

## EFICIÊNCIA DE EXTRATO METABÓLICO FÚNGICO NA ACELERAÇÃO DA DESMUCILAGEM DO CAFÉ

S. M. Chalfoun, Dra. Pesq. EPAMIG Sul; C. L. Angélico, Dra. bolsista CNPq/INCT do Café/UFLA; M.L.V. de Resende, PhD. Professor Titular UFLA Coordenador INCT do Café/UFLA; S.B. Oliveira, MSc. bolsista CNPq/INCT do Café/UFLA; F.C. Costa, MSc. Fitotecnia; N.A Lira, MSc., doutoranda Microbiologia Agrícola.

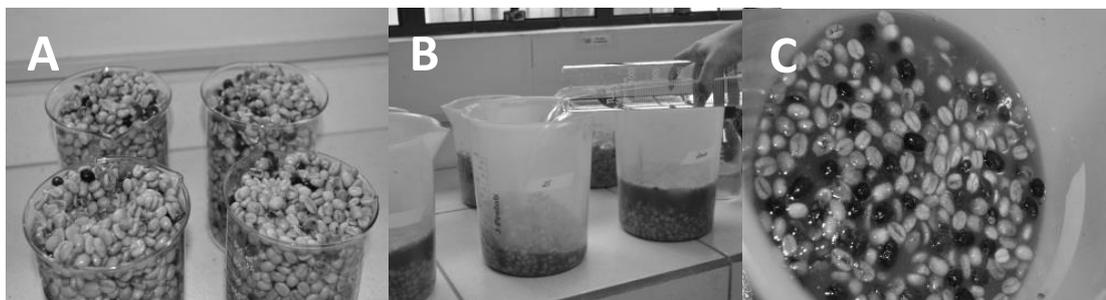
As pectinases são um grande grupo de enzimas que conseguem quebrar os polissacarídeos pécnicos dos tecidos das plantas em moléculas simples como os ácidos galacturônicos. Uma vez que é um grupo de macromoléculas muito complexas, são necessárias várias enzimas pectinolíticas para degradá-las completamente (PEDROLI et al., 2009). São polissacarídeos ácidos classificados em três classes principais com base em seu sítio de clivagem: 1) pectina metilase (PME) / pectina esterase (PE); 2) hidrolases consistindo em poligalacturonase (PG) e 3) liase / trans-eliminases compreendendo pectinaliase (PNL) e pectato liase (PL) (SHARMA et al., 2013). As enzimas pectinolíticas utilizadas na indústria de alimentos são produzidas, em sua maioria, pelo fungo *Aspergillus niger* não toxigênico, espécie fúngica capaz de produzir várias pectinases, incluindo (PME), (PG) e (PL) sendo de grande importância, pois são classificadas como GRAS (Generally Recognized as Safe), permitindo assim a sua aceitabilidade na indústria de processamento de alimentos. Com relação ao café, no Brasil, é crescente a adoção do método de processamento dos frutos por descascamento, onde, a mucilagem permanece aderida ao pergaminho após o descascamento. Esse crescimento tem se verificado, não apenas como necessidade nas regiões impróprias para o processamento por via seca, mas como medida para potencializar a obtenção de cafés de melhor qualidade, mesmo nas regiões consideradas adequadas para a produção de cafés naturais, além disso, promove a diminuição da área necessária no terreiro de secagem em até 60% e redução no tempo de secagem por apresentar um teor de umidade mais baixo cerca de 50% (MALTA, 2011). Porém, durante o descascamento, a presença da mucilagem aderida aos grãos dificulta a movimentação e o revolvimento e por possuir elevado teor de água e de açúcares representa riscos à ocorrência de fermentações (BORÉM, 2008). Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo avaliar a atuação de um extrato enzimático de origem microbiológica sobre a aceleração da desmucilagem do café.

Os ensaios foram desenvolvidos no Laboratório de Biotecnologia pertencente à empresa Tbio Soluções Biotecnológicas. Foi utilizado o isolado fúngico *Aspergillus niger* TBio 00118, obtido da Coleção de Microrganismos da Empresa Tbio Soluções Biotecnológicas, com boa produção de pectinases e sem potencial toxigênico. Para a avaliação do efeito do metabólito fúngico sobre a desmucilagem do café foi preparado o meio de cultura líquido enriquecido com solução de vitaminas, contendo 12,5g de pectina como indutor (BASTOS, 2012) contendo o micélio do fungo (1% p/v). A solução ficou sob agitação em um biorreator com rotação de 135rpm em temperatura ambiente com injeção de oxigênio por 3 dias consecutivos. Passado o período a solução foi submetida ao sistema de ultrafiltração e posterior centrifugação a 7.840xg durante 10min. à 5 °C sendo o sobrenadante utilizado como fonte de enzimas (extrato enzimático). A quantificação das frações enzimáticas seguiu as seguintes metodologias: PME (Schwan e Rose, 1994); PL (Kashyap et al., 2000); Exo-PG (Schwan e Rose 1994); Endo-PG (Barnby, Morpeth e Pyle, 1990) e PG (Pressey e Avants 1973). Foram realizadas ainda análises para a determinação do teor de proteínas (Bradford, 1976) e atividade enzimática especificadas frações enzimáticas (Carvalho, 2007). O extrato enzimático fúngico foi utilizado sobre a mucilagem de grãos de café da cultivar Catuaí previamente descascados com o auxílio de um descascador mecânico, obtidos da Fazenda Bom Jardim, localizada no município de Santo Antônio do Amparo-MG. Cada amostra continha 1Kg de grãos descascados e foram dispostas em béqueres de 4 litros, sendo os tratamentos constituídos pelas concentrações do extrato enzimático fúngico diluído em água (0%; 2%; 12,5% e 50%) e enzima comercial. Os grãos ficaram submersos na solução por um período de 3h, simulando o tanque de fermentação (Figura 1). O efeito do extrato enzimático sobre a desmucilagem do café foi avaliado pelo método prático de atrito dos grãos entre as mãos. Os valores das atividades enzimáticas quantificadas nas diferentes frações do extrato metabólico fúngico estão inseridas na Tabela 1 abaixo.

**Tabela 1** Quantificação das diferentes pectinases no extrato enzimático fúngico produzido por *Aspergillus niger* Tbio 00118

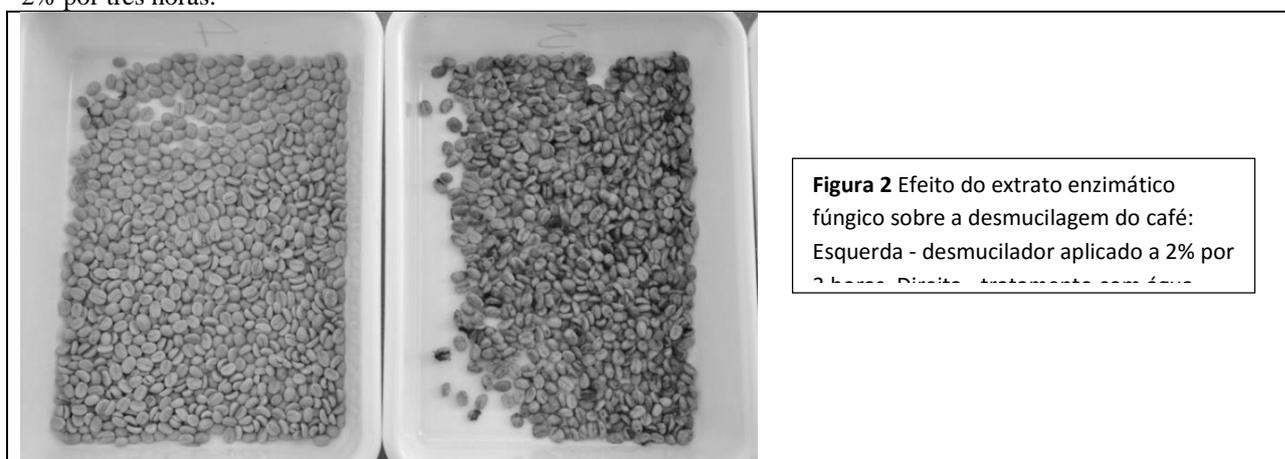
Solução	Atividade enzimática U/mg				
	PME	ENDO PG	PL	EXO PG	PG
Extrato fúngico	Sem atividade	20.303	15.000	7,43	71.500
Enzima comercial	Sem atividade	4.772,4	3.148	568,1	697.593

Não foi encontrada atividade para as enzimas PME e EXO PG nas condições do presente estudo. No entanto, evidencia-se a atividade da enzima PL que é a única enzima capaz de hidrolisar, sem ação prévia de outras enzimas, pectinas altamente esterificadas, como a pectina das frutas (JIA & WHEALS, 2000) sendo superior ao produto comercial. Todas as concentrações do extrato enzimático fúngico testadas apresentaram resultados satisfatórios após 3h de imersão dos grãos no produto, por isso, a utilização da menor concentração (2%) seria a indicada. Na Figura 1 estão demonstrados os passos do teste realizado no Laboratório.



**Figura 1** Teste para verificação da eficiência do extrato enzimático fúngico na remoção da mucilagem de grãos de café. (A) amostras antes do tratamento; (B) adição do extrato enzimático fúngico em diferentes concentrações; (C) grãos submersos no extrato.

Os resultados obtidos concordam com a afirmativa de Nogueira, Roberto e Sampaio, 2014, de que o despolpamento natural ocorre quando a fermentação espontânea se processa na massa do café provocada por microrganismos já existentes, os quais encontram meio favorável para o seu desenvolvimento. Este tipo de fermentação é de longa duração, de 18 a 36 horas ou mais, sendo influenciada, principalmente pela temperatura ambiente, por isso recomenda-se, a aceleração desse fenômeno, com a adição de leveduras ou preparados enzimáticos, tendo-se, neste caso, a remoção artificial e controlada. Com isto, pode-se diminuir o tempo de fermentação para até 3 horas. A aplicação do extrato enzimático, além de proporcionar o desmucilamento dos grãos de café (Figura 2), promoveu a aceleração desse processo, pois o produto apresentou ação satisfatória com a imersão dos grãos por apenas três horas. Ressalta-se ainda, que o extrato enzimático fúngico promoveu a reutilização da solução de imersão por três vezes sendo igualmente eficiente na remoção da mucilagem, proporcionando melhoria da água residual sendo capaz de eliminar o odor sendo constatado por meio de testes preliminares. Diante dos resultados conclui-se que o produto mostrou-se eficiente na desmucilagem do café quando aplicado na concentração mínima de 2% por três horas.



**Figura 2** Efeito do extrato enzimático fúngico sobre a desmucilagem do café: Esquerda - desmucilador aplicado a 2% por 3 horas. Direita - tratamento com 4%