

EFEITO DOS NÍVEIS DE TORRA NA COR E NO RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO DE DNA DE CAFÉS¹

Alexandra Mara Goulart Nunes Mamede²; Miguel da Silva Gomes Pereira³; Thiago Ferreira dos Santos⁴; Tatiane Corrêa de Oliveira⁵; Ivanilda Santos de Lima²; Ana Carolina Ferreira de Moraes³; Andressa Moreira de Souza⁶; Otniel Freitas-Silva⁷; Edna Maria Moraes Oliveira⁷

¹Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café

²Bolsista Consórcio Pesquisa Café, DSc, alexandramaram@gmail.com

³Acadêmico Agronomia UFRRJ, Bolsista IC CNPq, Seropédica, RJ, miguelsgp@gmail.com /Acadêmico Ciências Biológicas UEZO, Bolsista IC CNPq, Rio de Janeiro, RJ, Anakarolina_rj@hotmail.com

⁴Doutorando do PPGN/UFRJ, Rio de Janeiro-RJ, thfsctaa@gmail.com

⁵Técnica, BSc, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro-RJ, tatiane.correa@embrapa.br

⁶Analista, MSc, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro-RJ, andressa.moreira@embrapa.br

⁷Pesquisador, PhD, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro-RJ, otniel.freitas@embrapa.br, edna.oliveira@embrapa.br;

RESUMO: O objetivo desse trabalho foi estudar o rendimento da extração de DNA em cafés arábica e robusta submetidos a diferentes níveis de torra (clara, média, alta e italiana). O estudo foi conduzido no Laboratório de Diagnóstico Molecular e Micologia da Embrapa Agroindústria de Alimentos. Os cafés *Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo e *C. canephora* (robusta) da Safra de 2014, foram oriundos de Machado – MG e Castelo – ES, respectivamente. Os grãos verde, de ambas as espécies, foram submetidos a diferentes níveis de torra. O DNA de café verde (arábica e robusta) e dos cafés torrados foram extraídos pelo método adaptado com a partir da junção do protocolo CTAB e do kit comercial DNeasy[®] e a quantificados através de método fluorimétrico, onde o café robusta apresentou maior concentração de DNA que o arábica. Também foi realizada a análise de cor instrumental, onde avaliou-se os parâmetros L*, C* e h°, observou-se que quanto maiores são os níveis de torra menores são os valores de cor, como esperado quanto maior o nível de torra maior o valor L*, que representa quão calor ou escura é a amostra, além disso, quanto maior o nível de torra, menor o rendimento da extração de DNA.

PALAVRAS-CHAVE: café verde, café torrado, cor instrumental, método molecular

THE EFFECT OF DIFFERENT LEVELS OF ROASTING IN COLOR AND DNA YIELD IN COFFEE SAMPLES

ABSTRACT:The objective of this work was to study the efficiency of DNA extraction in arabica and robusta coffees submitted to different levels of roasting (light, medium, high and Italian). The study was conducted at the Molecular Diagnostics and Mycology Laboratory / Embrapa Food Technology. The *Coffea arabica* L. cv. Novo Mundo and *C. canephora* (robusta) from the 2014 season were collected in Machado - MG and Castelo – ES, respectively. The green coffee beans from both species were subjected to different levels of roasting. The DNA of green coffee (arabica and robusta) and roasted ones were extracted and quantified by using fluorimetric method. The green robusta coffee showed increased DNA concentration than arabica. Also instrumental color analysis was performed and assessed the parameters L*, C* and h°, where the higher levels of roasting the smallest color values were observed. As expected, the higher the roasting level, higher L * value. In this way with higher degree of roast, lower efficiency of DNA extraction was obtained.

KEYWORDS: green coffee, roasting coffee, instrumental color, molecular method

INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas em todo mundo (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009). Existem quase cem espécies de café no mundo, mas entre elas duas se destacam como as mais comercializadas, *Coffea arabica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café robusta). Estas possuem características físico-químicas bem diferenciadas, que produzem bebidas com características sensoriais bastante distintas (Clarke e Macrae, 1985). O café arábica é conhecido pela excelente qualidade da bebida, porém possui maior suscetibilidade a doenças e pragas. Em contraste, o café robusta, embora com qualidade sensorial inferior, tem melhor capacidade de adaptação aos estresses do campo (Hendre & Aggarwal, 2014). Pela melhor qualidade sensorial, a espécie *Coffea arabica* possui valor comercial mais elevado, sendo o preferido pelos consumidores (Monakhova et al., 2015).

Após a colheita e beneficiamento dos grãos de café verde, ocorre o processo de torrefação, que é responsável pelo desenvolvimento do aroma e o *flavor* do café, além das demais características químicas intrínsecas da bebida do café tão apreciadas no mundo todo.

A torrefação é um processo extremamente complexo, no qual o café pode ser exposto a temperaturas de até 340 °C. A combinação entre o tempo e a temperatura escolhidos será determinante para a obtenção de graus de torrefação variando entre o muito claro e o muito escuro (com diversas subdivisões intermediárias) (Clarke, 2003).

Durante este processo, uma série de modificações físicas, físico-químicas e químicas ocorre, entre elas a modificação da cor dos grãos, que possui cor amarelo-claro ou esverdeado quando cru, tornando-se cada vez mais amarronzado com o aumento da temperatura, devido a formação de pigmentos caracterizados como melanoidinas (Trugo, 2004).

Além dessas modificações, a torrefação afeta a integridade do DNA e dos grãos de café, onde quanto maior o nível de torra, mais degradado esse DNA se apresenta. Análises envolvendo detecção de DNA são muito úteis para análise da autenticidade de alimentos, onde uma das principais técnicas utilizadas é a reação em cadeia da polimerase (PCR) e, por sua vez, está totalmente ligada a etapa de extração de DNA, uma vez que depende da integridade do DNA extraído (Spaniolas et al., 2008).

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria Prima

Foram utilizados grãos de café cru (café verde), descascados e secos de duas espécies de café: *Coffea arabica* cv. Mundo proveniente de Machado – MG e *Coffea canephora* adquirido em Castelo – ES.

Torrefação

Alíquotas de 250 g de ambas as amostras de café foram torradas em um torrador doméstico (*Gene Café*, modelo CBF-101, Kyungki-Do, Korea).

Os grãos verde de ambas as espécies foram submetidos a diferentes níveis de torra variando entre torra clara e torra italiana (torra muito escura) que foram:

- Torras clara: 12 minutos à 230°C;
- Torra média: 14 minutos à 240°C;
- Torra escura: 15 minutos à 245°C
- Torra italiana (muito escura): 23 minutos à 250°C.

Após a torrefação os grãos torrados e as amostras verdes de ambas as espécies foram moídas na moagem fina em moedor automático Supreme Grind (Cuisinart). As amostras moídas seguiram então para as análises.

Extração e Quantificação de DNA

Alíquotas de 150 mg de café verde e torrado, de ambas as espécies, foram submetidas ao processo de extração de DNA através do método adaptado por Ferreira *et al.* (dados não publicados) a partir da junção do protocolo CTAB e do kit comercial DNeasy®, onde utilizou-se as etapas de lise celular do primeiro, e as etapas de purificação do segundo. Os extratos foram quantificados através de método fluorimétrico no equipamento Qubit® Fluorometer (Invitrogen, Oregon, EUA).

Cor instrumental (L, C*, h*)

A análise instrumental de cor dos cafés moídos de ambos os graus de torra e do café verde foi realizada por transmitância no aparelho Color Quest XE, escala CIELCh, com abertura de 0,375mm de diâmetro, com iluminante D65/10.

Os parâmetros de cor avaliados foram: coordenada L representa o quão clara ou escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca); coordenada a* (componente vermelho/verde) e a coordenada b* (componente amarelo/azul). A partir dos valores de a* e b*, foram calculados o croma (C*) (pureza da cor ou saturação) e o ângulo hue (h*) [indica a variação de cor no plano formado pelas coordenadas a* e b* variando entre o vermelho (0 °), amarelo (90 °) e verde (180 °)], através das fórmulas:

- $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$
- $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$

Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Statistica, versão 8.0 da StatSoft Inc (EUA, 2007). Após a análise de variância, as médias, quando significativas ($p < 0,05$), foram comparadas utilizando-se teste de Tuckey a 95% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de DNA foi influenciada pelos os níveis de torra ($p < 0,001$) e pela interação espécie*torra ($p < 0,001$), não havendo diferença entre as espécies ($p = 0,08$).

Pode-se observar na Figura 1, que quanto maior o nível de torra, menor o rendimento da extração de DNA, com maior valor para o café verde e menor para a torra tipo italiana (Figura 1). Spaniolas et al. (2008) e Martellosi et al. (2005) avaliaram a extração de DNA em café verde e café torrado comercial e também obtiveram maior concentração de DNA para café verde.

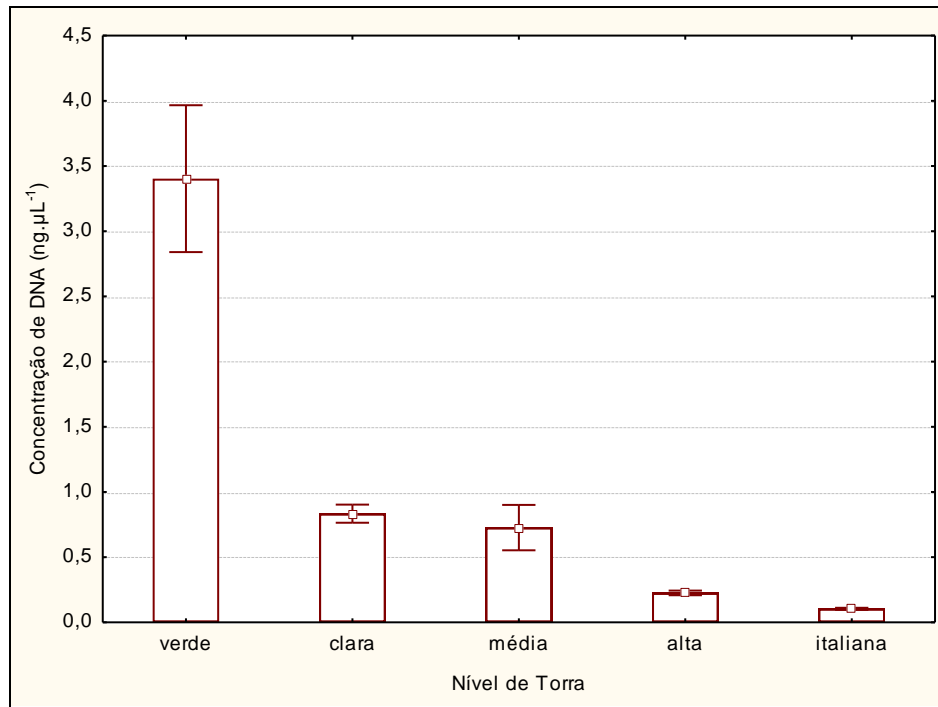


Figura 1. Média da concentração de DNA (ng. µL⁻¹) de cafés arábica e robusta em 5 níveis de torra.

Com exceção do café verde não houve diferença entre as espécies em relação à concentração de DNA obtido (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração de DNA (ng. µL⁻¹) de cafés arábica e robusta em 5 níveis de torra

Espécie	Concentração de DNA [ng/µL]				
	verde	clara	média	alta	italiana
Arábica	2,29 ^{Ab}	0,97 ^{BCa}	1,11 ^{Ba}	0,26 ^{BCa}	0,11 ^{Ca}
Robusta	4,52 ^{Aa}	0,70 ^{Ba}	0,34 ^{Ba}	0,19 ^{Ba}	0,09 ^{Ba}

Médias em triplicatas. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si a 95% de probabilidade, pelo teste de Tuckey.

Em relação à análise instrumental de cor, todos os parâmetros, foram influenciados positivamente pela espécie, pelos níveis de torra e pela interação das duas variáveis ($p < 0,001$).

Pode-se observar na Figura 2 e na Tabela 2 para ambas as espécies arábica e robusta, que quanto maior o valor L*, menor o nível de torra. Esse decréscimo no valor obtido aumenta com o tempo e a temperatura de torra, e é em função do escurecimento dos grãos devido à caramelização dos açúcares e as reações de Maillard (Borges et al., 2002). Resultado semelhante foi observado por Bicho et al. (2012) e Oliveira et al. (2004), onde avaliaram 3 níveis de torra, com queda no valor L* para as torras mais escuras.

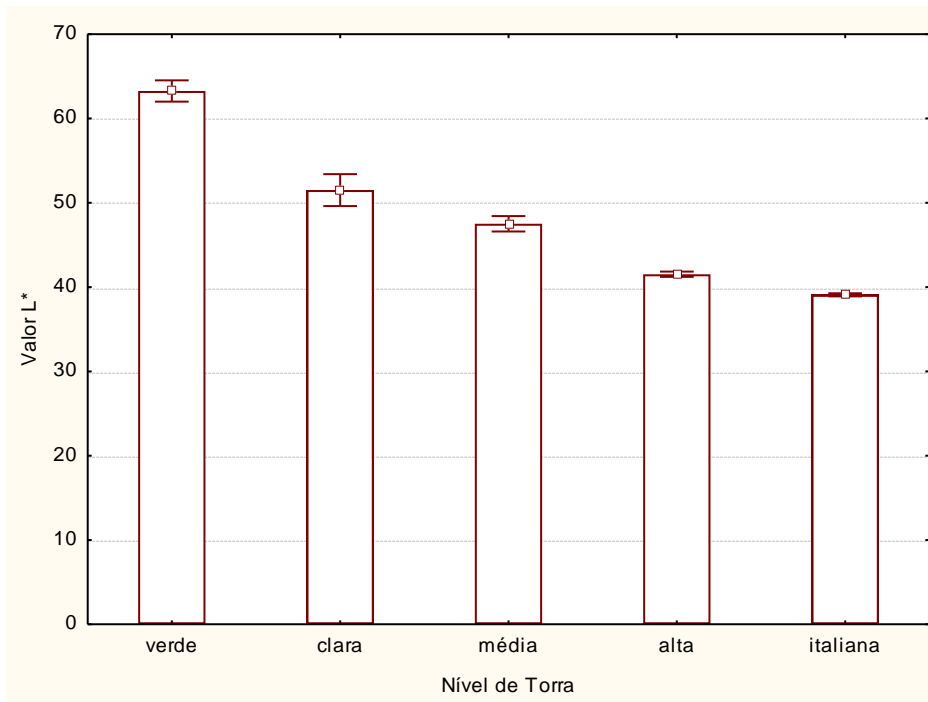


Figura 1. Média do valor L* de cafés arábica e robusta em 5 níveis de torra.

O parâmetro C* também apresentou decréscimo conforme houve aumento na intensidade da torra (Tabela 2). Seguindo o mesmo comportamento foi relatado por Bicho et al. (2012)

O ângulo hue (h°), que é um parâmetro da tonalidade da cor, diminuiu com o aumento da intensidade de torra, com exceção da torra italiana para o café arábica, que apresentou maior ângulo. O h° é resultante das coordenadas polares, a torra italiana obtida e analisada do café arábica também está localizada na região do marrom. Assim com o aumento do nível de torra os grãos atingem uma tonalidade de marrom mais intensa (Tabela 2).

Em relação à diferença entre as espécies, todos os parâmetros de cor instrumental apresentaram-se semelhantes, com maiores valores para o café verde de L*, C* e h° para o café arábica. Na torra italiana, não houve diferença entre L* e C*. Nos demais níveis de torra o café Robusta apresentou-se numericamente superior, o que indica que esta espécie é visualmente mais clara, para as torras clara, média e alta, em comparação ao café arábica, pois quanto maior o valor L* mais clara é a amostra.

Tabela 2. Cor instrumental (L*, C* e h°) de cafés arábica e robusta em 5 níveis de torra

Torra	L*		C*		h°	
	Arábica	Robusta	Arábica	Robusta	Arábica	Robusta
verde	66,53Aa	60,00Ab	18,88Aa	16,53Bb	79,58Ba	71,30Ab
clara	46,52Bb	56,49Ba	12,40Bb	20,84Aa	52,30Cb	65,92Ba
média	45,10Cb	49,93Ca	10,56Cb	14,87Ca	49,97Cb	59,12Ca
alta	40,71Db	42,34Da	4,08Db	5,74Da	33,43Db	44,53Da
italiana	38,61Ea	39,56Ea	0,86Ea	1,26Ea	296,94Aa	8,89Eb

Médias de quadruplicatas. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si a 95% de probabilidade, pelo teste de Tuckey

CONCLUSÕES

A torrefação influenciou diretamente na extração e quantificação do DNA e nos parâmetros de cor instrumental, sendo possível a quantificação de DNA em todos os níveis de torra dos cafés arábica e robusta.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES e ao CNPq (N. 477265/2012-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. (2009). **Food Chemistry** (4^o ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- BICHO, N. C.; LEITAO, A. E.; RAMALHO, J. C.; LIDON, F. C. Use of colour parameters for roasted coffee assessment. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 3, p. 436-442, jul.-set. 2012.
- CLARKE, R. J. Coffee: Roast and Ground. In: **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**, 1a ed.; Caballero, B., Trugo, L. C., Finglas, P. M., Editores.; Academic Press: Oxford, Reino Unido, 2003; vol. 3.
- MARTELLOSI, C.; TAYLOR, E. J.; LEE, D.; GRAZIOSI, G.; DONINI, P. DNA Extraction and Analysis from Processed Coffee Beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53 (22), p. 8432-8436, 2005.
- MONAKHOVA, Y. B.; RUGEA, W.; KUBALLAA, T.; ILSEA, M.; WINKELMANNE, O.; DIEHLD, B.; THOMAS, F.; LACHENMEIER, D. W. Rapid approach to identify the presence of Arabica and Robusta species in coffee using ¹H NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 182, p. 178-184, 2015.
- OLIVEIRA, G. H., CORRÊA, P. C., SANTOS, F. L., VASCONCELOS, W. L., JÚNIOR, C. C., BAPTESTINI, F. M., & VARGAS-ELÍAS, G. A. Caracterização física de café após torrefação e moagem. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 1813-1828, jul./ago. de 2014.
- SPANIOLAS, S.; TSACHAKI, M.; BENNETT, M.J.; TUCKER, G.A. Evaluation of DNA extraction methods from green and roasted coffee beans, **Food Control**, v. 19, p. 257-262, março de 2008.
- TRUGO, L.C. Coffee. In: **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**, 1a ed.; Caballero, B., Trugo, L. C., Finglas, P. M., Editores; Academic Press: Oxford, Reino Unido, 2003, vol. 2.