

Atividade enzimática da polifenoloxidase, peroxidase e catalase em grãos de *Coffea arabica* L. e relações com a qualidade da bebida^{*1/}

J. C. DE OLIVEIRA**, D. M. SILVA***, A. A. TEIXEIRA****, H. V. AMORIM***

ABSTRACT

This work studies the enzymatic activities of Polyphenol oxidase, Peroxidase and Catalase in unprocessed coffee bean samples and correlate them with the beverage quality which was previously evaluated by experts from the Brazilian Institute of Coffee.

A number of 35 samples, collected in farms of 27 counties in the States of São Paulo and Minas Gerais, were used thus allowing an evaluation more general than in previous works.

The final results showed that PFO activity decreased in the same order of the classification made by the experts.

On the other hand, catalase and peroxidase did not show such a definite relationship. Nonetheless it was possible to observe that the activity of those samples classified as "Rio" showed an average value considerably lower than the others.—The authors.

Introdução

O PREÇO da venda de café depende de dois fatores: qualidade e tipo de café (27). A qualidade depende do aspecto, cor e tamanho da fava, bebida, etc. A qualidade da bebida é o fator mais importante da classificação por qualidade, e esta é avaliada por provadores especificamente treinados para diferenciar os cafés quanto às suas propriedades organolépticas.

Com relação à qualidade Antunes Filho (9) afirma que através da prova sensorial, tanto a classificação de vinhos como da qualidade da bebida do café tem sido satisfatória para fins de comercialização. Calle (11), falando sobre a subjetividade de prova de xícara, afirma ser ela limitada pela aptidão do provador, que pode ser deformada e que não é possível ser medida. Mônaco (21) reconhece que, embora a determinação da qualidade da bebida esteja sujeita a erros devido a discrepância do paladar, não se encontrou ainda outra so-

lução, em vista da complexidade dos vários fatores que afetam. Fairbanks Barbosa *et al.* (13), verificando resultados discordantes em amostras provadas por diferentes degustadores, realizaram estudos com bases estatísticas visando determinar a validade da prova de xícara. Os resultados mostraram que, com técnicas adequadas e degustadores capacitados, a prova de xícara é perfeitamente válida dentro de certos limites.

Amorim e Silva (1, 3), encontraram uma correlação positiva entre a qualidade da bebida do café brasileiro e a atividade enzimática da polifenoloxidase. Os autores acham que os melhores cafés possuem uma atividade relativamente maior devido ao fato de que os piores cafés passaram por condições de injúrias (que pode ser de causa patológica) e assim a quantidade de fenóis oxidados (enzimaticamente ou não) aumentou, inativando desta maneira a enzima polifenoloxidase. O mecanismo da inativação da polifenoloxidase pelas quinonas formadas já é conhecida na literatura (16). Posteriormente, Rotemberg e Iachan (23, 24), confirmaram esses resultados. Os mesmos autores no ano seguinte (1971) propuseram um método químico automático para a diferenciação de café-bebida.

Sanint e Valencia (25), na Colômbia, induzindo em café despolpado diferentes qualidades de bebida por meio de diversos tempos de fermentação, observaram que também para cafés despolpados a atividade enzimática da polifenoloxidase era maior nos melhores cafés.

* Recibido para publicação em Agosto 3, 1976

^{1/} Este trabalho foi parcialmente financiado pelo Instituto Brasileiro do Café.

Trabalho parcialmente apresentado à ESAIQ - Piracicaba, SP - Brasil pelo primeiro autor, para obtenção do título de Doutor.

** Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia "Prof. Antonio Ruete" Jaboticabal, S.P., Brasil.

*** Departamento de Química, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, S.P., Brasil.

**** Seção de Classificação do Instituto Brasileiro do Café.

Corte Dos Santos *et al.* (12), estudando o efeito da umidade do ambiente na qualidade da bebida e na atividade de algumas enzimas, observaram que somente quando a umidade relativa do ar era de 50% havia um aumento na atividade da lipase

Segundo Oliveira (22), a atividade enzimática da PFO de grãos de *C. arábica* L. cv 'Mundo Novo', 'Caturai Amarelo' e 'Bourbon Amarelo' não diferem entre si quando submetidas ao mesmo tratamento; diferem quanto a locais de coleta, tipo de degomagem (alcalina e fermentação natural). A atividade enzimática de *C. deweyrei*, *C. canephora*, *C. arábica* e *C. liberica* diferem entre si e a atividade decresce com o tempo de armazenamento sendo que o decréscimo da atividade foi mais acentuada nas amostras que apresentavam maior atividade.

Amorim *et al.* (4, 5, 6, 7, 8, 20), em uma série de trabalhos publicados sobre química do café brasileiro, encontraram em síntese: amostras de café de diferentes qualidades de bebida não diferem quanto à carboidratos e fenóis solúveis totais, mas em café de bebida rio o teor de proteína solúvel, fenóis hidrolizáveis, atividades da PFO foram inferiores ao café de bebida mole. Observaram também queda na atividade da PFO com o armazenamento dos grãos. Finalmente, concluíram que o café rio sofreu reações hidrolíticas e oxidativas.

Arcilla e Valencia (10) observaram que a demora entre colheita e despulpamento, espécie de café, altitude de cultivo, temperatura de seca, o grau maturação, tempo de armazenamento e aplicações de Ethephon, afetam a qualidade da bebida e a atividade da PFO.

Devido ao número reduzido de amostras de café utilizadas nos trabalhos até então publicados, sobre a polifenoloxidase relacionada com qualidade da bebida, resolveu-se estudar essa atividade enzimática em maior número de amostras, de diferentes regiões, e incluir as enzimas peroxidase e catalase.

Materiais e métodos

Para o presente ensaio foram coletados, durante os meses de maio a setembro de 1969, aproximadamente 125 amostras de café 68/69, provenientes de regiões cafeicultoras do Estado de São Paulo e Zona da Mata de Minas Gerais. E, para se ter certeza de que as amostras de café de diferentes procedências ou de diferentes qualidades não fossem misturadas, prejudicando o ensaio, foram coletadas diretamente nas fazendas e armazéns de cooperativas.

Na obtenção dessas amostras, foi considerado o zoneamento do Estado de São Paulo realizado por Teixeira *et al.* (26).

As amostras foram inicialmente provadas pela equipe de degustadores especializados de Seção de Classificação e Degustação do Serac SP - 1 - IBC - São Paulo; selecionadas 35 amostras, sendo 7 de bebida "Mole",

7 de "Apenas mole", 7 de bebida "Dura", 7 de bebida "Riada" e 7 de bebida "Rio".

As amostras foram armazenadas em latas de alumínio com capacidade de 400 gramas e em temperatura ambiente.

Para obtenção do extrato, amostras de 30 gramas de grão de café cru foram pulverizadas à temperatura ambiente em moinho de facas de alta rotação, durante dois minutos, e em seguida utilizadas como fonte de enzimas. Do resultante da moagem, apenas a fração fina foi aproveitada e o restante descartado.

Determinação da atividade da polifenoloxidase (PFO). Do material acima descrito, duas gramas foram colocadas em almofariz contendo areia fina (30 - 40 'meshes') e 10 ml de solução tampão de fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,0. Todo material usado era mantido gelado. O pó era então macerado por dois minutos, filtrado em pano de malha grossa e centrifugado por vinte minutos a 12.000 rpm, à temperatura de 0 - 4,0°C.

O sobrenadante assim obtido foi diluído e usado como fonte enzimática. A diluição do extrato final usado como fonte enzimática, foi feita segundo análises prévias de atividade do material usado. De acordo com a conveniência, esse extrato foi diluído nas proporções de 1:25, 1:50 e 1:100.

A mistura reativa era constituída de 5 ml de solução de L-Dopa, na concentração de 8 mg/10 ml (3,4 dihidroxifenilalanina da Nutricional Biochemical Corporation), segundo Ferreira e Amorim (16) e em solução tampão de fosfato de sódio pH 7,0 e 1 ml do extrato diluído. A determinação da absorbância foi feita em colorímetro Klett-Summerson, filtro 42, de dois em dois minutos. A mistura reativa foi mantida à temperatura de 36°C, durante a reação enzimática. Como controle, foram colocados dois tubos de ensaio, sendo um com apenas solução de Dopa e o outro com o respectivo extrato em solução tampão.

Na determinação da atividade da catalase o extrato enzimático foi obtido de maneira semelhante à do PFO, em pH 7,0, tampão fosfato de sódio M/15, segundo o processo descrito por Luck (18), cujas etapas podem ser resumidas na seguinte forma: Em um becker de 200 ml em banho de gelo-água foram colocados 40 ml de tampão fosfato M/15, pH 7,0, 50,0 ml de solução de água oxigenada 2% (Perydrol Merck) e 10 ml de extrato enzimático 1:10 (1 g de pó para 10 ml de tampão). Nos tempos 0,5, 1,0; 2,0; 4,0; 7,0 e 10 minutos foram retiradas da mesma reativa alíquotas de 10 ml e transferidas para tubos de centrífuga contendo 2 ml de solução ácido (40 g TCA + 100 ml H₂SO₄). Em seguida, centrifugadas a 3 000 rpm, durante 5 minutos. Do sobrenadante foram retirado 6 ml e transferidos para erlenmeyer contendo 2 ml de iodeto de potássio a 1%. O erlenmeyer era então fechado e colocado em ambiente refrigerado e escuro por vinte minutos, titulando-se em seguida com tiosulfato de sódio 0,05 N, até coloração amarelada. Posteriormente, foram adicionadas 2 gotas de solução de amido (1 g de

amido + 5 mg HgCl₂ em 500 ml de água) e completada a titulação até o desaparecimento da coloração azul. Os volumes de tiosulfato de sódio gastos eram, então anotadas para cálculos posteriores.

Na determinação da atividade da peroxidase: O extrato foi obtido em tampão fosfato de sódio pH 6,1 e 0,1 M à maneira usada na extração da PFO. A mistura reativa se constituía de: 0,5 ml de água oxigenada 0,01 M; 1,0 ml de pirogalol; 0,02 ml de extrato 1:50, o volume completo a 6,0 ml com solução tampão. Com a adição da água oxigenada, era iniciada a contagem do tempo, acompanhando-se a variação da absorbância no colorímetro Klett-Summerson filtro 47, de 15 cm 15 segundos até 3 minutos. Como controle, substituiu-se a água oxigenada por solução tampão de fosfato. A reação foi processada à temperatura ambiente (25°C) e a determinação foi feita conforme Ferhmann e Diamond (14), com algumas alterações

As determinações de nitrogênio total foram feitas em alíquotas de 1 ml do extrato pelo método de Kjeldahl com adaptações de Malavolta (19)

Resultados

Testes preliminares: Foram efetuados na determinação da atividade enzimática das enzimas estudadas, com a finalidade de se determinar a melhor concentração enzimática, tempo de incubação, etc. As Figuras 1 e 4 correspondem à atividade enzimática da polifenoloxidase, Figuras 2 e 5 correspondem à atividade

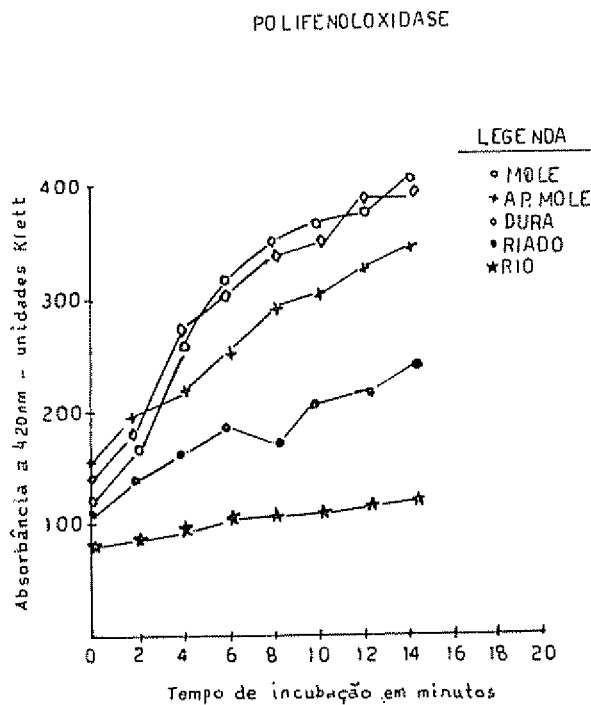


Fig. 1 — Cinética da reação enzimática da PFO dos grãos de café das várias qualidades de bebidas sobre 3,4 dihidroxifenilalanina. Escolha do intervalo ótimo de determinação da atividade.

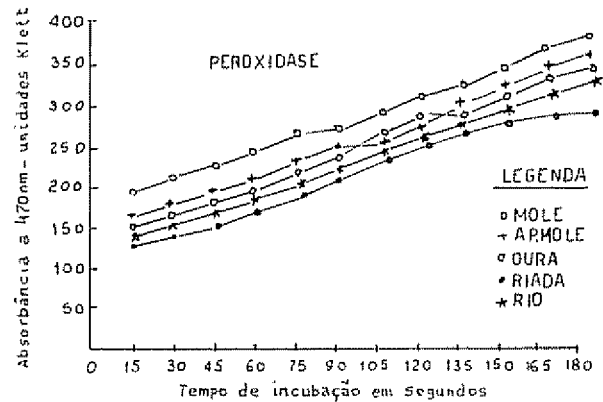


Fig. 2 — Cinética da reação da peroxidase dos grãos de café das várias qualidades de bebida sobre o pirogalol e água oxigenada.

enzimática da peroxidase, e a Figura 3 à atividade da enzima catalase. Actividade enzimática da Polifenoloxidase Quadro 1, apresenta valores obtidos na determinação da PFO.

Pela análise de variância, foram encontradas diferenças significativas ao nível de 1% entre os tratamentos (bebida mole, apenas mole, dura, riada e rio). Já o teste de médias (teste de Tukey) nos indica que apenas os tratamentos mole e rio são significativamente diferentes.

Com os valores observados, juntamente com as médias das provas de xícara (Quadro 2) foram feitos estudos de regressão e correlação.

O valor da correlação (r) encontrado entre a atividade da PFO e os valores médios das notas atribuídas à qualidade da bebida para cada amostra foi r = 0,488. A análise de variância mostra que há correlação entre

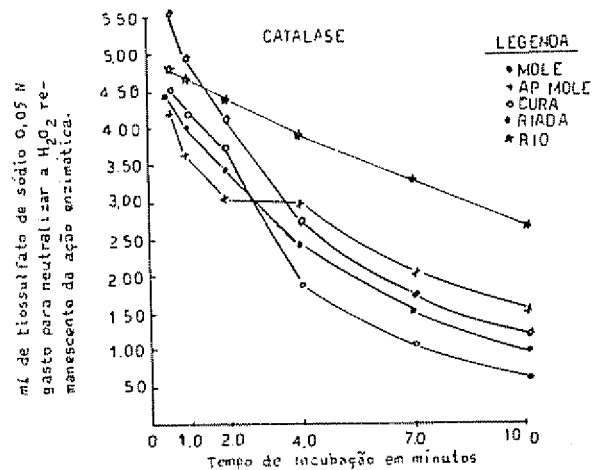


Fig. 3 — Cinética da reação da catalase de grãos de café das várias qualidades de bebida sobre a água oxigenada

Quadro 1—Atividade específica do polifenoloxidase em amostras de grãos de bebidas padrões. Os valores correspondem a diferença de absorbância em unidades Klett, entre 0 e 6 minutos por minuto, por mg de nitrogênio proveniente do extrato adicionado a solução de DOPA.

Qualidade das bebidas	Blocos								Médias
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Mole	27,6	85,1	54,1	88,8	97,5	82,2	78,0		73,33 b
Apenas Mole	51,9	39,0	91,5	39,2	90,8	50,5	69,6		61,79 ab
Dura	65,4	25,5	42,5	39,7	40,1	20,1	81,0		44,84 ab
Riada	45,1	41,9	55,5	25,2	70,0	32,4	41,9		44,57 ab
Rio	22,0	13,1	61,0	32,4	12,9	22,9	61,8		32,30 a

C. V. = 38,7 %

D. M. S. = ao nível de 5 % = 31,31

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si

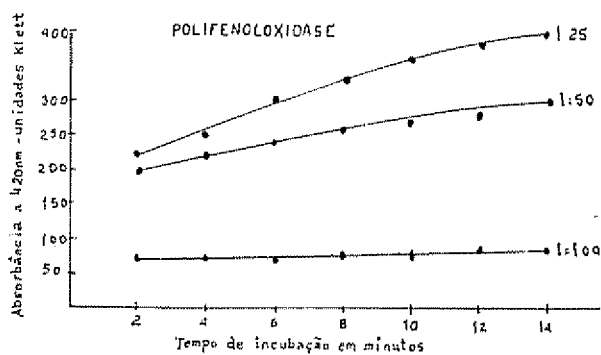


Fig. 4—Cinética da reação enzimática da PFO de grãos de café sobre 3,4 dihidroxifenilalanina. Escolha da concentração do extrato

os valores das notas atribuídas às várias bebidas padrões e a atividade da PFO. (Quadro 3).

Os valores médios da atividade da PFO e das notas de qualidade da bebida dos grãos de café estão distribuídos segundo uma reta, dada pela equação de regressão

$$y = 25,85 + 12,51 X$$

onde

y = corresponde a atividade específica da PFO e

x = corresponde a nota atribuída a qualidade da bebida.

Quadro 2—Valores médio obtidos pelas amostras classificadas como mole, apenas mole, dura, riada e rio. As notas foram atribuídas segundo escalas de valores proposta por Garruti e Conagin (17). Os valores correspondem à média de três degustadores em 6 provas efetuadas.

Qualidade das bebidas	Blocos								Médias
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Mole	3,87	3,78	3,67	3,33	3,28	3,61	3,44		3,57
Apenas Mole	3,33	3,11	2,72	2,55	3,00	2,83	2,67		2,89
Dura	1,89	2,22	2,22	2,05	2,11	2,28	1,67		2,06
Riada	1,00	1,50	0,89	1,44	0,89	1,67	1,00		1,20
Rio	0,39	0,50	0,61	0,44	0,50	0,55	0,50		0,47

Quadro 3—Análise de variância para testar o valor de "r"

Causas de Variação	GL	QM	F
Regressão linear	1	4893,68	10,30**
Desvio de regressão	33	175,02	
Total	34		

** = Significativo ao nível de 1%

Atividade específica da peroxidase Os resultados e os valores médios da atividade da enzima peroxidase estão no Quadro 4.

A análise de variância mostrou diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos (bebidas) e o teste de médias (Tukey) mostrou diferenças entre as médias das bebidas dura e rio.

Atividade específica da atalase No Quadro 5 são encontrados os valores obtidos com as amostras de cafés de bebidas padrões e as médias das atividades

A análise estatística dos resultados da atividade enzimática da catalase, de grãos de café de bebidas padrões, não mostrou diferenças significativas entre as bebidas padrões

Discussão

Embora para o estudo enzimático da polifenoloxidação de grãos de café, trabalhos de Amorim e Silva (1),

Quadro 4.—Atividade específica da peroxidase em amostras de grãos de café de bebidas padrões. Os valores correspondem a diferença de absorbância em unidades Klett entre 0,25 e 1,25 minutos por minuto e por mg de nitrogênio na mistura reativa.

Bebidas	Blocos							Médias
Mole	211,89	368,13	216,10	218,48	204,55	184,67	284,92	241,25 ab
Apenas Mole	268,96	354,16	240,93	235,89	227,60	214,12	240,21	254,59 ab
Dura	236,72	425,99	241,23	208,08	302,25	172,94	289,62	268,11 a
Riada	352,26	277,09	191,10	222,54	215,07	212,12	252,75	246,13 ab
Rio	301,58	93,08	175,50	127,85	174,54	125,16	246,30	177,72 b

C.V. = 23,03%

D.M.S. a 5% = 86,25

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si.

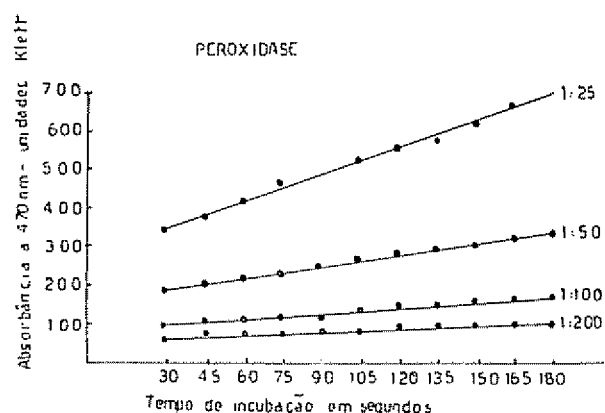


Fig. 5—Cinética da reação enzimática da peroxidase de grãos de café sobre o pirogalol e água oxigenada. Escolha da concentração do extrato enzimático.

Ferreira e Amorim (15), tivessem determinado a atividade enzimática de 5 em 5 minutos num período de 30 minutos e Rotemberg e Iachan (24), de 3 em 3 minutos num período de 60 minutos, achamos de interesse fazer algumas modificações de acordo com as nossas condições de trabalho para a atividade da polifenoloxidação

Pelos resultados obtidos e pelas Figuras 1, 2 e 3, observou-se que os valores iniciais das reações catalizadas pelo PFO, catalase e peroxidase, seguiam uma cinética de primeira ordem. Levando-se também em consideração que as atividades são menos afetadas no início das reações por diversos fatores como produtos da reação, e desnaturação da enzima, achamos conveniente trabalhar com os resultados obtidos nos intervalos de 0,00 a 6,00 minutos para a PFO; 0,50 e 2,00 minutos para a catalase; e 0,25 e 1,25 minutos para a peroxidase.

Quadro 5 —Atividade específica do catalase em ostras de grãos de café das bebidas padrões Os valores correspondem a diferença de tiosulfato de sódio gasto entre 0,50 e 2,00 minutos, utilizados na neutralização do iodo liberado pela ação da água oxigenada remanescente após ação enzimática (atividade $\times 10^{-3}$), por minuto e mg de nitrogênio da mistura reativa.

Bebidas	Blocos							Médias
Mole	246	610	331	161	250	315	311	333
Apenas Mole	459	665	347	233	197	231	289	346
Dura	271	335	216	203	268	211	248	250
Riada	387	305	236	195	232	180	287	260
Rio	203	111	249	140	140	326	319	213

C.V. = 34,9 %

Com relação a concentração do extrato enzimático e a faixa ótima de leitura para o estudo da atividade enzimática, a fim de se conseguir maior uniformidade dos resultados, tivemos o cuidado de realizar testes preliminares para determinar as concentrações do extrato contendo PFO e peroxidase que produzissem leituras dentro da faixa de 100 a 400 unidades Klett de absorvância. No caso da determinação da atividade da catalase também se procurou uniformizar os resul-

tados, selecionando concentrações do extrato que na situação da mistura reativa consumia de 2,5 a 7,0 ml de tiosulfato de sódio a 0,05 N.

Amorim e Silva (1, 2), posteriormente Rotemberg Iachan (23) e Sanint e Valencia (25), já haviam constatado diferenças entre as atividades da polifenoloxidase das diversas qualidades de bebida, entretanto foi pequeno o número de amostras utilizadas. O estudo da correlação entre qualidade da bebida e atividade enzimática da PFO realizado com nossas amostras vieram confirmar essa expectativa. Diferença na atividade da PFO nas amostras de bebidas padrões também foram reveladas pelo teste de Fisher ao nível de 1% de probabilidade. Entretanto, trabalhando com amostragem de diferentes locais, o que provoca maior variabilidade dos resultados, só foi possível detectar diferença entre as bebidas mole e rio pelo teste Tukey.

Arcila e Valencia (10), Oliveira (22) observaram a influência de armazenamento, espécie de café, tipo de degomagem, temperatura de seca, demora entre colheita e despulpamento, grau de maturação sobre a atividade da PFO, o que pode explicar a variabilidade encontrada.

Contudo, o mecanismo e a relação da PFO com a qualidade da bebida ainda não está esclarecida, embora essa hipótese sobre sua inativação com fenóis formados pela ação das glicosidases tenha sido aventada (3).

As médias das atividades específicas para cada uma das bebidas padrões de café decresciam de 73,33 para a bebida mole a 32,30 para bebida rio.

Considerando os valores médios das 5 bebidas padrões de café, encontrou-se uma correlação entre a atividade da PFO e a qualidade da bebida, que pode ser expressa pela equação $y = 25,85 + 12,57 X$, onde

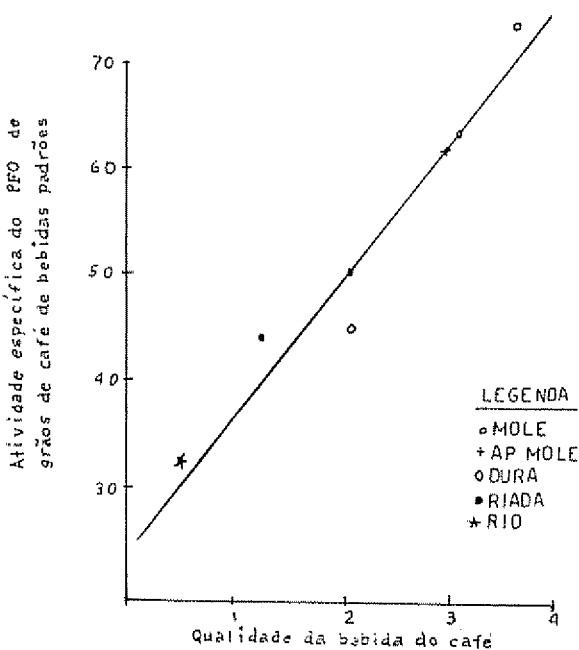


Fig. 6.—Representação da equação de regressão obtida com a média da atividade da PFO dos grãos de café das diversas bebidas e com as notas médias das qualidades dessas mesmas bebidas.

y corresponde à atividade específica da PFO nas condições do experimento e x ao valor das notas atribuídas à qualidade da bebida segundo Garrutti e Conagin (17).

A correlação para atividade da PFO e dos valores de qualidade da bebida apresentou-se significativa ao nível de 1%.

Na nossa revisão de literatura, não encontramos nenhum trabalho referente à atividade de Peroxidase em grãos de café. Tratando-se de uma enzima de classe das óxido-redutase como a polifenol oxidase, decidimos incluí-la nos testes preliminares.

Conforme se pode observar no Quadro 4 a atividade da peroxidase de grãos de café de qualidade de bebida diferente, apresentaram diferença estatística ao nível de 5%. Pelo teste de Tukey para as médias encontradas, obteve-se uma diferenciação do café de bebida dura e rio ao nível de 5%, o que parece uma indicação de que esse método de análise possa ser de interesse para distinguir as duas qualidades de café nas condições em que comumente se obtém essas amostras para análise.

Com relação aos dados obtidos no estudo da atividade da catalase (Quadro 5) a análise de variância não mostrou diferenças significativas entre os tipos de bebida, o que veio mostrar ao menos, que o processo não é promissor ao objetivo proposto no presente trabalho. Pois a atividade da catalase não deve estar relacionada com a qualidade da bebida do café, apesar de pertencer à mesma classe da enzima PFO.

Dado o elevado número de amostras de grãos de café preparados e conservados de formas distintas, coletados diretamente das fontes produtoras, os testes enzimáticos de qualificação de amostras de café podem servir como complementação da prova de degustação, levando-se em contra uma série de considerações

Conclusões

Em vista dos resultados obtidos durante a execução deste trabalho, parece razoável admitir as seguintes conclusões:

1. Embora tenha sido obtida uma correlação significativa entre a atividade da polifenoloxidase e a qualidade da bebida do café a análise estatística demonstrou que nas condições usadas apenas a atividade da PFO de grãos de bebida mole foi significativamente maior do que a bebida rio. A análise de regressão linear foi significativa a 1% e o valor de "r" foi de 0,488

2. Enquanto a análise estatística da atividade da catalase de grãos de café de diversos tipos de bebida de café; não apresentou diferenças, a peroxidase revelou diferenças entre a atividade de amostras de bebida dura e rio.

3. A atividade da PFO, catalase e peroxidase sempre foram menores nas amostras de bebida de café rio.

Resumo

O trabalho em questão teve como objetivo realizar um estudo das atividades enzimáticas da polifenoloxidase, peroxidase e catalase de amostras de grãos de café cru e corretioná-las com a qualidade da bebida, previamente avaliadas pelos degustadores da Seção de Classificação e Degustação do SERAC. SP - 1 - São Paulo.

As 35 amostras estudadas provieram de fazendas situadas em 27 municípios do Estado de São Paulo e de Minas Gerais, o que permitiu uma avaliação mais geral do que de trabalhos anteriores sobre o assunto.

Os resultados finais revelaram que as atividades da polifenoloxidase decresciam na mesma ordem de classificação pelos degustadores (Mole, Apenas Mole, Duro, Riado e Rio). Com relação à catalase e peroxidase os resultados não mostraram essa definida relação. Contudo foi possível perceber que a atividade das amostras qualificadas como bebida rio exibiam em média um valor bem mais baixo que os demais

Literatura citada

1. AMORIM, H. V. e SILVA, D. M., Relação da atividade da polifenoloxidase do grão de *Coffea arabica* L. com a qualidade da bebida. Piracicaba, ESALQ, 1968 16 p. (Boletim Técnico-Científico, 31)
2. ———, e SILVA, D. M. Relationship between the polyphenol oxidase activity of coffee beans and the quality of the beverage. *Nature (London)* 219: 381-382, 1968.
3. ———, MALAVOLTA, E., TEIXEIRA, A. A., CRUZ, V. F., MELO, M., GUERCIA, M. A., FOSSA, S., BREVIGLIERI, O., FERRARI, S. E., SALVA, D. M. Relationship between some organic compounds to Brazilian green coffee with the quality of the beverage. In: COLOQUIO INTERNACIONAL SOBRE QUÍMICA DE CAFÉ, 6º Bogotá, Colombia, junho, 1973.
4. ———, TEIXEIRA, A. A., BREVIGLIERI, O., CRUZ, V. F., MALAVOLTA, E. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage I. Carbohydrates. *Turrialba* 24(2):214-216, 1974
5. ———, TEIXEIRA, A. A., GUERCIO, M. A., CRUZ, V. F., MALAVOLTA, E. Chemistry of Brazilian green coffee and quality of the beverage. II. Phenolic compounds. *Turrialba* 24(2): 217-221. 1974
6. ———, TEIXEIRA, A. A., MELO, M., CRUZ, V. F., MALAVOLTA, E. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage. III. Soluble proteins. *Turrialba* 24(3): 304-308. 1974.
7. ———, TEIXEIRA, A. A., MELO, M., CRUZ, V. F., MALAVOLTA, E. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage. IV. Electrophoresis of proteins in agarose and its interaction with chlorogenic acids. *Turrialba* 25(1):18-24. 1975

8. AMORIM, H. V., LEGENDRE M. G., AMORIM, V. I., ANGELO, A. J. St., ORY, R. L. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage VII, Total carbonils, activity of polyphenol oxidase, and hydroperoxides Turrialba 26(2): 193-195 1976
9. ANTUNES FILHO, H. A genética e a qualidade do café. Suplemento Agrícola de O Estado de São Paulo, 36:3. 1955.
10. ARCILA, J. P. e VALENCIA, G. A. Relación entre la actividad de la polifenol oxidasa (PFO) y las pruebas de catación como medidas de la calidad de la bebida del café. Cenicafé 26 (2):55-71. 1975
11. CALLE, H. V. Bom ou mau café? Boletim da Superintendência dos Serviços do Café, São Paulo, 354: 51-52, 1956
12. CORTE DOS SANTOS, A., HAHN, D., CAHAGNIER, C., DRAPON, R., GUILBOT, A., LEFEBVRE, J., MULTON, J. L., POISSON, J., TRENTESAU, E. Etude de l'évolution de plusieurs caractéristiques d'un café arabica au cours d'un stockage expérimental effectué à cinq humidités relatives différentes. Café Cacao Thé 15:329-340, 1971
13. FAIRBANKS BARBOSA, L., PIMENTEL GOMES, F., PARREIRA, P., CAMPOS, H. de, CASTILHO, A. de, TEIXEIRA, A. A. Estudos preliminares sobre a prova de xícara de café São Paulo, Secretaria de Agricultura. 1962 38 p
14. FERHMANN, H. e DIAMOND, A. E. Peroxidase activity and Phytophthora resistance in different organs of the potato plant. Phytopatology 57:69-72, 1967.
15. FERREIRA, W. A. e AMORIM, H. V. Efeito da concentração do DOPA na atividade da polifenoloxidase em grãos de café. O Solo 62(2):13-14, 1970
16. FORSYTH, W. G. C. Physiological aspects of curing plant products. Annual Review of Plant Physiology, 15:443-450, 1964.
17. GARRUTI, R. S. e CONAGIN, A. G. Escala de Valores para a avaliação da Qualidade da Bebida de Café. Brazgranta 20:557-562. 1961.
18. LUCK, H. Methods of enzymatic analysis. New York, Academic Press, 1963 pp 885-894.
19. MAIAVOLTA, E. Práticas de Química orgânica e biológica Piracicaba, Centro Acadêmico "Luiz de Queiroz", 1957
20. MELO, M. e AMORIM, H. V. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage. VI. U. V and visible spectral analysis and chlorogenic acids content on TCA soluble buffer extracts. Turrialba 25(3):243-248. 1975
21. MONACO, I. C. Qualidade da bebida. Suplemento Agrícola de O "Estado de São Paulo". 176:5, 1958.
22. OLIVEIRA, J. C. de. Relação da atividade enzimática do polifenoloxidase, peroxidase e catalase dos grãos de café e a qualidade da bebida. Tese de Doutorado ESALQ, USP Piracicaba, S. P., 1972, 80 p
23. ROTEMBERG, B. F. e IACHAN, A. Caracterização química das variedades de café bebida. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 22ª Salvador, 5-11 de julho, 1970. Resumos p. 396
24. ————— e IACHAN, A. Método químico automático para diferenciação de "café bebida". Revista Brasileira de Tecnologia 2(2):67-69, 1971.
25. SANINI, O. B. e VALENCIA, G. Actividad enzimática en el grano de café en relación con la calidad de la bebida. I. Duración de la fermentación. Cenicafé, (Colombia) 23:59-71, 1970.
26. TEIXEIRA, A. A., PIMENTEL GOMES, F., MORAES, R. S., CAMPOS, H. de. Zoneamento do Estado de São Paulo, por qualidade de bebida do café, São Paulo, IBC, 1968: 28 p.
27. —————. Classificação de Café. In: Simpósio sobre comercialização do café, São Paulo. Setembro, 1971.

NOTAS Y COMENTARIOS

Síntomas de virosis suprimidos por fungicidas

Las virosis de los cultivos son difíciles de tratar. Los métodos más comunes son usar semilla, a través de la cual no se transmite normalmente el virus, y mantener los cultivos libres de los animales viríferos, tales como los áfidos. Sin embargo, científicos en la Estación Experimental Nacional de Hortalizas, en Wellesbourne, Warwick, Inglaterra, han encontrado un tratamiento químico, normalmente usado contra los hongos, que elimina por completo los síntomas de la enfermedad por virus (*Annals of Applied Biology*, vol 84, p 31).

J. A. Tomlinson, en colaboración con E. M. Faithfull y C. M. Ward han explorado la posibilidad de usar carbendazina (Bavistin-BASF 3460 F) durante la prueba rutinaria de unos pocos productos conocidos por ser absorbidos por las plantas y por permanecer estables dentro de ellas. La carbendazina parecía particularmente interesante por ser un benzimidazol con propiedades hormonales, transportado por las plantas y que se sabía que inhibía el desarrollo de ciertos virus RNA de animales.

Tomlinson y colaboradores aplicaron el compuesto humedeciendo el suelo que tenía plantas de tabaco infectadas con el virus del mosaico del tabaco (TMV). Normalmente, el TMV causa una severo cuadro de mosaico amarillo y verde oscuro en las hojas y reduce su contenido de clorofila. En las plantas

regadas con carbendozina no se desarrollaron tales síntomas y las plantas se presentaron bastante saludables. Al ser analizadas, estas plantas de aspecto saludable pero infectadas con virus contenían tanto virus como las plantas sin tratamiento obviamente enfermas, pero los síntomas de la enfermedad fueron completamente suprimidos.

Experimentos similares fueron hechos con lechugas (cultivar 'Cobham Green') y un total de 0,1 g de carbendazina fue asperjado sobre lechugas antes y después de la infección con el virus amarillo occidental de la remolacha (BWYV). Cincuenta días más tarde, al momento normal de la cosecha, todas las plantas infectadas sin tratar estaban raquíticas y amarillas y sin valor comercial, mientras que todas aquellas regadas con carbendazina lucían aparentemente saludables y aceptables comercialmente. Nuevamente no se observó reducción en el contenido de virus de las plantas, sino una supresión completa de síntomas.

El mecanismo mediante el cual la carbendazina previene la expresión de los síntomas no es conocido, pero se sabe que los benzimidazoles pueden ligarse a las membranas de los cloroplastos y es probablemente esta característica lo que interfiere con el efecto de amarillento de los virus.

El trabajo señalado es interesante porque puede ayudar a aclarar la forma como se produce el amarillamiento de las hojas en su vejez. En el momento actual, el tratamiento indicado puede ser demasiado caro, y puede además presentar algún peligro al formarse un gran reservorio de plantas llenas de virus, aparentemente sanas, que pueden ser una fuente de infección a cultivos no protegidos.