

DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE PRECURSORES DE SEROTONINA – TRIPTOFANO E 5-HIDROXITRIPTOFANO – EM CAFÉ

Ana Carolina C. L. Martins, Tarliane M. Silva e M. Beatriz A. Gloria*

Departamento de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte - MG, Brasil

Recebido em 24/2/09; aceito em 15/8/09; publicado na web em 11/1/10

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF SEROTONIN PRECURSORS – TRYPTOPHAN AND 5-HIDROXYTRYPTOPHAN – IN COFFEE. Epidemiological studies attributed positive effects in the central nervous system (CNS) to coffee. Among possible active constituents, serotonin, a neurotransmitter in the CNS, is present; but dietary sources do not cross the blood-brain barrier. Tryptophan and 5-hydroxytryptophan (5-HTP) are serotonin precursors and can affect brain concentrations. An ion-pair-HPLC, post-column derivatization with *o*-phthalaldehyde and fluorimetric detection before and after hydrolysis with NaOH and extraction with methanol:water was developed for the simultaneous determination of these compounds. It was selective, sensitive (LOD = 0.3 and 0.2 µg/mL), precise (91.3 and 94.2% recovery for tryptophan and 5-HTP, respectively), and linear from 0.3 to 40 µg/mL for both compounds. It was applied to green and roasted arabica and robusta coffees.

Keywords: coffee; serotonin; tryptophan.

INTRODUÇÃO

O café possui grande importância socioeconômica por ser o segundo produto agrícola mais comercializado no mundo, e por representar importante fonte financeira para os países em desenvolvimento, envolvendo um grande número de pessoas em sua cadeia produtiva.¹ Atualmente, muitos estudos epidemiológicos têm demonstrado que o café possui diversas propriedades funcionais. Dentre outros, têm sido encontrados efeitos benéficos em relação ao sistema nervoso central (SNC), como associações com menor risco de suicídio,² diminuição da incidência do mal de Parkinson,³ prevenção da depressão⁴ e diminuição do consumo de álcool e cigarros.^{4,5} A maioria destes estudos associa os efeitos do café à cafeína. No entanto, o café possui mais de 200 compostos. Dentre estes, sabe-se que a serotonina é um neurotransmissor do SNC.^{6,7}

A serotonina está presente no trato gastrointestinal, nas plaquetas, e no SNC. Neste último, atua como neurotransmissor envolvido no controle do apetite, sono, humor, alucinações, comportamento estereotipado e percepção da dor, entre outros.⁶ Este composto está presente nos grãos de café,⁷ mas não pode influenciar a concentração cerebral, pois além de não ultrapassar a barreira hemato-encefálica,⁸ a maior parte é metabolizada antes de entrar na corrente sanguínea.⁹

O aminoácido triptofano e o 5-hidroxitriptofano são precursores da serotonina (Figura 1), além de exercerem outras funções relevantes no organismo. Estes compostos são escassos na dieta e, em altos níveis, podem influenciar a síntese de serotonina cerebral. O alto conteúdo de triptofano livre (não ligado à proteína), mais facilmente absorvido, poderia ter o efeito de aumentar a viabilidade deste aminoácido ao cérebro.¹⁰ O 5-hidroxitriptofano (5-HTP) tem se mostrado efetivo como suplemento dietético, e tem como vantagem sobre o triptofano o fato de sua absorção intestinal não requerer a presença de transportador e não ser afetada pela presença de outros aminoácidos.⁹

Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos para encontrar a melhor forma de determinar triptofano. Entretanto, a cromatografia

líquida de alta eficiência (CLAE) é o método mais utilizado. O triptofano livre pode ser extraído por extração em fase sólida,^{11,12} com água e tampão,¹⁰ e em condições moderadamente ácidas com HCl 0,1 mol/L.¹³ A separação do triptofano é mais comumente realizada por CLAE de fase reversa^{11,12,14-17} e a detecção tem sido realizada por absorção na região ultravioleta^{12,14,16} ou por fluorescência.^{10,11,13,15,17,18} As matrizes avaliadas nestes estudos foram quinoa e outros cereais, mosto e vinho, fórmulas infantis, leite e derivados.



Figura 1. Estruturas químicas do triptofano, 5-hidroxitriptofano e serotonina

A extração de 5-HTP é comumente realizada utilizando-se acetônitrila ou metanol aquosos,¹⁹⁻²¹ ou troca catiônica.²² A separação do 5-HTP pode ser realizada por eletroforese capilar^{20,23} ou por CLAE de fase reversa.^{15,19,21,22,24} O 5-HTP é frequentemente detectado por absorção no ultravioleta,^{19,24} fluorescência²³ ou espectrometria de massas.²¹ As matrizes avaliadas nestes estudos foram sementes de *Griffonia simplicifolia* e tecidos biológicos.

São escassos os dados sobre triptofano no café e em alimentos em geral, pelo fato dos métodos mais utilizados para a análise de aminoácidos fazerem uso de hidrólise ácida, a qual destrói o triptofano.¹⁰⁻¹³ Além disto, seria interessante poder avaliar simultaneamente os compostos capazes de afetar a síntese de serotonina no SNC.

Visando fornecer subsídios para a elucidação dos efeitos do café no SNC, este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método para determinação simultânea dos precursores de serotonina - triptofano e 5-hidroxitriptofano. O método desenvolvido foi aplicado a amostras de cafés crus e torrados das duas variedades de maior relevância econômica no Brasil - arábica e robusta.

*e-mail: mbeatriz@ufmg.br

PARTE EXPERIMENTAL

Material

Aquisição e preparo das amostras de café

Grãos de café das espécies *Coffea arabica* L. (arábica) e *Coffea canephora* cv. Robusta (robusta) foram fornecidos pela Incofex Armazéns Gerais Ltda., Viçosa, MG.

As amostras de cafés crus arábica e robusta foram submetidas à torração média - 170 °C/15 min - em torrador comercial com corrente de ar (i-Roast 2, modelo 40001, Hearthware, Gurnee, IL, EUA), em três repetições feitas em dias consecutivos.

Previamente à realização das análises, as amostras foram moídas a 20 mesh em um misturador (modelo MAGC, Arno, São Paulo, SP, Brasil) e armazenadas em recipientes plásticos sob atmosfera de nitrogênio a 6 °C, protegidas da luz para minimizar a oxidação do triptofano.

Ainda, antes de cada processo de extração, as amostras foram desengorduradas.¹⁰ Para tal, 5 g de café foram suspensas em 10 mL (café verde) ou 20 mL (café torrado) de acetona e agitadas por 30 min em mesa agitadora (modelo TE-140, Tecnal, Piracicaba, SP). A amostra foi centrifugada (modelo CR 3i, Jouan, St-Herblain, França) a 8422 x g por 10 min a 0 °C e a camada orgânica removida. Este procedimento foi repetido com o resíduo.

Instrumentação e condições cromatográficas

As análises foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência da Shimadzu (Kyoto, Japão) composto por três bombas modelo LC-10 AD e LC-10 ADVP, com injetor automático modelo SIL-10 ADVP (volume de injeção de 20 µL), detector espectrofluorimétrico modelo RF-10AXL, forno CTO10ASVP a 21 ± 1 °C e uma unidade de controle CBM-20 A conectada a um microcomputador.

O sistema de derivação pós-coluna foi montado com câmara de mistura (volume morto igual a zero) instalada entre a saída da coluna, a bomba LC-10AD com a solução derivante e o detector. Foi necessário um tubo de teflon (sob abrigo da luz) de 0,25 mm de diâmetro e 2,0 m de comprimento para otimização da reação de derivação. A solução derivante foi preparada dissolvendo-se 25 g de ácido bórico e 22 g de hidróxido de potássio em 500 mL de água ultra pura, pH ajustado para 10,5 com hidróxido de potássio. A esta solução foram adicionados 0,2 g de *o*-ftalaldeído dissolvido em 3,0 mL de metanol, 1,5 mL de Brij 35 (éter dodecil-polioxiétilenoglicol) e 1,5 mL de mercaptoetanol. A solução derivante foi bombeada a um fluxo de 0,4 mL/min. O espectrofluorímetro foi operado a 340 nm de excitação e 445 nm de emissão.^{7,25} O software de gerenciamento do equipamento foi o LC Solution da Shimadzu (Kyoto, Japão).

Reagentes e padrões

Os reagentes utilizados foram de grau analítico, exceto os solventes utilizados para a CLAE, acetonitrila e metanol, que eram de grau cromatográfico. A água ultrapura foi obtida do Sistema Milli-Q Plus (Millipore Corp., Milford, MA, EUA). Os padrões de triptofano e 5-hidroxitriptofano (99% de pureza) foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). O reagente de derivação *o*-ftalaldeído foi adquirido da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA) e o Brij 35 (éter dodecil-polioxiétilenoglicol) e o mercaptoetanol foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha).

Desenvolvimento de método por CLAE para a separação dos precursores de serotonina

Depois de cuidadosa investigação na literatura sobre os métodos disponíveis para a determinação individual de triptofano e 5-HTP por CLAE, optou-se por utilizar como base o método de Cirilo *et al.*⁷

Este consiste na utilização de coluna C18, fase móvel constituída de: A - tampão acetato contendo o par iônico octanossulfonato de sódio, pH 4,9; e B - acetonitrila; e sistema de derivação pós-coluna com *o*-ftalaldeído e detecção fluorimétrica.

As condições de trabalho para a melhor resolução dos picos de triptofano e 5-HTP foram testadas quanto ao tipo de gradiente, fluxo da fase móvel e ao tempo de duração da análise. Para tal, foram utilizadas soluções padrão de triptofano e 5-HTP em 50% metanol e amostras de café cru e torrado adicionadas de soluções padrão.

Extração simultânea de triptofano não proteico e 5-HTP

Quatro diferentes procedimentos para extração simultânea de triptofano livre e 5-HTP de amostras de café cru foram comparados, utilizando-se: (i) água e tampão fosfato de potássio 0,1 M;¹⁰ (ii) acetonitrila a 7%;²¹ (iii) metanol a 50%;¹⁹ e (iv) HCl 0,1 mol/L.¹³ Estes métodos foram comparados quanto à eficiência na recuperação dos analitos de interesse, utilizando-se amostras de café fortificadas com quantidades conhecidas (0,8 e 2 mg) dos compostos em 5 g de café.

O método de extração simultânea de triptofano e 5-HTP que apresentou melhor resultado foi avaliado quanto ao de tempo de agitação e ao número de extrações sucessivas.

Hidrólise alcalina para obtenção de triptofano proteico

A hidrólise para a obtenção do triptofano total das amostras foi realizada²⁶ após se desengordurar a amostra. Esta foi adicionada de NaOH 4,2 N e deixada em estufa a 110 °C/20 h. Depois de resfriada à temperatura ambiente, o pH da solução foi ajustado para 4,25 com HCl e o volume completado a 25 mL com água destilada. A solução foi centrifugada a 8422 x g por 15 min e o sobrenadante filtrado em papel Whatman nº 1.

Validação do método

Os parâmetros de validação avaliados incluíram: seletividade, limite de detecção do equipamento e do método, limite de quantificação do método, linearidade, exatidão e precisão.^{27,28} Como não havia amostra de café sem triptofano, amostras adicionadas de 0 (controle), 1 e 3 mg de padrão por 100 g de amostra de café foram utilizadas no cálculo da recuperação, diminuindo-se os teores presentes nas amostras controle dos valores encontrados nas amostras adicionadas. Foi também investigada a estabilidade da solução padrão durante armazenamento em recipientes escuros, sob N₂ e a -23 °C.

Aplicação do método desenvolvido em amostras de café cru e torrado

As amostras de cafés crus e torrados foram avaliadas quanto aos teores de triptofano total, triptofano livre e 5-HTP. O método utilizado foi o desenvolvido e validado neste estudo. Os teores de triptofano livre e total foram determinados antes e após hidrólise alcalina das amostras desengorduradas. Os teores de triptofano proteico foram determinados por diferença entre os teores de triptofano total e livre. As análises foram feitas em triplicata.

As amostras foram analisadas quanto ao teor de umidade por secagem em estufa a 102 ± 2 °C até peso constante.²⁹ Este foi utilizado para calcular os teores dos analitos em base seca. Foi também determinado o teor de proteína total das amostras, utilizando-se o método de Micro-Kjeldahl.²⁶ Os teores de triptofano proteico foram também expressos por g de proteína.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (*one way* e *two way* ANOVA) e as médias foram comparadas pelo

teste de Tukey ($p < 0,05$). A linearidade da resposta do detector foi avaliada por regressão linear, utilizando-se o método estatístico dos Mínimos Quadrados ($p < 0,01$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Método cromatográfico para a separação de triptofano e 5-HTP

Após diversas tentativas na obtenção das melhores condições cromatográficas, foram adotadas as seguintes condições operacionais: coluna C18 em fase reversa (μ Bondapak C18; 300 x 3,9 mm, 10 μ m), fase móvel constituída de: A – tampão acetato 0,2 mol/L contendo octanosulfonato de sódio 15 mmol/L e pH 4,9 e B – acetonitrila.

As condições de trabalho para se obter uma melhor resolução dos picos de 5-HTP e triptofano em soluções padrão foram obtidas em fluxo de 0,8 mL/min com sistema em gradiente de eluição (Tabela 1) e corrida cromatográfica de 45 min. Os respectivos tempos de retenção para os analitos de interesse foram aproximadamente 15 e 22 min, para o 5-HTP e triptofano (Figura 2). Deve-se ressaltar que, apesar do último analito eluir aos 22 min, foram necessários 35 min para eluição de todos os interferentes e um período de estabilização adicional de 10 min, o que é típico em análises com par-iônico.²⁵

Tabela 1. Gradiente para a quantificação simultânea de 5-HTP e triptofano livre por CLAE

| Tempo (min) | Gradiente de eluição | |
|-------------|----------------------|-------|
| | A (%) | B (%) |
| 0,01 | 98 | 2 |
| 1 | 99 | 1 |
| 9 | 99 | 1 |
| 10 | 83 | 17 |
| 11 | 98 | 2 |
| 12 | 98 | 2 |
| 13 | 87 | 13 |
| 14 | 98 | 2 |
| 18 | 98 | 2 |
| 22 | 70 | 30 |
| 32 | 70 | 30 |
| 35 | 98 | 2 |
| 45 | 98 | 2 |

A - tampão acetato 0,2 mol/L contendo octanosulfonato de sódio 15 mmol/L, pH 4,9 e B – acetonitrila.

Método para extração simultânea de 5-HTP e triptofano

Na Tabela 2 estão apresentados os percentuais de recuperação obtidos para o 5-HTP e para o triptofano, em amostras fortificadas com duas quantidades diferentes dos padrões, utilizando os quatro diferentes métodos de extração. O método mais eficiente para a extração simultânea de 5-HTP e triptofano livre foi o que utiliza como solvente extrator o metanol 50% (teste de Tukey, $p < 0,05$). Para maior recuperação dos analitos, as amostras foram agitadas por 10 min e a extração realizada em duas etapas (dados não apresentados).

Validação do método

No processo de validação do método, com relação à seletividade, os cromatogramas foram avaliados quanto à presença de compostos interferentes, resolução dos picos e concordância nos tempos de retenção dos compostos nas soluções padrão e nas amostras adicionadas de padrão.

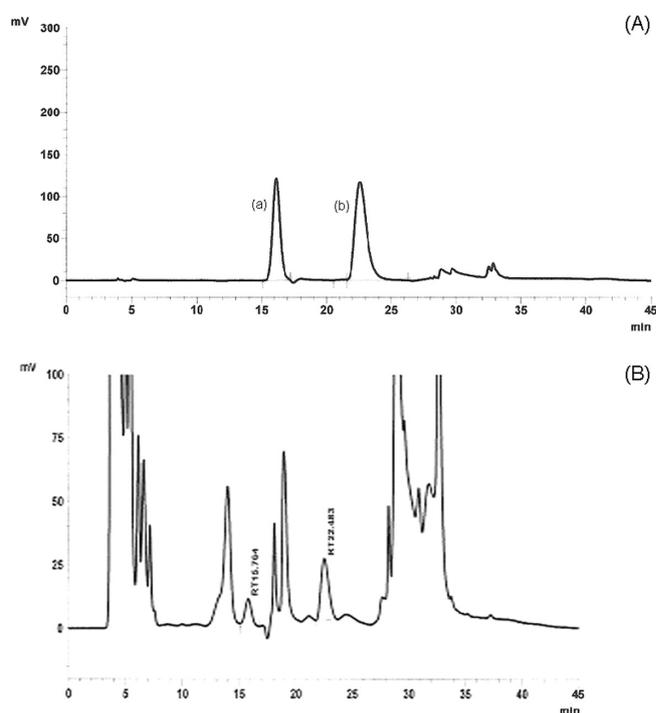


Figura 2. Perfil cromatográfico da separação e detecção por fluorescência de (a) 5-HTP e (b) triptofano em (A) solução padrão e (B) amostra de café arábica adicionada de padrões. (CLAE-par iônico em μ Bondapak C18; gradiente de eluição de A - tampão acetato 0,2 mol/L com octanosulfonato de sódio 15 mmol e pH 4,9 e B – acetonitrila; derivação pós-coluna com o-falaldeído e detecção fluorimétrica a 340 nm de excitação e 445 nm de emissão)

Tabela 2. Percentuais de recuperação de 5-HTP e de triptofano livre de amostras de café cru obtidos por diferentes métodos de extração

| Extratores | Quantidade (mg) adicionadas de | | | |
|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | 5-HTP | | triptofano | |
| | 0,8 | 2,0 | 0,8 | 2,0 |
| Água + tampão fosfato de potássio | 13,5 \pm 2,1 ^c | 12,7 \pm 1,9 ^d | 67,1 \pm 9,6 ^a | 62,1 \pm 7,7 ^b |
| Acetonitrila 7% | 26,4 \pm 8,6 ^c | 20,6 \pm 2,9 ^c | 78,6 \pm 13,6 ^a | 81,4 \pm 8,1 ^a |
| Metanol 50% | 74,6 \pm 9,2 ^a | 69,4 \pm 5,5 ^a | 74,3 \pm 10,4 ^a | 67,6 \pm 2,7 ^b |
| HCl 0,1 N | 59,4 \pm 9,9 ^b | 59,6 \pm 4,1 ^b | 63,4 \pm 8,4 ^a | 59,8 \pm 3,3 ^b |

*Valores médios (\pm desvio padrão) com letras diferentes em uma mesma coluna são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

Observou-se que o método produziu respostas para vários analitos presentes na amostra. Todos estes continham grupamentos amino capazes de reagir com o *o*-ftalaldeído e emitir fluorescência sob excitação a 340 nm.⁷ Apesar disto, os picos de 5-HTP e triptofano puderam ser distinguidos entre si e dos interferentes, mostrando boa resolução. Houve concordância dos tempos de retenção destes compostos com os das soluções padrão, que foi ainda confirmado pelo aumento da área do pico suspeito quando da adição do padrão à amostra.

O limite de detecção do equipamento, segundo Eurachem,²⁸ tanto para o triptofano quanto para o 5-HTP foi de 0,3 µg/mL, e o limite de detecção do método para o 5-HTP foi de 0,2 mg/100 g. Não foi possível estabelecer o limite de detecção do método para o triptofano por não se dispor de matriz similar ao café desprovida deste composto. O limite de quantificação do método para o 5-HTP foi de 0,3 mg/100 g por apresentar recuperação de 109,6% e coeficiente de variação (CV) de 6,3%, valores descritos como aceitáveis pelo Codex²⁶ (recuperação de 80 a 110% e CV de até 15% para analitos em teores maiores que 0,01 mg/100 g). Os percentuais de recuperação e o limite de quantificação obtidos para o triptofano são similares ao descrito para café.²⁹

A linearidade da resposta do detector ao 5-HTP e ao triptofano foi verificada por regressão linear utilizando-se o método dos Mínimos Quadrados. A linearidade da resposta do equipamento no intervalo de 0,3 a 40 µg/mL foi verificada em três dias diferentes, conforme apresentado na Tabela 3. O coeficiente de determinação (R^2) foi maior que 0,99 tanto para o 5-HTP quanto para o triptofano.

Tabela 3. Equações das regressões lineares das curvas analíticas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) obtidas para 5-HTP e triptofano em solução de metanol 50% em três dias diferentes

| Dia | 5-HTP | | Triptofano | |
|-----|-----------------------|--------|-----------------------|--------|
| | Equação | R^2 | Equação | R^2 |
| 1 | $y = 118499x - 3054$ | 0,9920 | $y = 178379x - 15014$ | 0,9918 |
| 2 | $y = 134448x - 13183$ | 0,9976 | $y = 228863x + 13573$ | 0,9975 |
| 3 | $y = 142302x - 44618$ | 0,9943 | $y = 220306x + 61906$ | 0,9928 |

n = 6 concentrações e 3 repetições.

A exatidão e precisão do método foram calculadas pela recuperação média e pelos coeficientes de variação, respectivamente, das amostras adicionadas de concentrações conhecidas dos padrões. Foram analisadas amostras adicionadas de três concentrações diferentes em triplicata. Os valores de recuperação e coeficiente de variação obtidos (Tabela 4) estão de acordo com Codex.²⁶

No estudo da estabilidade das soluções padrão, observou-se que a resposta do equipamento às soluções padrão de 5-HTP e triptofano

Tabela 4. Percentuais de recuperação e coeficientes de variação na determinação de 5-HTP e triptofano em amostras de café cru adicionadas de quantidades conhecidas de padrão

| Concentração adicionada (mg/100 g) | Percentual (%) | |
|------------------------------------|----------------|--------------------------|
| | Recuperação | Coefficiente de variação |
| 5-HTP | | |
| 1,0 | 108,5 | 4,7 |
| 2,0 | 94,2 | 3,1 |
| 3,0 | 84,3 | 6,1 |
| Triptofano | | |
| 1,0 | 100,0 | 5,4 |
| 2,0 | 91,3 | 1,8 |
| 3,0 | 88,3 | 4,2 |

permaneceram estáveis por até um mês, quando armazenadas em recipientes plásticos escuros sob atmosfera de nitrogênio a -23 °C.

Aplicação do método para determinação dos teores de 5-HTP e triptofano em café cru e torrado

Os resultados obtidos na determinação dos teores de 5-HTP e triptofano nas amostras de café arábica e robusta cru e torradas (171 °C/15 min) estão indicados na Tabela 5. Foram também apresentados nesta tabela, os teores de umidade e de proteína das amostras.

Com relação ao café cru, houve diferença significativa nos teores de umidade, sendo a do café robusta maior, comparado ao arábica. Entretanto, não foi observada diferença significativa nos teores de proteínas entre estas espécies em base seca. Estes resultados são similares aos descritos na literatura.^{29,30}

Não foi encontrado 5-HTP em nenhuma das espécies de café cru analisadas e também na literatura consultada, sendo este o primeiro estudo investigando a presença de 5-HTP em café. De acordo com Simat & Steinhart³¹, o 5-HTP é um dos produtos da oxidação do triptofano, tanto não-protéico quanto protéico, sendo mais suscetível à oxidação que o triptofano. Além disso, o 5-HTP pode sofrer descarboxilação térmica e formar serotonina.³² Portanto, é possível que tenha ocorrido a formação de 5-HTP durante o processo de torração, e que este tenha sido destruído posteriormente.

Os teores de triptofano livre (não-protéico) nas amostras de café cru estavam presentes em maior concentração no café arábica do que no robusta. Entretanto, estes resultados são discordantes daqueles apresentados na literatura²⁹ que detectaram maiores teores de triptofano não-protéico em café robusta do que em arábica.

No caso do triptofano protéico em cafés crus, teores significativamente maiores foram encontrados na espécie robusta comparado à arábica. Os teores de triptofano total estavam presentes também em maiores concentrações no café robusta cru. Baseado nestes dados, o triptofano protéico contribuiu mais ao teor de triptofano total no café arábica (15%) em comparação ao robusta (2%).

Durante o processo de torração a 171 °C/15 min (torra média), houve diminuição significativa nos teores de umidade; os teores de proteína permaneceram constantes; e houve degradação total do triptofano livre em ambas as espécies. Com relação ao triptofano protéico e triptofano total a perda durante o processo de torrefação foi de ~50% em relação aos teores no café cru.

Vários aminoácidos já foram quantificados em amostras de café.^{29,33} Entretanto, são escassos os trabalhos em que o triptofano foi quantificado, uma vez que este aminoácido é destruído durante a etapa de hidrólise ácida com HCl 6 N, comumente utilizada para análise de aminoácidos.

Os perfis e teores dos aminoácidos livres e totais em cafés podem variar dependendo de diversos fatores como espécie e variedade,^{29,34} grau de maturação,³⁰ tipo de processamento pós-colheita,³⁵ e condições de torração²⁹. Desta forma, estudos são necessários para compreender melhor a influência destes fatores nos teores de aminoácidos livres e protéicos presentes no café.

CONCLUSÃO

Os resultados desse trabalho indicam a validade do uso do método desenvolvido para a determinação dos precursores da serotonina – triptofano e 5-HTP – em café. O método mostrou ser seletivo. O limite de detecção foi de 0,3 µg/mL para triptofano e 5-HTP, e os limites de detecção e quantificação do método para o 5-HTP foram, respectivamente, de 0,2 e 0,3 mg/100 g. O método mostrou ser linear na faixa de 0,3 a 40 µg/mL para quantificação de ambos os compostos, apresentando coeficientes de determinação (R^2) maiores que 0,99. O método também

Tabela 5. Teores médios de 5-HTP e triptofano (livre, total e proteico) em base seca (bs) em amostras de café arábica e robusta cru e torrado

| Componentes | Arábica | | Robusta | |
|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | cru | torrado | cru | torrado |
| Umidade (g/100 g) | 8,65 ± 0,21 ^{bx} | 1,40 ± 0,38 ^y | 10,2 ± 0,16 ^{ax} | 1,45 ± 0,30 ^y |
| Proteína (g/100 g bs) | 13,92 ± 0,98 | 14,26 ± 1,64 | 13,73 ± 0,74 | 14,39 ± 1,27 |
| 5-HTP (mg/100 g) | nd | nd | nd | nd |
| Triptofano livre (mg/100 g bs) | 22,1 ± 1,53 ^{ax} | 0,00 ^y | 3,09 ± 0,10 ^{bx} | 0,00 ^y |
| Triptofano proteico (mg/100 g bs) | 120,8 ± 3,3 ^{bx} | 65,84 ± 15,3 ^y | 154,0 ± 4,5 ^{ax} | 72,80 ± 6,77 ^y |
| Triptofano total (mg/100 g bs) | 142,9 ± 2,9 ^{bx} | 65,84 ± 15,3 ^y | 157,0 ± 4,5 ^{ax} | 72,80 ± 6,77 ^y |
| Triptofano proteico por proteína (mg/g bs) | 8,68 ± 0,46 ^{bx} | 4,62 ± 0,26 ^y | 11,24 ± 0,6 ^{ax} | 5,06 ± 0,38 ^y |

¹ Não detectado (limite de quantificação 0,3 mg/100 g). ² Letras diferentes entre espécies (a,b) e entre cru e torrado (x,y), em uma mesma linha, são significativamente diferentes (*Two way* Anova, teste de Tukey, $p \leq 0,05$).

se mostrou preciso e exato, com valores de recuperação e coeficiente de variação, respectivamente, que variaram de 88,3 a 100% e 1,8 a 5,4% para o triptofano e 84,3 a 108,5% e 3,1 a 6,1% para o 5-HTP. Estudos com amostras de café arábica e robusta cru indicaram a ausência de 5-HTP nas amostras analisadas. Triptofano livre estava presente em maiores concentrações no café arábica e triptofano proteico em café robusta. Ao ser submetido à torração média, houve degradação total do triptofano livre e perda de 50% de triptofano proteico em ambas as espécies.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro ao projeto; à Incofex Armazéns Gerais Ltda pelo fornecimento das amostras de café.

REFERÊNCIAS

- http://www22.sede.embrapa.br/cafe/unidade/historico.htm, acessada em Dezembro 2009.
- Kawachi, I.; Willet, W. C.; Colditz, G. A.; Stampfer, M. J.; Speitzer, F. E.; *Arch. Int. Med.* **1996**, *11*, 521.
- Ross, W. G.; Abbott, R. D.; Petrovitch, H.; Morens, D. M.; Grandinetti, A.; Tung, K.; Tanner, C. M.; Masaki, K. H.; Blanchette, P. L.; Curb, J. D.; Popper, J. S.; White, L. R.; *JAMA* **2000**, *283*, 2674.
- Flores, G. B.; Andrade, F.; Lima, D. R.; *Acta Pharmacol. Sinica* **2000**, *21*, 1059.
- Skog, O. J.; *Acta Sociol.* **2006**, *49*, 287.
- Katzung, B. G.; Julius, D. J. Em *Farmacologia Básica & Clínica*; Katzung, B. G. ed.; Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2002, p. 233.
- Cirilo, M. P. G.; Coelho, A. F. S.; Araújo, C. M.; Gonçalves, F. R. B.; Nogueira, F. D.; Glória, M. B. A.; *Food Chem.* **2003**, *82*, 397.
- Goihl, J.; *Feedstuffs* **2006**, *78*, 12.
- Birdsall, T. C.; *Alternat. Med. Rev.* **1998**, *3*, 271.
- Comai, S.; Bertazzo, A.; Bailoni, L.; Zancato, M.; Costa, C. V. L.; Allegri, G.; *Food Chem.* **2007**, *100*, 1350.
- Mattivi, F.; Vrhovsek, U.; Versini, G.; *J. Chromatogr., A* **1999**, *855*, 227.
- Marklová, E.; Makovic'ková, H.; Krákorova, I.; *J. Chromatogr., A* **2000**, *870*, 289.
- Portugal, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Decreto-Lei n° 214/2001; *Diário da República* 2001, 178 (I-A), 4705.
- Alegría, A.; Barberfi, R.; Farro, R.; Ferreros, M.; Lagarda, M. J.; Lopez, J. C.; *J. Chromatogr., A* **1996**, *721*, 83.
- Presits, P.; Mólnar-Perl, I.; *Chromatogr. Suppl.* **2003**, *57*, 87.
- Yust, M. M.; Pedroche, J.; Girón-Calle, J.; Vioque, J.; Millán, F.; Alaiz, M.; *Food Chem.* **2004**, *85*, 317.
- Delgado-Andrade, C.; Rufián-Henares, J. A.; Jiménez-Pérez, S.; Morales, F. J.; *Food Chem.* **2006**, *98*, 580.
- Chan, K. C.; Muschik, G. M.; Issaq, H. J.; *J. Chromatogr., A* **1995**, *718*, 203.
- Lemaire, P. A.; Adoskaru, R. K.; *Phytochem. Anal.* **2002**, *13*, 333.
- Takagai, Y.; Igarashi, S.; *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 373.
- Koppiseti, G.; Siriki, A.; Sukala, K.; Subbaraju, G. V.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, *549*, 129.
- Kilts, C. D.; Bero, L. A.; *Life Sci.* **1984**, *35*, 87.
- Wise, D. D.; Shear, J. B.; *J. Chromatogr., A* **2006**, *1111*, 153.
- Babu, S. K.; Ramakrishna, T.; Subbaraju, G. V.; *Asian J. Chem.* **2005**, *17*, 506.
- Vale, S.; Gloria, M. B. A.; *J. AOAC Int.* **1997**, *80*, 1006.
- AOAC; *Official methods of analysis*, Association of Official Analytical Chemist: Washington, 2000.
- Codex Alimentarius; *Resíduos de medicamentos veterinários em los alimentos*; 2 ed.; FAO: Roma, 1993, vol. 3.
- Eurachem; *The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics*, EU, 1998.
- Casal, S.; Mendes, E.; Oliveira, M. B. P. P.; Ferreira, M. A.; *Food Chem.* **2005**, *89*, 333.
- Mazzafera, P.; *Food Chem.* **1999**, *64*, 547.
- Simat, T. J.; Steinhart, H.; *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 490.
- Nagatsu, T.; *J. Chromatogr., A* **1991**, *566*, 287.
- Nehring, U. P.; Maier, H. G.; *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1992**, *195*, 39.
- Ludwig, E.; Lipke, U.; Raczek, U.; Jäger, A.; *Eur. Food Res. Technol.* **2000**, *211*, 111.
- Bytof, G.; Knopp, S. E.; Shieberle, P.; Teutsh, I.; Selmar, D.; *Eur. Food Res. Technol.* **2005**, *220*, 245.