

DIFERENCIAÇÃO DE CAFÉ ARÁBICA (*Coffea arabica*) E CONILON (*Coffea canephora*) COM DIFERENTES GRAUS DE TORRA.

Rafael C. E. DIAS¹, Maria Brígida S. SCHOLZ² e Marta T. BENASSI¹ E-mail: martatb@uel.br

¹Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR ²Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, PR.

Resumo:

O elevado valor do café arábica é um atrativo a adição de conilon. Após torra, a avaliação de um único parâmetro não permite discriminação. Entre os compostos relatados como discriminadores estão os ácidos nicotínico e clorogênico (5-ACQ), trigonelina e cafeína e diterpenos como caveol, que apresentam variação entre espécies e sensibilidade diferenciada a torra. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência e a importância dos parâmetros na discriminação das espécies arábica e conilon e misturas (20, 30 e 50 % de adição de conilon ao arábica) trabalhando-se com amostras torradas em diferentes graus (13, 17 e 20% de perda de peso). Foram medidas a absorvância a 620 nm após reações do extrato etéreo com KI (KI620, relacionada à presença de caveol) e teores de ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ e cafeína por CLAE. Foi também avaliada a cor (L* e H*) das amostras. A avaliação dos parâmetros espectrofotométricos e cromatográficos, utilizando Análise de Componentes Principais e Análise de Agrupamentos, permitiu caracterização simultânea de espécies e torras. Os parâmetros cafeína e KI620 foram os mais importantes para discriminação de espécies, e L*, H*, a soma dos teores de ácido nicotínico e trigonelina, e 5-ACQ tiveram maior contribuição para separação entre torras.

Palavras-chave: ácido nicotínico, ácido clorogênico, trigonelina, cafeína, caveol, cor.

DISCRIMINATION BETWEEN ARABICA (*COFFEA ARABICA*) AND ROBUSTA COFFEE (*COFFEA CANEPHORA*) IN DIFFERENT DEGREES OF ROASTING.

Abstract:

Considering the high commercial value of arabica coffee, the addition of robusta is attractive. After roasting, the evaluation of a single parameter does not allow discrimination. Nicotinic and chlorogenic acids (5-CQA), trigonelline and caffeine and diterpenes like kahweol are usually cited as discriminators. These compounds present variation among species and differ on sensibility under roasting conditions. The aim of the work was to evaluate the efficiency and importance of the parameters in the discrimination of arabica and robusta species and blends (20, 30 and 50 % of robusta to arabica) roasted in different degrees (13, 17 and 20% of weight loss). The absorbance at 620 nm of the extract after colour reactions with KI (KI620, related with kahweol) and contents of nicotinic acid, trigonelline, 5-CQA and caffeine by HPLC were studied. Products color (H* and L*) was also evaluated. The application of Principal Component and Cluster Analysis allowed simultaneous discrimination between species and roasting degrees. Caffeine and KI620 were the most important variables for species differentiation. L*, H*, 5-CQA and the sum of trigonelline and nicotinic acid presented the main contribution for separation of coffees roasted in different degrees.

Key words: nicotinic acid, chlorogenic acid, trigonelline, caffeine, kahweol, color.

Introdução

No Estado do Paraná está em estudo a implementação de lei (Lei nº 13.519, Legislação Estadual da Secretaria do Estado do Governo, 08/04/2002) para estabelecer a obrigatoriedade de informação da espécie no rótulo de café. As espécies mais cultivadas mundialmente são *Coffea arabica* e *canephora* (no Brasil, variedade conilon), que diferem consideravelmente no preço, qualidade e aceitabilidade. Os grãos apresentam cor, formato e tamanho diferenciados, porém, após a torra e moagem, não se distinguem as espécies visualmente e, como pertencem ao mesmo gênero, possuem poucas diferenças para detecção da adição de café conilon, de menor valor comercial, ao arábica (GONZÁLEZ *et al.*, 2001).

Diferentes técnicas para discriminação entre espécies vêm sendo estudadas, porém muitas exigem equipamentos sofisticados (TZOUROS *et al.*, 2001) e grande parte dos trabalhos é relativa a grãos verdes (KY *et al.*, 2001; MARTIN *et al.*, 1998; ANDRADE *et al.*, 1998). Para grãos torrados, muitas vezes é empregado apenas um tratamento (ALVES, 2004; CASAL *et al.*, 1998) e poucos autores estudam diferentes graus de torra (CASAL *et al.*, 2000a; DAGLIA *et al.*, 1994a).

Vários compostos têm sido relatados como discriminadores para as espécies arábica e conilon, como trigonelina, ácidos nicotínico e clorogênicos e cafeína, na fração hidrossolúvel (MARTÍN *et al.*, 1998; CASAL *et al.*, 2000b; ALVES, 2004), e na matéria insaponificável, caveol (LAGO, 2001; ALVES, 2004). Os compostos propostos para a diferenciação entre espécies apresentam grande variabilidade e as condições de torra também interferem nos teores. Deve-se considerar, ainda, que esses compostos podem não ser eficientes para discriminação de variedades nacionais, pois seus teores variam em espécies de regiões diferentes, e o grau de torra também é diferenciado, dependendo da preferência local.

Como a avaliação de um só parâmetro não permite discriminação e caracterização adequada das espécies de café, é interessante a quantificação dos compostos por uma técnica analítica multicomponente eficiente como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ e cafeína podem ser analisados simultaneamente (DIAS *et al.*, 2004). A presença de caveol pode ser estimada por espectrofotometria após reação da matéria insaponificável

com iodeto de potássio (ALVES, 2004). Para caracterização da torra tem sido proposto o emprego de parâmetros de cor (MONTEIRO *et al.*, 2002) e da soma da quantidade de ácido nicotínico e trigonelina (DAGLIA *et al.* 1994).

A variabilidade dos compostos entre espécies, associada à influência da intensidade de torra, torna necessária para a análise dos dados a utilização de métodos estatísticos multivariados, como Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise de Agrupamentos (AA), que caracterizam o produto pela combinação dos valores individuais de cada parâmetro (MAEZTU *et al.*, 2001; CASAL *et al.*, 2000b; MARTIN *et al.*, 1998).

Para diferenciação foram medidos teores de ácido nicotínico, cafeína, trigonelina e 5-ACQ por CLAE e absorvância a 620 nm após reação colorimétrica (KI620) e avaliados parâmetros de cor (L^* e H^*). O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência e a importância dos parâmetros na discriminação das espécies arábica e conilon e misturas (20, 30 e 50 % de adição de conilon ao arábica) trabalhando-se com amostras torradas em diferentes graus (13, 17 e 20% de perda de peso).

Material e Métodos

Material

As amostras de café verde de origem conhecida foram obtidas junto ao Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), utilizando-se café arábica da variedade Iapar-59 e conilon. A torra foi feita em um torrador marca Rod-Bel (aquecimento a gás com capacidade para 300 g) com a temperatura variando de 190 a 230°C, de 5 a 10 minutos de acordo com a variedade e o tipo de torra desejado. O controle foi feito por avaliação visual da cor e por medidas de perda de peso. Foram utilizados três níveis de torra, denominados “clara”, correspondente a 13 % de perda de peso da amostra; “média”, 17 % e “escura”, 20 % de perda de peso. Após a torra e moagem, a uma granulometria de 500 nm (peneira ABNT 35), foram feitas as misturas das espécies nas proporções 20, 30, e 50 % de café conilon ao café arábica, para cada torra. As amostras, acondicionadas em sacos plásticos, foram armazenadas em câmara fria à temperatura de, no máximo, 0°C.

Análise de cor

Utilizou-se um colorímetro portátil Minolta CR-10, empregando iluminante CIE D65 colocado num ângulo de 8/d e observador padrão CIE 10°. As amostras de café foram acondicionadas em recipiente plástico de 1 cm de altura e 4 cm de diâmetro. O colorímetro forneceu diretamente os valores de L^* (luminosidade), a^* (componente vermelho-verde) e b^* (componente amarelo-azul). A partir destes dados, calculou-se o valor da tonalidade cromática ($H^* = \arctan(b^*/a^*)$).

Análise espectrofotométrica

Foi utilizado um espectrofotômetro UV-Visível GBC Cintra 20, com faixa de detecção de 190 a 1000 nm e abertura de fenda de 2 nm para as análises espectrofotométricas. As amostras foram submetidas a reação colorimétrica da matéria insaponificável com iodeto de potássio (KI) a partir do proposto por ALVES (2004). A metodologia foi modificada incluindo-se uma etapa final de diluição com água/ácido acético glacial 50% (1/3). Após reação, foi avaliada a absorvância a 620 nm, seguindo o esquema da FIGURA 1. O valor utilizado para a análise dos resultados (KI620) foi a razão entre a absorvância e a massa inicial da amostra em base seca inicialmente submetida ao processo de extração.

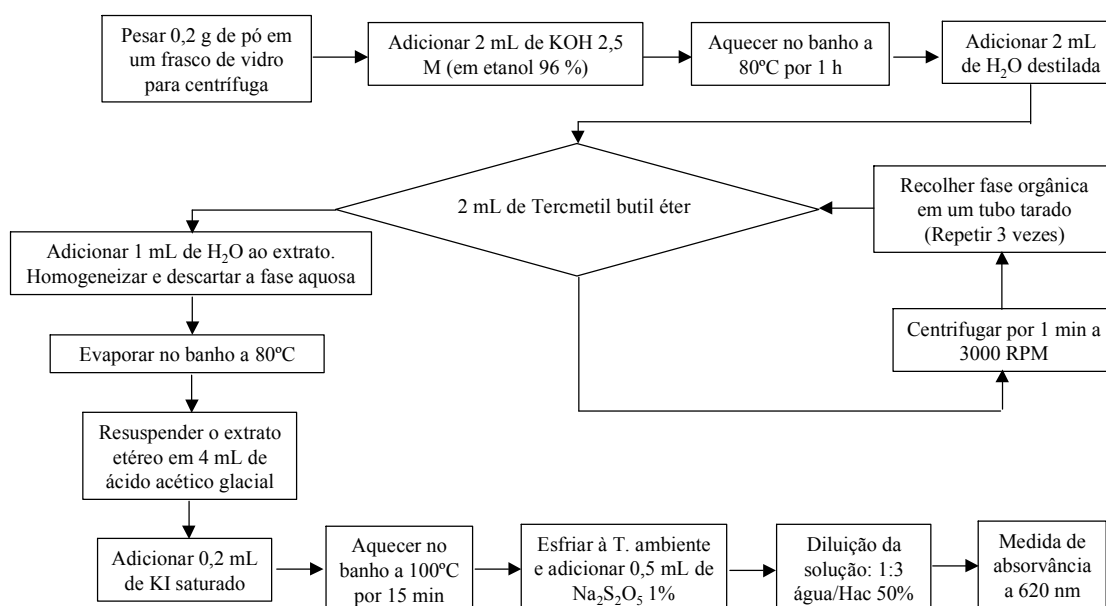


Figura 1: Fluxograma do método espectrofotométrico

Análise Cromatográfica

Utilizou-se um cromatógrafo a líquido Shimadzu, constituído de um sistema de bombeamento de solvente (duas bombas LC10AD) e válvula injetora Rheodyne, com alça de amostragem de 20 µL. O sistema está acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Shimadzu SPD-10A conectado por uma interface (CBM-101) a um microcomputador.

As amostras foram preparadas conforme método descrito por DIAS *et al.* (2004) (FIGURA 2).

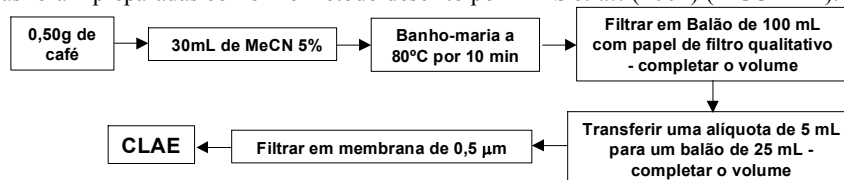


Figura 2: Condições propostas para extração das amostras de café.

Foi empregada metodologia validada por ALVES (2004) e DIAS *et al.* (2004) (Tabela 1). A identificação dos compostos foi feita no cromatógrafo a líquido, com base nos tempos de retenção dos solutos comparados com o do padrão e empregando-se co-cromatografia. A quantificação foi feita por padronização externa, construindo-se as curvas de calibração a partir de seis concentrações em triplicata. Os teores foram calculados em base seca.

Tabela 1. Condições cromatográficas empregadas

Fase Estacionária	Coluna	Spherisorb ODS 1, 250 mm x 4,6 mm, 5 µm, 7 % de substituição, não capeada
		Coluna de guarda de C18, partícula de 5 µm
Fase Móvel	Composição	Ácido acético 5 % (A) e MeCN (B)
	Eluição	Gradiente: 0 a 5' - 5 % B; 10' - 13 % B. Vazão: 0,7 mL/min
Detecção	Programável: 0 a 15' - 272 nm, 15' a 23' - 320 nm e de 23' até final 272 nm. Sensibilidade: 0,008 UA	
Tempo	Corrida: 35 min. Estabilização: 10 min (entre corridas)	
Temperatura	Ambiente (aproximadamente 25°C)	

Análise Estatística

Os parâmetros cromatográficos, espectrofotométricos e de cor foram utilizados para a diferenciação das espécies de café torrado conilon e arábica (Iapar 59) e misturas nas proporções 20, 30 e 50 % de conilon. Foi também estudada a viabilidade do emprego da soma de ácido nicotínico e trigonelina. Foi aplicada estatística Multivariada para a interpretação dos resultados, empregando-se Análise de Componentes Principais e Análise de Agrupamentos. Para isto, foram utilizados os procedimentos “Multivariate Exploratory Techniques” – “Cluster Analysis” e “Principal Components & Classification Analysis”, do programa computacional Statistica 6.0 (STATSOFT, 2004). Os dendogramas foram obtidos por estratégia de agrupamento não-ponderado aos pares e considerando-se a distância euclidiana como coeficiente de semelhança.

Resultados e Discussão

A Figura 3 apresenta um cromatograma típico de café arábica e conilon com diferentes graus de torra.

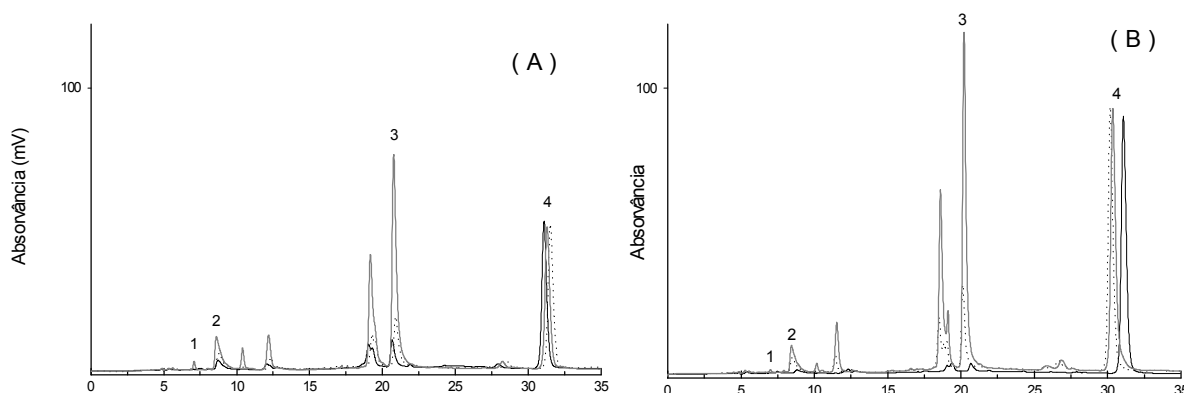


Figura 3.- Cromatogramas de café arábica (A) e conilon (B) comparando-se torras clara (—), média (---) e escura (—). Picos: ac. nicotínico(1), trigonelina(2), 5-ACQ(3), cafeína(4). Condições: TABELA 1.

Para uma avaliação em conjunto da capacidade de discriminação das variáveis obtidas pelas metodologias espectrofotométrica, cromatográfica e parâmetros de cor, empregou-se Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise de Agrupamentos (AA). O melhor resultado foi obtido substituindo-se os parâmetros individuais ácido nicotínico e trigonelina pelo valor da soma. O primeiro ($\lambda \cong 3,811$) e segundo componentes ($\lambda \cong 2,087$) explicaram em conjunto

aproximadamente 98,3 % da variabilidade dos dados (FIGURAS 4 e 5). As equações (1) e (2), obtidas pelos *loadings* ou autovalores das CPs, geraram as coordenadas (escores) do gráfico de componente principal (FIGURA 4-a).

$$CP1 = -0,840 \text{ SOMA} - 0,993 \text{ L} - 0,988 \text{ H} + 0,348 \text{ KI620} - 0,945 \text{ CLOR} - 0,358 \text{ CAF} \quad (1)$$

$$CP2 = -0,534 \text{ SOMA} + 0,001 \text{ L} + 0,067 \text{ H} - 0,925 \text{ KI620} - 0,288 \text{ CLOR} + 0,927 \text{ CAF} \quad (2)$$

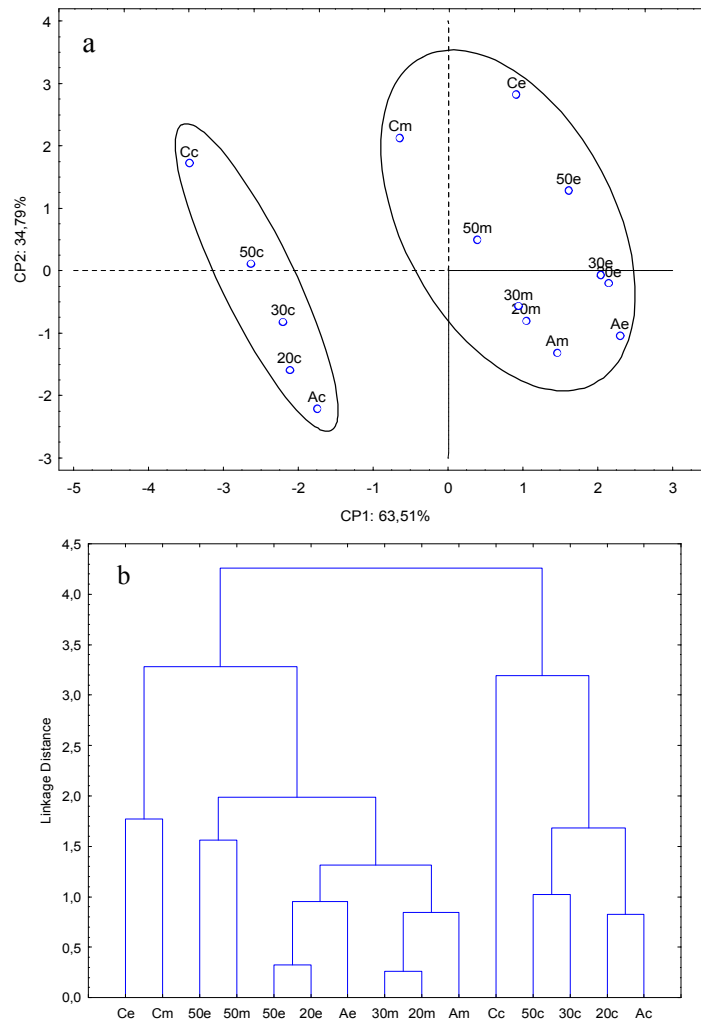


FIGURA 4: Análise de Componentes Principais (a) e Dendrograma (b) obtidos a partir dos dados cromatográficos, espectrofotométricos e de cor das amostras de café torrado.

Amostras: arábica 100 % (A); misturas 20 % (20), 30 % (30) e 50 % (50) de conilon e conilon 100 % (C). Letras minúsculas representam graus de torra: c, m, e, para torras clara, média e escura.

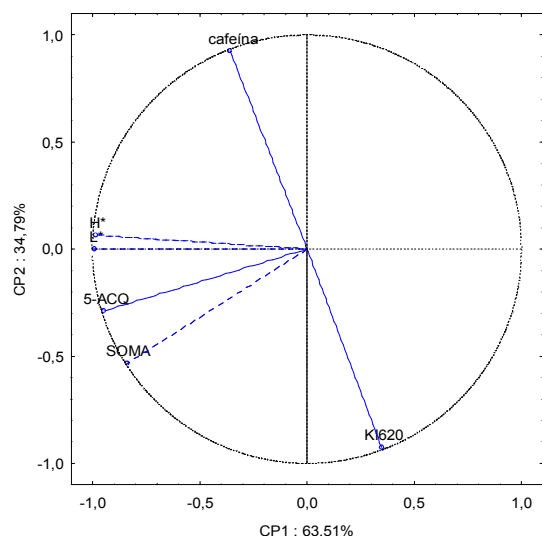


FIGURA 5: Projção das variáveis nos Componentes Principais 1 e 2.

Analisando a relevância de cada parâmetro no processo classificatório, as variáveis de maior importância no eixo horizontal (CP1) foram, em ordem crescente, L*, H*, ácido clorogênico e a soma dos teores de ácido nicotínico e trigonelina, todos com correlação negativa, indicando que amostras alocadas mais à esquerda apresentaram maiores valores desses parâmetros. A cafeína, com correlação positiva, e KI620, com correlação negativa, foram os parâmetros com maior relevância no eixo vertical (CP2), mostrando que amostras alocadas mais para cima do gráfico de ACP possuíam maiores teores de cafeína e menor concentração de cafeol, associado com baixo valor de absorvância a 620 nm após reação (KI620) (FIGURAS 4 e 5).

Pelo gráfico bidimensional da ACP (FIGURA 4-a), observou-se que a diferenciação dos graus de torra é feita principalmente pela CP1, onde as variáveis de maior importância apresentaram variação (L* e H*) ou instabilidade à temperatura (ácido nicotínico, trigonelina e 5-ACQ) e menor variabilidade entre as espécies. Pode-se atribuir à CP2 a função de discriminação das espécies de café estudadas, observando-se que os parâmetros de maior relação com este eixo foram aqueles que possuem maior estabilidade à torra e grande diferença de valores entre as espécies (cafeína e KI620). Pode-se constatar, no entanto, que mesmo uma variável que apresente instabilidade a torra, como a soma de trigonelina e ácido nicotínico, pode contribuir para a discriminação entre as espécies.

A partir do dendograma e gráfico bidimensional da ACP (FIGURA 4), foi possível verificar a distinção de dois grandes grupos: (1) amostras de torra clara, (2) amostras de torras média e escura. No grupo da torra clara, as amostras de conilon (Cc) se separaram das misturas 30 e 50 % (30c e 50c) e das misturas 20 % e arábica (20c e Ac). No grupo das torras média e escura, as amostras de conilon (Cm e Ce) se diferenciaram das misturas 50 % (50m e 50e) e do café arábica e misturas 20 e 30 % (Am, Ae, 20m, 20e, 30m e 30e) (FIGURA 4b).

Conclusões

A avaliação dos parâmetros espectrofotométricos e cromatográficos utilizando ACP e AA permitiu caracterização simultânea de espécies e torras. Os parâmetros cafeína e KI620 foram os mais importantes para discriminação de espécies, e L*, H*, soma, e 5-ACQ tiveram maior contribuição para separação entre torras.

Referências

- ALVES, S.T. (2004) *Desenvolvimento de metodologia analítica para diferenciação de café torrado arábica (Coffea arabica) e conilon (Coffea canephora) e misturas*. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - UEL.
- ANDRADE, P.B.; LEITAO, R.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M.B.; FERREIRA, M.A. (1998) 3,4-Dimethoxycinnamic acid levels as a tool for differentiation of Coffea canephora var. robusta and Coffea arabica. *Food Chemistry*, 61: 511-514.
- CASAL, S.; OLIVEIRA, B.; FERREIRA, M. A. (1998) Development of an HPLC/diode-array detector method for simultaneous determination of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 21: 3187-3195.
- CASAL, S.; OLIVEIRA, B.; FERREIRA, M.A. (2000a) HPLC/diode-array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. *Food Chemistry*, 68: 481-485.
- CASAL, S.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; ALVES, M.R.; FERREIRA, M.A. (2000b) Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid, and caffeine content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3420-3424.
- DAGLIA, M.; CUZZONI, M.T.; DECANO, C. (1994) Antibacterial activity of Coffee relationship between biological activity and chemical markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42: 2273-2277.
- DIAS, R.C.E.; SCHOLZ, M.B.S.; BENASSI, M.T. (2004) Desenvolvimento e validação de metodologia por CLAE para determinação de ácido nicotínico em café torrado. In: Encontro de Química da Região Sul, 12. Guarapuava. *Anais*.

GONZÁLEZ, A. G.; PABLOS, F.; MARTÍN, M. J.; LEÓN-CAMACHO, M.; VALDENEBRO, M. S. (2001) HPLC analysis of tocopherols and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters. *Food Chemistry*, 73, 93-101.

KY, C.L.; LOUARN, J.; DUSSERT, S.; GUYOT, B.; HAMON, S.; NOIROT, M. (2001) Caffeine, trigonelline, chlorogenic acid and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry*, 75: 223-230.

LAGO, R. C. A. (2001) Lipídios em grãos. *Boletim do CEPA*, 19: 319-340.

MAETZU, L.; ANDREZA, S.; IBANÉZ, C.; PEÑA, M. P.; BELLO, J.; CID, C. (2001). Multivariate methods for characterization and classification of espresso coffees from different botanical varieties and types of roast by foam, taste, and mouthfeel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 43-47.

MARTÍN, M. J.; GONZÁLEZ, A. G.; PABLOS, F. (1998). Discrimination between arabica and robusta green coffee varieties according to their chemical composition. *Talanta*, 46: 1259-1264.

MONTEIRO, M. A. A; MININ, V. P. R.; CHAVES, J. B. P.; STRINGHETA, P.C.; SILVA, P. H. A. (2002). Efeito do tipo de torra sobre o teor de compostos fenólicos e a cor dos grãos de café. *Rev. Bras. de Armazenamento*, 5: 55-59.

SECRETARIA DO ESTADO DO GOVERNO DO PARANA. (2004) Disponível em: <http://www.pr.gov.br/seeg/legislacao/2.html>. Acesso dia de 24 de novembro de 2004.

STATSOFT. **STATISTICA for Windows – Computer program manual**. Versão 6.0 Tulsa: Statsoft Inc. 2001.

TZOUROS, N. E.; ARVANITOYANNIS, I. S. (2001) Quality control methods for the authentication of foods and application of chemometrics for the classification of foods according to their variety or geographical origin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41: 287–319.