

(11) Número de Publicação: **PT 1887876 E**

(51) Classificação Internacional:  
**A23F 5/18** (2007.10) **A23L 2/84** (2007.10)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: <b>2006.04.28</b>	(73) Titular(es): <b>NESTEC S.A.</b>	
(30) Prioridade(s): <b>2005.05.24 EP 05104424</b>	<b>AVENUE NESTLÉ 55 1800 VEVEY</b>	<b>CH</b>
(43) Data de publicação do pedido: <b>2008.02.20</b>	(72) Inventor(es):	
(45) Data e BPI da concessão: <b>2009.09.16</b> <b>214/2009</b>	<b>ROBERT AESCHBACH</b>	<b>CH</b>
	<b>RACHID BEL-RHLID</b>	<b>CH</b>
	<b>KARIN KRAEHENBUEHL</b>	<b>CH</b>
	<b>KONRAD LERCH</b>	<b>CH</b>
	(74) Mandatário:	
	<b>ELSA MARIA MARTINS BARREIROS AMARAL CANHÃO</b>	
	<b>RUA DO PATROCÍNIO 94 1399-019 LISBOA</b>	<b>PT</b>

(54) Epígrafe: **PRODUTO DE CAFÉ SOLÚVEL**

(57) Resumo:

## **DESCRIÇÃO**

### **"PRODUTO DE CAFÉ SOLÚVEL"**

#### **Campo da Invenção**

A presente invenção refere-se a um produto de café, um método de preparação de um produto de café e à utilização de enzimas, sorventes e/ou extracção com solventes para tratar um extracto de café de modo a proporcionar esse produto.

#### **Antecedentes da Invenção**

Uma bebida de café é geralmente produzida em três passos que envolvem a torrefacção dos grãos de café verdes, moagem dos grãos torrados e, depois, a extracção dos componentes do café dos grãos moídos. Dentro do passo de torrefacção, o tratamento térmico gera uma grande variedade de moléculas de aroma e sabor que estão ausentes do grão de café verde original. As transformações químicas envolvidas no processo de torrefacção são numerosas e, até à data, não foram completamente elucidadas. Sabe-se que reacções e transformações químicas que ocorrem durante o processo de torrefacção incluem, por exemplo, desidratação, reacções de Maillard, caramelização, pirólise, hidrólise e fragmentação.

O amargo do café é um resultado conhecido do processo de torrefacção. É não só influenciado pelo nível da torrefacção (sabe-se que os cafés mais escuros são mais amargos), mas também

pela variedade do café e pela composição química (precursores do sabor) do grão de café verde.

Está bem estabelecido que o sabor amargo do café não é apreciado por uma proporção significativa dos consumidores. Foram, por isso, feitas várias tentativas para reduzir o amargo ou outros atributos indesejáveis que podem estar presentes no café.

O documento EP-A 1-861596 (Kraft General Foods) divulga a remoção de precursores de ácidos, tais como lactonas e ésteres num extracto de café, por tratamento com álcali, para converter os precursores em sais seguido por neutralização com um ácido seleccionado de ácido fosfórico, ácido fumárico, ácido málico, ácido tartárico e ácido adípico.

O documento JP-A-9094080 (Fujiya KK) divulga a hidrólise de grãos de café com álcali e neutralização da solução obtida com um ácido, de modo a reduzir o sabor ácido e retirar o amargo.

O documento EP-A-474005 (Jacobs Suchard AG) refere-se a um processo para melhorar o sabor de extractos de café por separação de componentes indesejados do extracto utilizando um crivo molecular alcalino com um tamanho de poro desde 0,3 a 1,0 nm.

O documento JP 2001-321116 (Kikkoman Corp) divulga a utilização de tanase ou ácido clorogénico esterase para remover o amargo e adstringência de grãos de café.

Verificou-se agora que certos compostos fenólicos do café contribuem para um amargo acrescido do produto. Em particular,

verificou-se que as lactonas de ácidos clorogénicos (daqui em diante referidas como "CAL") são especialmente problemáticas a este respeito.

As lactonas de ácidos clorogénicos são formadas a partir dos ácidos clorogénicos. Ambos os tipos de compostos existem em café torrado embora se verifique que os ácidos clorogénicos contribuam muito menos, se de todo, para o sabor amargo do que as lactonas de ácidos clorogénicos. Além disso, demonstrou-se que os ácidos clorogénicos têm actividade anti-oxidante *in vitro* (e. g. sequestração de radicais, resistência à oxidação de LDL, protecção da lesão de ADN) e efeito antimutagénico *in vivo* no intestino grosso, fígado e língua em ratos e cobaias. Acresce que os ácidos clorogénicos são capazes de reduzir a secreção ácida sistémica no estômago protegendo a mucosa gástrica contra irritações eventualmente responsáveis por azia.

Continua, portanto, a ser muito desejável proporcionar um produto de café que tenha amargo reduzido e que, ao mesmo tempo, retenha quantidades significativas de compostos vantajosos para a saúde.

Além disso, é desejável tratar um produto de café torrado de modo a reduzir os níveis de lactonas de ácidos clorogénicos e manter ainda, ou, pelo menos, reduzir em muito menor grau a quantidade de ácidos clorogénicos presentes.

As lactonas de ácidos clorogénicos são discutidas na publicação "Analysis of Bitter Fractions of Roasted Coffee by LC-ESI-MS/New Chlorogenic Acid Derivatives", M. Ginz, U.H. Engelhardt, Institute of Food Chemistry, Technical University of Braunschweig, Schleinitzstrasse 20, DE-38118, Alemanha. Este

documento refere-se ao isolamento de lactonas de ácidos clorogénicos do café e investiga a contribuição dessas lactonas para o amargo perceptível da bebida de café torrado. Contudo, não dá indicação de como preparar um produto de café torrado que tenha níveis reduzidos de lactonas de ácidos clorogénicos mas níveis substancialmente mantidos de ácidos clorogénicos.

Além disso, nenhum dos documentos referidos acima parece diferenciar entre ácidos clorogénicos e lactonas de ácidos clorogénicos e, por isso, não tratam do problema de como reduzir este último componente sem, simultaneamente, reduzir, significativamente, o teor de ácidos clorogénicos.

Tendo em consideração o exposto anteriormente, a presente invenção procura proporcionar uma ou mais das vantagens acima referidas e/ou resolver um ou mais dos problemas mencionados acima.

### **Sumário da Invenção**

Assim, de acordo com um primeiro aspecto da presente invenção é proporcionado um produto de café derivado de café em grão, torrado e moído, em que a proporção em peso de 5CQA para 3CQAL (*vide infra*) no produto está dentro da gama de 12:1 a 1000000:1.

De acordo com outro aspecto da presente invenção é proporcionado um produto de café solúvel derivado de café em grão, torrado e moído, em que a proporção em peso de CQA totais (tal como aqui definido) está dentro da gama de 22:1 a 1000000:1.

Ainda noutro aspecto, a invenção proporciona um método para a preparação de uma composição de café líquida que tem um teor reduzido de lactonas de ácidos clorogénicos que compreende o passo de tratar um extracto de café com uma enzima, de modo a hidrolisar uma porção das lactonas de ácidos clorogénicos presentes no extracto.

Ainda noutro aspecto, a invenção proporciona a utilização de uma enzima no tratamento de um produto de café, tal como um extracto de café, para reduzir o amargo de uma bebida de café, em que a enzima remove selectivamente as CAL, de um modo preferido, em relação aos ácidos clorogénicos.

O nível das CAL também pode ser reduzido fazendo contactar um extracto de café com um sorvente ou um solvente em certas condições.

Assim, a invenção também se refere a um método de tratamento de um extracto de uma composição de café para reduzir o nível das CAL que compreende os passos de:

- (i) torrefacção e moagem de café em grão, para produzir um produto moído;
- (ii) extracção do produto moído com água e/ou vapor, para obter um extracto; e
- (iii) fazer contactar o extracto com um sorvente sólido

em que o sorvente é adequado para remoção de componentes apolares e está, pelo menos, parcialmente saturado com ácido clorogénico e, opcionalmente, cafeína.

Neste aspecto adicional, a invenção também proporciona a utilização de um sorvente sólido, tal como definido acima, para remover CAL de um extracto de café para proporcionar uma composição de café tendo um amargo reduzido.

A invenção refere-se adicionalmente a um método de tratamento de um produto de café de forma a reduzir o nível de CAL que compreende os passos de:

(i) torrefacção e moagem de café em grão para proporcionar um produto moído;

(ii) extracção do produto moído com água e/ou vapor para obter um extracto; e

(iii) fazer contactar o extracto com um solvente orgânico

em que o solvente é adequado para remoção de componentes apolares e está, pelo menos, parcialmente saturado com ácido clorogénico e, opcionalmente, cafeína.

Neste aspecto, a invenção também proporciona a utilização de solvente orgânico como aqui definido acima, para remover CAL de um extracto de café, para proporcionar uma composição de café tendo amargo reduzido.

No contexto da presente invenção, o termo "compreendendo" é não exaustivo e não limita os passos, ingredientes ou componentes aos que são especificados a seguir ao termo "compreendendo", sendo antes definido como significando "incluindo mas não limitado a".

### **Descrição Pormenorizada da Invenção**

A presente invenção é dirigida a produtos que têm uma quantidade reduzida de CAL e uma quantidade mantida ou, pelo menos, não significativamente reduzida de ácidos clorogénicos. CAL significa uma classe de compostos que têm as estruturas gerais A ou B ilustradas na Figura 1. Os grupos OR<sub>3</sub>, OR<sub>4</sub> e OR<sub>5</sub> podem ser um de dois epímeros possíveis. Os grupos R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> e R<sub>5</sub> são seleccionados independentemente de cafeóilo, feruloóilo, cumaroóilo, dimetoxicinamoóilo, sinapoóilo ou H ou das suas misturas. Quando os grupos R<sub>3</sub> a R<sub>5</sub> compreendem uma ou mais cadeias acilo, a ligação dupla da cadeia acilo pode estar na configuração "trans" ou "cis". Os ácidos clorogénicos têm a estrutura geral C tal como ilustrado na figura 1.

Exemplos de algumas lactonas de ácidos clorogénicos e ácidos clorogénicos conhecidos estão apresentados na tabela seguinte.

Tabela 1

Nome	Estrutura	R3	R4	R5
<b>Derivados lactona do ácido quínico</b>				
lactona do ácido 3-O-cafeoil-D-quínico (3CQAL)	A	cafeóilo	H	-
lactona do ácido 4-O-cafeoil-D-quínico (4CQAL)	A	H	cafeóilo	-
lactona do ácido 3-O-feruloil-D-quínico (3FQAL)	A	feruloílo	H	-
lactona do ácido 4-O-feruloil-D-quínico (4FQAL)	A	H	feruloílo	
<b>Derivados do ácido clorogénico</b>				
ácido 5-O-cafeoil-D-quínico (5CQA)	C	H	H	cafeóilo
ácido 4-O-cafeoil-D-quínico (4CQA)	C	H	cafeóilo	H
ácido 3-O-cafeoil-D-quínico (3CQA)	C	cafeóilo	H	H
Total CQA = 3CQA+ 4CQA + 5CQA	C			

Entender-se-á que podem existir outras lactonas de ácidos clorogénicos e ácidos clorogénicos e podem, até, estar presentes no café e que estas frases abrangem todos os compostos que estão dentro das fórmulas A/B ou C respectivamente.

Verificou-se agora que a lactona do ácido 3-O-cafeoil-D-quínico (aqui referida como "3CQAL") é particularmente representativa de todas as CAL, na medida em que as determinações do efeito de tratamentos em 3CQAL são

completamente indicativos dos efeitos desses tratamentos em CAL em geral.

Assim, é importante que o nível de 3CQAL seja significativamente reduzido no produto final.

Ao mesmo tempo, é desejável que a quantidade de ácidos clorogénicos ("CQA") que são os precursores de CAL seja mantida ou, pelo menos, reduzida em muito menor grau pelas razões aqui apresentadas.

O ácido 5-O-cafeoil-D-quínico (aqui referido como "5CQA") é particularmente representativo de todos os CQA na medida em que as determinações que mostram o efeito de tratamentos de 5CQA são completamente indicativos dos efeitos desses tratamentos em CQA em geral.

Portanto, num aspecto, é essencial que a proporção em peso de 5CQA para 3CQAL seja 12:1 ou mais, de um modo preferido, 15:1 ou, de um modo mais preferido, 20:1 ou mais, de um modo muito preferido, 50:1 ou mais, e. g. 80:1 ou mais.

É desejável que uma pequena quantidade de lactonas de ácidos clorogénicos permaneça no produto para conferir um sabor equilibrado à bebida. Portanto, a proporção em peso de 5CQA para 3CQAL é 1000000:1 ou menos, de um modo preferido, 750000:1 ou menos, de um modo mais preferido, 500000:1 ou menos, de um modo muito preferido, 250000:1 ou menos, e. g., 100000:1 ou menos. Num aspecto adicional, os produtos de acordo com a invenção têm uma proporção em peso acrescida dos CQA totais (a soma de 3CQA, 4CQA e 5CQA) para 3CQAL. Assim, a proporção em peso de CQA totais para 3 CQAL é 22:1 ou mais, de um modo preferido, 30:1 ou

mais, de um modo mais preferido, 50:1 ou mais, de um modo muito preferido, 75:1 ou mais, e. g., 100:1 ou mais.

A proporção em peso de CQA totais para 3CQAL é também 1000000:1 ou menos, de um modo preferido, 750000:1 ou menos, de um modo mais preferido, 500000:1 ou menos, de um modo ainda mais preferido, 250000:1 ou menos, de um modo muito preferido, 100000:1 ou menos, e. g., 50000:1 ou menos.

Também se verificou que os produtos adequados para utilização na presente invenção podem ter um nível reduzido de 3CQAL em relação ao nível de cafeína presente. Assim, os produtos de acordo com a invenção podem, alternativamente e/ou adicionalmente, ser definidos pelo nível relativo de cafeína e 3CQAL.

A manutenção do nível de cafeína ou, pelo menos, a sua redução num grau muito menor do que a 3CQAL também pode ser altamente desejável, uma vez que é bem conhecido que a cafeína melhora o estado de alerta mental no curto prazo.

Assim, a proporção em peso de cafeína para 3CQAL é, de um modo preferido, 40:1 ou mais, de um modo mais preferido, 70:1 ou mais, de um modo ainda mais preferido, 100:1 ou mais, de um modo muito preferido, ainda 130:1 ou mais, e. g., 200:1 ou mais.

Surpreendentemente, verificou-se ainda que o nível de sais, tais como os sais de potássio, não fica significativamente aumentado nos produtos da presente invenção. Sabe-se que os sais de potássio contribuem para o amargo e, por isso, níveis elevados de tal componente é claramente indesejável.

Assim, os produtos de café da presente invenção compreendem, de um modo preferido, 10% em peso ou menos de sais de potássio com base no peso total de matéria seca no produto, de um modo mais preferido, 8% em peso ou menos, de um modo muito preferido, 6% em peso ou menos.

### **Tratamento enzimático**

A fase durante o processamento do café em que é realizado o tratamento enzimático não é essencial, desde que ocorra antes da formação do produto final de café solúvel. Portanto, o tratamento enzimático pode ocorrer no café em grão após a torrefacção, após a moagem e/ou após a extracção. De um modo muito preferido, o tratamento enzimático é realizado no produto extraído.

Por "extraído" significa-se que foi utilizada água e/ou vapor para extrair a mistura complexo de componentes de café dos grãos de café torrado e moído.

### Enzimas

Num aspecto, os produtos da presente invenção são preparados utilizando uma ou mais enzimas.

As enzimas preferidas são seleccionada de hidrolases tais como esterases, lipases, tanase e anidrase carbónica ou as suas misturas.

As esterases (EC 3.1.1.1) são particularmente preferidas.

Uma esterase especialmente preferida é esterase de fígado de suíno imobilizada. Outra esterase adequada é, por exemplo, esterase de fígado de porco.

A tanase (EC 3.1.1.20) adequada para utilização na presente invenção inclui tanase de *Aspergillus oryzae*, imobilizada em Eupergit C. Esta tanase imobilizada está descrita no documento EP-A-0777972, aqui incorporado.

Exemplos de lipases adequadas (EC 3.1.1.3) incluem lipase de *Candida rugosa*, lipase de *Geotrichum candidum*, lipase de *Aspergillus niger* e palatase.

A anidrase carbónica (EC 4.2.2.1) também é adequada para utilização na presente invenção.

### Metodologia

Uma bebida de café é geralmente produzida em três passos que envolvem a torrefacção de grãos verdes, moagem dos grãos torrados e em seguida a extracção dos componentes do café a partir dos grãos moídos.

Num primeiro método preferido, o café moído é extraído com água e/ou vapor sob gradientes específicos de temperatura e pressão de acordo com processos de fabrico de café solúvel conhecidos por um especialista na técnica. Faz-se depois contactar o extracto resultante com a enzima para hidrolisar as CAL, de um modo preferido, e conservar os CQA tanto quanto possível.

Num segundo método preferido, a bebida solúvel de café é preparada por extracção como a feita em casa típica, como, por exemplo, com filtração. O extracto de café é então submetido ao tratamento enzimático como descrito a seguir.

Pode fazer-se contactar a enzima com o extracto de café de qualquer modo desde que permita tempo de contacto suficiente para que as CAL sejam adequadamente transformadas. A enzima é depois removida da mistura ou, alternativamente, pode ser simplesmente desactivada. Por exemplo, uma enzima não imobilizada pode ser adicionada directamente ao café, caso em que no final da reacção, a enzima é simplesmente desactivada.

Alternativamente, a enzima pode ser fixa num leito de filtração ou mantida numa coluna e o extracto passa através deles. Com tratamento utilizando enzimas imobilizadas, o processo pode ser descontínuo (e. g., as enzimas são adicionadas, reagem e depois são separadas por filtração) e/ou contínuo (e. g., numa coluna ou num reactor de leito fixo com solução de café a fluir através deles).

A quantidade de enzima utilizada vai depender da preparação enzimática individual, da actividade da enzima e da sua especificidade, mas pode ser prontamente determinada por um especialista na técnica através de experimentação simples.

Para esterase de fígado de suíno, por exemplo, a quantidade deve estar, de um modo preferido, dentro da gama de 0,005 U/mg a 100 U/mg de matéria seca no extracto de café, de um modo mais preferido, de 0,007 a 50 U/mg, de um modo muito preferido, de 0,01 a 10 U/mg, e. g., 0,2 a 1 U/mg.

A temperatura à qual deve ocorrer a reacção enzimática está, de um modo preferido, dentro da gama de 10 a 80 °C, de um modo mais preferido, de 20 a 60 °C, de um modo muito preferido, de 30 a 50 °C.

O pH da solução durante a reacção é, de um modo preferido, de 4,0 a 8,0, de um modo mais preferido, de 4,5 a 7,0, de um modo muito preferido, de 5,0 a 6,5.

O tempo de reacção é tipicamente de 1 minuto a 72 horas, de um modo preferido, de 1 hora a 24 horas, de um modo muito preferido, de 1 hora a 4 horas.

A quantidade de extracto seco no café deve, de um modo preferido, situar-se dentro da gama de 1 g/L a 500 g/L, de um modo mais preferido, de 10 g/L a 100 g/L.

### **Tratamento com Sorvente**

Alternativamente e/ou adicionalmente, o produto de acordo com a invenção pode ser preparado fazendo contactar um extracto aquoso de café com um sorvente em certas condições.

#### Sorvente

O sorvente é, de um modo preferido, seleccionado dos que são adequados para retenção de componentes apolares.

Os sorventes particularmente preferidos para utilização no método da presente invenção incluem carvão activado,

poliestireno divinilbenzeno (disponível como XAD4, XAD16, da Supelco), PVPP (disponível como Polyclar, da Sigma) e Eupergit C e C 250L (copolímeros de N,N'-metileno-bis-(metacrilamida), metacrilato de glicidilo, éter alil glicidílico e metacilamida, de Rohm GmbH).

O mais preferido é o XAD16 devido à sua selectividade para compostos apolares e à sua adequação para processamento contínuo.

O sorvente está, pelo menos, parcialmente saturado com ácidos clorogénicos e, opcionalmente cafeína. Isto ajuda a impedir a remoção de ácidos clorogénicos e cafeína do extracto quando passado através do sorvente.

A saturação parcial ou completa pode ser conseguida por pré-saturação do sorvente com os compostos desejados específicos. Alternativamente, dois ou mais lotes de extracto de café sacrificado podem ser passados através do sorvente de modo a saturá-lo com os compostos desejados. Verificou-se que quando se utiliza 2 lotes sacrificiais numa proporção de 1 g de extracto de café para 1 g de sorvente por lote, a absorção de ácidos clorogénicos e cafeína de extractos adicionais é dramaticamente reduzida.

Para que o sorvente possa ser, pelo menos, parcialmente saturado com ácidos clorogénicos e, opcionalmente cafeína, é desejável que o sorvente esteja em forma sólida.

É particularmente preferido que o sorvente seja granulado, embora o sorvente possa estar em forma de gel, presente como uma matriz ou em qualquer outra forma adequada através da qual o

extracto de café pode ser passado.

De um modo preferido, o sorvente granulado tem um tamanho de partícula de 10 a 100, de um modo mais preferido, 20 a 60 mesh (húmido). É desejável que o diâmetro médio do poro seja de 50 a 150, de um modo mais preferido, de 80 a 120 Å. O volume do poro é, de um modo preferido, de 1,4 a 2,2, de um modo mais preferido, de 1,6 a 2,0 mL/g e a área da superfície do sorvente deve ser, de um modo preferido, de 500 a 1300, de um modo mais preferido, de 650 a 950 m<sup>2</sup>/g.

A invenção também proporciona a utilização de um sorvente sólido no tratamento de um extracto de café de modo a reduzir o nível de CAL e assim proporcionar uma composição de café que tem amargo reduzido.

O sorvente sólido é tipicamente proporcionado numa coluna ou outro recipiente adequado através do qual pode ser passado o extracto de café. Embora a natureza do recipiente não seja essencial para a invenção, é importante que o sorvente esteja imobilizado no recipiente. Isto pode ser conseguido, por exemplo, proporcionando uma coluna que tem meios de filtração em ambas as extremidades, tendo os meios de filtração um tamanho de poro mais pequeno do que o diâmetro do sorvente.

Alternativamente, o sorvente pode estar imobilizado num suporte sólido que está localizado dentro do recipiente e pode ser dele retirado. Isto é vantajoso uma vez que permite que o sorvente seja removido, e. g., para substituição quando já não é eficaz e seja introduzido um novo sorvente sem ter de desmontar o recipiente.

## Metodologia

Num primeiro método preferido, um extracto de café é primeiramente preparado por torrefacção e moagem de café em grão para proporcionar um produto moído, seguida por extracção de uma solução de café do produto moído utilizando água.

Em modo descontínuo, uma parte do extracto é depois tratada com uma porção de sorvente sólido, de um modo preferido, numa proporção de 1 g de extracto de café (Tc) para 1 g de sorvente. Após agitação, o extracto de café é separado por filtração e o sorvente recuperado utilizado para o tratamento de outra porção de extracto do mesmo modo. Este processo é repetido várias vezes até o sorvente estar esgotado. É então substituído por uma porção fresca.

Em modo contínuo, o extracto é tratado com um sorvente, de um modo preferido, um sorvente sólido, que está imobilizado num recipiente, de um modo preferido, uma coluna, e. g., uma coluna de vidro ou de aço inoxidável, por passagem do extracto através do recipiente a uma velocidade facilmente determinada por um especialista na técnica. Quando o sorvente fica esgotado, é removido e substituído por uma porção de sorvente fresco.

O extracto de café tratado pode então ser utilizado para a produção de produtos líquidos e/ou sólidos de café de acordo com processos convencionais.

### **Extracção com solvente**

Os produtos de acordo com a invenção também podem ser

preparados por extracção com solvente utilizando um solvente que está, pelo menos, parcialmente saturado com ácido clorogénico e, opcionalmente cafeína.

O solvente é um solvente orgânico imiscível com água e é, de um modo preferido, seleccionado dos que são adequados para extracção de componentes apolares. Os solventes particularmente preferidos incluem hexano, diclorometano, éter dietílico ou acetato de etilo.

O solvente mais preferido é o acetato de etilo devido à sua volatilidade e facilidade de remoção.

A extracção é, de um modo preferido, líquido/líquido (extracto de café/solvente) embora a extracção sólido/líquido (café moído ou café em pó solúvel/solvente) também seja possível.

### Metodologia

Primeiramente é preparado um extracto aquoso de café, tal como descrito acima. Uma porção do extracto aquoso é depois tratada com igual volume de acetato de etilo numa ampola de extracção. Após separação das duas fases líquidas, a fase orgânica parcialmente saturada é reutilizada para uma série de outras porções de extracto de café.

### **Produtos Finais**

O extracto que é tratado utilizando enzimas, sorventes ou

extracção com solvente pode, depois, ser utilizado para fazer uma variedade de diferentes produtos finais. Por exemplo, o extracto tratado pode ser liofilizado ou seco por atomização de modo convencional para formar um produto instantâneo de café solúvel.

Alternativamente, o extracto pode ser utilizado para um concentrado de café líquido ou, por exemplo, uma bebida pronta a beber. Para todas as preparações acima referidas, o produto final de café também pode ser utilizado em combinação com um ou mais outros ingredientes tais como aromas, leite, sucedâneos de nata para café, chicória, cereais e açúcar.

### **Exemplos**

A invenção vai agora ser ilustrada pelos seguintes exemplos não limitativos. As amostras de acordo com a invenção são indicadas por um número e as amostras comparativas por uma letra. Salvo indicação em contrário, todos os valores são em percentagem em peso de matéria seca.

#### **Exemplo 1: Tratamento Enzimático de Café Solúvel**

Grãos de café robusta foram torrados e moídos. Foi então preparado um extracto aquoso por tratamento dos grãos de café moídos a uma temperatura de 110 a 130 °C para extrair um rendimento de cerca de 25% em peso do peso total dos grãos de café moídos. O extracto foi seco por atomização.

15 g de extracto de café seco foram dissolvidos em 500 mL

de água a ferver. Após arrefecimento até à temperatura ambiente, a solução de café (50 mL) foi distribuída em oito balões de 100 mL. Adicionou-se várias quantidades de esterase de fígado de suíno imobilizada (0,2 U/mg de café, 0,5 U/mg de café e 1 U/mg de café) às soluções de café. Os balões foram imersos num banho de água aquecido a 40 °C e foram retiradas amostras após tempos de reacção de 0 h, 2 h e 4 h. As misturas foram filtradas (filtros de 150 mm de diâmetro) para remover a enzima e as soluções de café obtidas foram diluídas para 1,3% de sólidos totais para análise sensorial.

#### Análise das amostras

As amostras de café foram preparadas a 1% de sólidos totais em MeOH a 70% e filtradas através de filtros de seringa com tamanho de poro de 0,45 µm (Millipore SLHA 025 BS). Os ácidos clorogénicos, lactonas e cafeína foram quantificados por HPLC. A análise foi realizada utilizando um sistema integrado Agilent-1100 incluindo bomba binária, amostrador automático, forno da coluna, detector UV (Agilent, Palo Alto, CA) e um espectrómetro de massa em série Q-Trap (AB/MDS Sciex, Concord, Canadá). Soluções a 1% de sólidos totais (5 µL) foram injectadas numa coluna CC 250/4 Nucleosil 100-5-C18 (Macherey-Nagel, Oensingen, Suíça). O sistema eluente foi água Millipore, TFA a 0,1% e CH<sub>3</sub>CN ou água Millipore, HCOOH a 0,1% e MeOH a 1 mL/min. Utilizou-se curvas de calibração externas com padrões disponíveis comercialmente ou sintéticos na gama de 10-200 µg/mL para quantificar os compostos individuais. Os resultados estão apresentados na tabela a seguir.

Tabela 2: Amostras tratadas com enzima

<b>Amostra</b>	<b>Enzima (1)</b>	<b>Tempo (horas)</b>	<b>3CQAL(2)</b>	<b>CQA totais (2)</b>	<b>5CQA: 3CQAL (3)</b>	<b>CQA totais: 3CQAL (3)</b>	<b>cafeína: 3CQAL (3)</b>
A	0	0	100	100	9,4	20	34
B	0	2	98,6	100,6	8,2	17	30
1	0,2	2	47,7	101,2	19	41	70
2	0,5	2	13,5	100,6	59	128	217
3	1	2	2,0	75,6	185	650	1468
C	0	4	95,3	100,2	8,4	18	30
4	0,2	4	23,8	100,3	33	72	123
5	0,5	4	2,7	99,4	286	620	1063
6	1	4	n.d.	76,9	6570	21957	48663

(1) Esterase de fígado de suíno (U/mg de café)

(2) % em peso em relação à quantidade total presente no extracto não tratado

(3) proporção em peso

### Avaliação sensorial

A avaliação de cafés foi realizada com um painel de 6 a 9 membros. Cada participante recebeu as amostras e foi-lhe pedido que as ordenasse quanto ao seu amargo numa escala linear de 0 a 10, em que 0 indica ausência de amargo e 10 indica extremamente amargo. A lavagem entre amostras foi feita com água e um pedaço de maçã descascada. Foi incluído uma pausa de 1 minuto entre cada série de amostras para evitar o arrastamento. A aquisição de dados foi realizada com FIZZ software (Biosystemes, Couternon, França). Calculou-se a

pontuação média do painel para "intensidade do amargo" e foi tratada por Análise de Variância. Este teste permite o cálculo do valor de F (teste de Fischer) e a determinação se existe uma diferença significativa de amargo entre amostras. Os resultados estão apresentados na tabela seguinte.

Tabela 3: Resultados sensoriais para amostras tratadas enzimaticamente

<b>Amostra</b>	<b>Café</b>	<b>Esterase de fígado de suíno (U/mg)</b>	<b>Tempo (h)</b>	<b>Intensidade do amargo (pontuação média do painel)</b>
A	50 mL, 3% de sólidos totais	0	0	8,0
B	50 mL, 3% de sólidos totais	0	2	n.d.
1	50 mL, 3% de sólidos totais	0,2	2	4,3
2	50 mL, 3% de sólidos totais	0,5	2	n.d.
3	50 mL, 3% de sólidos totais	1	2	3,3
C	50 mL, 3% de sólidos totais	0	4	n.d.
4	50 mL, 3% de sólidos totais	0,2	4	5,5
5	50 mL, 3% de sólidos totais	0,5	4	4,2
6	50 mL, 3% de sólidos totais	1	4	4,0

n.d. indica não determinado

Os resultados demonstram que todas as amostras tratada com enzima obtiveram pontuações de amargo significativamente mais baixas do que a amostra de referência (teste F,  $P < 0,05$ ).

### **Exemplo 2: Tratamento com sorventes**

O extracto de café Robusta foi obtido como descrito no exemplo 1.

#### Método 1 (amostras 7 a 14)

3 g de Polyclar/PVPP (de Sigma) ou 3 g de carvão activado (Norit C granulado) ou 3 g de XAD4 ou XAD16 (ambas de Supelco) foram adicionados a 3 g do extracto de Robusta em 200 mL de água Millipore. A suspensão foi agitada à temperatura ambiente durante 2,5 h e filtrada em papel de filtro (+Celite no caso do carvão activado). O sorvente recuperado e parcialmente saturado foi utilizado para mais dois lotes consecutivos de café fresco do mesmo modo. Os filtrados foram liofilizados num aparelho Virtis Benchtop K.

#### Método 2 (amostra 15)

O tratamento contínuo em XAD 16 (30 g, coluna com 2 cm de diâmetro interno x 20 cm de altura) foi realizado como se segue. O sorvente foi suspenso em água e lavado com água, etanol e de novo água e depois cheio na coluna. O extracto de café, 1,5% de sólidos totais, foi continuamente eluído através dela. Foram recolhidas fracções de 200 mL a um caudal de 20 mL/min e

liofilizadas tal como descrito acima.

### Análise das amostras

As amostras foram analisadas por HPLC como descrito acima. Os resultados estão apresentados a seguir.

Tabela 4: Tratamento em fase sólida com sorventes frescos e parcialmente saturados.

<b>Amostra</b>	<b>Sorvente (1)</b>	<b>Ciclo (2)</b>	<b>Rendi- mento total (3)</b>	<b>CQA total (3)</b>	<b>Cafeína (3)</b>	<b>5CQA: 3CQAL (4)</b>	<b>CQA totais: 3CQAL (4)</b>	<b>cafeína: 3CQAL (4)</b>
7	P	1	75	81	83	36	76	142
8	P	3	86	95	91	21	45	78
9	C	1	53	43	16	83	185	121
10	C	3	77	86	74	23	50	78
11	XAD16	1	75	90	59	22	48	58
12	XAD16	3	84	93	90	7,6	16	28
13	XAD4	1	82	88	54	16	35	40
14	XAD4	3	91	98	91	11	24	40
15	XAD16	9	91	119	99	30	62	100
D	Nenhum	Nenhum	100	100	100	9	20	34

(1) P significa Polyclar, C significa carvão activado, XAD4/XAD 16 significa poliestireno divinilbenzeno

(2) Ciclo "1" indica que o sorvente é fresco, Ciclo "3" indica que o sorvente está parcialmente saturado (tendo 2 lotes de extracto passado já através do sorvente, com a determinação realizada no terceiro lote).

(3) % em peso em relação à quantidade total presente no extracto não tratado.

(4) proporção em peso

### Avaliação sensorial

A avaliação das fracções de café foi realizada como descrito acima. Os resultados estão apresentados nas tabelas seguintes.

Tabela 5: Resultados sensoriais para tratamentos de acordo com o Método 1

<b>Amostra</b>	<b>Intensidade do amargo (pontuação média do painel)</b>
7	3,3
8	4,7
9	1,8
10	4,0
11	2,0
12	4,1
13	3,0
14	5,1
D	7,0

Tabela 6: Resultados sensoriais para tratamentos de acordo com o Método 2

<b>Amostra</b>	<b>Intensidade do amargo (pontuação média do painel)</b>
15	2,6
D	5,4

Os resultados demonstram que todas as amostras tratadas com sorvente obtiveram pontuações de amargo significativamente menores do que a amostra de referência (teste F,  $P < 0,05$ ).

### **Exemplo 3: Extração com solvente**

Extracto de café Robusta foi obtido, tal como descrito no exemplo 1. 3 g de extracto de Robusta dissolvido em 200 mL de água Millipore foram extraídos com 200 mL de acetato de etilo. O extracto orgânico foi utilizado para tratar um segundo lote de extracto de café fresco (3 g em 200 mL) e o passo dois foi novamente repetido duas vezes. Os extractos de café resultantes foram separadamente destilados com etanol (3 vezes cada) e finalmente secos por atomização.

### Avaliação sensorial/analítica

A avaliação sensorial/analítica de fracções de café foi realizada como descrito acima. Os resultados estão apresentados na tabela seguinte.

Tabela 7: extracção líquido/líquido com acetato de etilo  
parcialmente saturado

<b>Amostra</b>	<b>Ciclos (1)</b>	<b>Rendimento a partir do extracto (2)</b>	<b>Pontuação sensorial (3)</b>	<b>5CQA: 3CQAL (4)</b>	<b>CQA totais: 3CQAL (4)</b>	<b>cafeína: 3CQAL (4)</b>
16	1	72	2,9	132	279	308
17	4	97	5,4	34	73	127
D	0	100	7,0	9	20	34

(1) Ciclo "1" indica que o solvente é fresco; ciclo "4" indica que o solvente está parcialmente saturado (tendo sido previamente extraídos 3 lotes de extracto)

(2) % em peso em relação à quantidade total presente no extracto não tratado

(3) Intensidade do amargo (pontuação média do painel)

(4) proporção em peso

Os resultados demonstram que todas as amostras tratadas com solvente obtiveram pontuações de amargo significativamente mais baixas do que a amostra de referência (teste F,  $P < 0,05$ ).

Embora a invenção tenha sido descrita com referência a formas de realização específicas, esta descrição não é para ser entendida num sentido limitado. Várias modificações das formas de realização divulgadas, bem como formas de realização alternativas das invenções tornar-se-ão evidentes para especialistas na técnica por referência à descrição da invenção. Está, portanto, contemplado que as reivindicações anexas vão abranger as modificações que estão dentro do âmbito da invenção.

Lisboa, 28 de Outubro de 2009

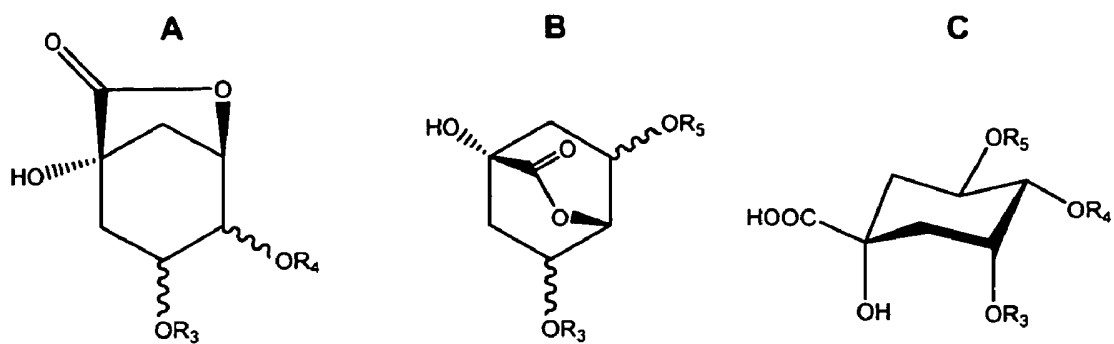
## REIVINDICAÇÕES

1. Produto de café, derivado de café em grão, torrado e moído, em que a proporção em peso de ácido 5-O-cafeoil-D-quínico (5CQA) para lactona do ácido 3-O-cafeoil-D-quínico (3CQAL) no produto está dentro da gama de 12:1 a 1000000:1.
2. Produto de café de acordo com a reivindicação 1, em que a proporção em peso de 5CQA para 3CQAL está dentro da gama de 15:1 a 75000:1.
3. Produto de café de acordo com a reivindicação 1 em que a proporção em peso de 5CQA para 3CQAL está dentro da gama de 50:1 a 25000:1.
4. Produto de café, derivado de café em grão, torrado e moído, em que a proporção em peso de ácidos clorogénicos (CQA) totais para 3CQAL está dentro da gama de 22:1 a 1000000:1.
5. Produto de café como reivindicado na reivindicação 4, em que a proporção em peso de CQA totais para 3CQAL está dentro da gama de 30:1 a 750000:1.
6. Produto de café como reivindicado na reivindicação 4, em que a proporção em peso de CQA totais para 3CQAL está dentro da gama de 50:1 a 500000:1.
7. Produto de café como reivindicado na reivindicação 4, em que a proporção em peso de CQA totais para 3CQAL está dentro da gama de 75:1 a 250000:1.

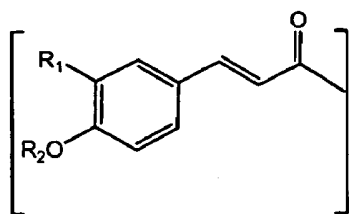
8. Produto de café como reivindicado na reivindicação 4, em que a proporção em peso de CQA totais para 3 CQAL está dentro da gama de 100:1 a 100000:1.
9. Produto de café como reivindicado em qualquer das reivindicações anteriores, em que a quantidade de sal de potássio presente é 10% em peso ou menos, com base no peso total de matéria seca do produto.
10. Produto de café como reivindicado em qualquer das reivindicações anteriores que pode ser obtido por tratamento de um extracto de café com uma enzima.
11. Produto de café como reivindicado na reivindicação 10, em que a enzima é uma hidrolase.
12. Produto de café como reivindicado na reivindicação 11, em que a hidrolase é uma esterase.
13. Produto de café como reivindicado na reivindicação 12, em que a esterase é esterase de fígado de suíno ou esterase de fígado de porco.
14. Método de preparação de um produto líquido de café que tem um teor reduzido de lactonas de ácidos clorogénicos compreendendo o passo de:
  - (i) tratamento de um extracto de café com uma enzima de modo a hidrolisar uma porção das lactonas de ácidos clorogénicos presentes no extracto.

15. Processo como reivindicado na reivindicação 14, em que a enzima é uma esterase, de um modo preferido, de fígado de suíno ou esterase de fígado de porco.
  
16. Utilização de uma enzima no tratamento de um produto de café, tal como um extracto de café, para reduzir o amargo de uma bebida de café, em que a enzima reduz selectivamente a quantidade de lactonas de ácidos clorogénicos presentes de forma preferida em relação aos ácidos clorogénicos.

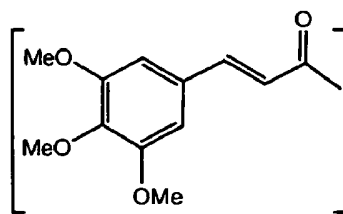
Lisboa, 28 de Outubro de 2009



R3, R4, R5 grupos acilo



R1=H, R2=H      Cumaroilo  
 R1=OH, R2=H    Cafeoilo  
 R1=OMe, R2=H    Feruloilo  
 R1=OMe, R2=Me   Dimetoxicinamoilo



Sinapoilo

Figura 1

## RESUMO

### "PRODUTO DE CAFÉ SOLÚVEL"

Um produto de café derivado de café em grão, torrado e moído, tem níveis reduzidos de lactonas de ácidos clorogénicos em relação aos níveis de ácidos clorogénicos. O produto pode ser preparado por tratamento de um extracto de café com uma enzima, de modo a hidrolisar, pelo menos, uma parte das lactonas de ácidos clorogénicos presentes no extracto. Alternativamente ou adicionalmente, pode ser proporcionado fazendo contactar um extracto de café com um sorvente ou solvente que é adequado para remoção de componentes apolares e está, pelo menos, parcialmente saturado com ácido clorogénico. O produto tem amargo reduzido.