação, outros processos relacionados ao metabolismo, decorrentes do estresse da secagem acontecem de forma paralela (Selmar & Bytof, 2007). Estes processos não ocorrem de forma simultânea, mais contribuem para determinar as diferenças nos níveis das aminas na constituição dos frutos imaturos.

Os níveis toxicológicos das aminas não são facilmente estabelecidos, pois dependem das características individuais de cada amina, bem como sobre as interações entre as aminas com o alimento. A dose tóxica da tiramina é de 1 a 8 mg kg⁻¹ de alimento. Foram detectadas quantidades de 0,20 mg kg⁻¹ de tiramina por Casal et al. (2004), e os níveis encontrados neste trabalho foram em torno de 0,38 mg kg⁻¹ no café imaturo, portanto não correspondendo riscos no consumo do café. Os efeitos toxicológicos da histamina dependem da concentração ingerida, atividade da aminoxidase e fisiologia intestinal individual. Foi sugerido um limite para histamina de 1,0 mg kg⁻¹ de alimento em geral e de 2 mgL⁻¹ de bebida alcoólica (Halász et al., 1994). Os níveis de histamina encontrados no café não representam uma preocupação em termos de intoxicação. No entanto, o nível mais elevado detectado em um estudo foi no grão de café fermentado correspondendo aproximadamente 10% do limite sugerido para toxicidade da histamina (Halász et al., 1994 & Santos, 1996). A intoxicação alimentar mais freqüente é causada por histamina, onde os sintomas podem ser cutâneos, gastrointestinais, hemodinâmicos e neurológicos (Glória, 2003). A histamina apresentou um aumento significativo quando realizado o procedimento repouso dos grãos amontoados no processamento do café imaturo natural.

As variações ocasionadas no repouso sem água podem ter sido ocasionadas por vários fatores que podem influenciar a formação das aminas, como a alteração do pH do meio, a temperatura, a tensão de oxigênio, a presença de coenzimas e vitaminas, a concentração dos aminoácidos livres e de carboidratos fermentáveis (Vale & Glória, 1997). Os microorganismos com atividade descarboxilante sobre os aminoácidos podem fazer parte da microbiota associada ao produto, ou ainda por contaminação antes, durante ou depois do processamento (Brandão, 1996). As condições favoráveis para o crescimento bacteriano, síntese e a ação das enzimas descarboxilantes, dependem de forma significativa da temperatura no processo de formação das aminas (Shalaby, 1996). Alguns estudos demonstraram que a temperatura é um fator crítico na formação de histamina (Guizani et al., 2005; Ruiz-Capillas; Moral, 2001 & Silveira et al., 2001). Em temperaturas inferiores a 30 °C as descarboxilases são mais ativas, a 40 °C são inativadas e na faixa de 0 a 10 °C a atividade dependerá da microbiota presente. Foi verificado que a produção de histamina é mais lenta a 10°C e praticamente cessa a 5°C (Halász et al., 1994). Portanto, os frutos imaturos quando amontoados favoreceram o aumento da temperatura permitindo a ação dos microorganismos na formação desta amina, sendo que o período de processamento e secagem do café natural é maior que no descascado, devido principalmente a presença da casca dos frutos, contribuindo para que ocorram maiores alterações na formação de determinados compostos.

A concentração média de histamina, em torno de 0,64 mg kg⁻¹ no café imaturo analisado, encontra-se abaixo do limite estabelecido para alimentos em geral, conforme relatado por Halász et al. (1994). Os níveis da cadaverina e histamina foram alterados após a realização do processamento via seca e via úmida com o repouso dos grãos. Quando comparado os processos, a histamina apresentou quantidades superiores nos grãos do café imaturo natural em relação ao café imaturo descascado. A cadaverina apresentou teores médios de 0,49 mg kg⁻¹ nos grãos do café imaturo analisado no presente trabalho, sendo que Vasconcelos et al. (2007) não detectou esta amina nos grãos imaturos, e os níveis encontrados foram superiores quando comparados com a quantidade de 0,20 mg kg⁻¹ nos grãos de café arábica analisados por Casal et al. (2004). Os níveis da cadaverina foram menores na realização do procedimento sem repouso no café imaturo descascado. Quando os grãos de café permaneceram em repouso, os teores foram superiores no café descascado em comparação com o natural. O procedimento repouso dos grãos interferiu na formação da cadaverina indicando que após o período de 12 horas do descascamento do café imaturo, a ausência da casca dos frutos influenciou ou até mesmo acelerou a formação desta amina. Esta alteração pode ser devido ao início de um processo de degeneração dos grãos decorrente do estresse gerado pelo amontoamento com água e sem água através dos diversos processos relacionados ao metabolismo dos frutos. Estes processos não ocorrem de forma simultânea, mais acontecem de forma paralela com a germinação e a secagem dos grãos de café (Selmar & Bytof, 2007), contribuindo para que ocorram as diferenças nos níveis das aminas durante o processamento do café imaturo.

Concluiu-se que

A concentração das amins espermina, espermidina, histamina e cadaverina foram alteradas em função dos diferentes procedimentos realizados no processamento dos grãos do café imaturo. Os níveis da histamina apresentaram superiores nos grãos do café quando processado pelo método natural utilizando o repouso sem água. Os níveis da amina cadaverina foram menores no procedimento sem repouso do café descascado. No café natural apresentou menores níveis em comparação com o descascado na realização dos procedimentos repouso sem água e com água. As amins espermina e espermidina apresentaram-se em menores quantidades nos grãos do café imaturo quando descascado.