

# ANÁLISE DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE GRÃOS CRUS DE CAFÉ SADIOS E DEFEITUOSOS (PRETO, VERDE E ARDIDO) POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Meiriane M. SILVA<sup>1</sup> E-mail: [ane\\_quimica@yahoo.com.br](mailto:ane_quimica@yahoo.com.br), Vany FERRAZ<sup>1</sup>, Adriana S. FRANÇA<sup>2</sup>, Leandro S. OLIVEIRA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Cromatografia, Departamento de Química, UFMG, Av. Antônio Carlos 6627, 31270-901, Belo Horizonte, MG.

<sup>2</sup> Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Café, DEQ/UFMG, R. Espírito Santo, 35, 6º andar, 30160-030, Belo Horizonte, MG

## Resumo:

O presente estudo teve como objetivo efetuar uma avaliação qualitativa do perfil de compostos voláteis de grãos defeituosos (preto, verde, ardido) e sadios, de forma a tentar identificar possíveis substâncias que possam ser utilizadas como marcadores químicos para a quantificação de grãos defeituosos em café. O vapor diretamente em contato com os grãos (headspace) foi submetido a análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Não foram constatadas diferenças quanto à composição qualitativa dos grãos defeituosos em relação aos sadios. Eles apresentaram os mesmos compostos, porém em diferentes quantidades. O grão defeituoso ardido apresentou as maiores concentrações da maioria dos compostos. Com base na análise dos espectros de massa e comportamento cromatográfico dos compostos voláteis, concluiu-se que eles são pertencentes a três classes químicas diferentes, sendo uma única substância na classe I, 3 na classe II e 12 na classe III. Os compostos da classe II e III pertencem a séries homólogas diferentes. Foi possível propor uma estrutura química para as substâncias da classe III.

Palavras-chave: CGEM; voláteis; grãos defeituosos.

## *VOLATILE COMPONENT ANALYSIS OF NON DEFECTIVE AND DEFECTIVE (BLACK, IMMATURE AND SOUR) COFFEE BEANS USING GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY*

## Abstract:

This study aimed at a qualitative evaluation of the volatile compounds profiles in defective (black, immature, sour) and non defective coffee beans, in order to identify possible chemical markers for quantification of defective beans in coffee samples. The headspace was collected and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. No differences were detected between defective and non defective beans with respect to qualitative composition profile. The same substances were detected in all samples, but in different amounts. The highest concentrations of most substances were observed for sour beans. Based on the mass spectrometry analysis and chromatographic behavior of volatile substances, it was concluded that these compounds can be divided into three distinct classes: one substance in class I, three in class II and 12 in class III. Compounds in classes II and III belong to distinct homologous series. A chemical structure was proposed for the compounds in class III.

Key words: GCMS; volatile components; defective beans.

## Introdução

O aroma é um dos mais importantes atributos do café. Os compostos voláteis do café são numerosos e variados na qualidade do aroma e concentração e assim a contribuição de cada um ao aroma final. No Brasil, o café recebe uma classificação técnica e comercial, que se divide basicamente em duas categorias: classificação por qualidade de bebida e classificação por tipos ou defeitos.

A classificação pela qualidade da bebida é definida pela prova de xícara. A classificação por tipos ou defeitos consiste na contagem de um maior ou menor número de defeitos em amostras de 300 g de café. Os defeitos podem ser de natureza extrínseca ou intrínseca. Defeitos de natureza intrínseca, tais como os grãos pretos, verdes e ardidos são considerados como contribuintes para a depreciação da qualidade de bebidas dos cafés. Esses defeitos caracterizam os grãos alterados, quer pela imperfeita aplicação dos processos e técnicas agrícolas e industriais, quer por modificações de origem fisiológica ou genética.

Os grãos defeituosos ardidos caem do pé de café pela ação de chuvas e ou ventos, entram em contato com o solo, favorecendo a ação microbiológica. Os grãos classificados como verdes são grãos colhidos prematuramente. O grão verde possui uma película fina recobrimdo sua superfície externa, de coloração esverdeada. O grão ardido possui uma coloração que vai de amarelo escuro ao marrom escuro. Os grãos pretos podem ser diferenciados dos ardidos pela presença de uma fina película brilhante aderente a superfície do grão preto (Mazzafra, 1999). Embora seja consenso o efeito depreciativo

dos grãos defeituosos na qualidade do café, pesquisas referentes à caracterização físico-química destes grãos ainda são escassas (Mazzafera, 1999; Mendonça et al., 2004; Franca et al., 2005).

A análise de voláteis do café envolve, geralmente, a isolamento da fração volátil, a separação da mistura em seus componentes individuais, a detecção, a quantificação e a identificação dos compostos. A separação é geralmente conseguida pela cromatografia gasosa, embora o fracionamento parcial anterior pela cromatografia de coluna ou pelo HPLC seja empregado. A identificação pode ser conseguida por CG-EM, mais raramente com a ajuda de IV ou de RMN. Alguns pesquisadores utilizaram a técnica de CG-EM para o estudo de substâncias voláteis dos grãos de café.

Grosch (2001) relata a detecção, tanto em grãos crus quanto em grãos torrados, de grandes quantidades de hidrocarbonetos alifáticos. Também detectou-se furanos, tiofenóis, sulfitos, aldeídos e cetonas nos grãos crus, encontrando uma maior quantidade desses compostos nos grãos torrados, devido à reações de pirólise de precursores não voláteis. Eles também observaram que certos ésteres de alto peso molecular são característicos de café Colúmbia e, portanto podem ser usados para a identificação de certos tipos de café. Dart et al (1986) também descreve a ocorrência de vários voláteis no grão cru, tais como piridinas, quinolinas, pirazinas, pirróis, arilaminas e poliaminas. Outros compostos incluindo furanos, álcoois, carbonilas, ésteres, fenóis e tióis foram encontrados apenas em algumas espécies/variedades.

Embora existam diversos estudos na literatura relativos à identificação e quantificação dos compostos voláteis oriundos da torração do café, os estudos de voláteis do grão cru são escassos. Nenhum destes estudos verificou a existência de correlação entre a composição e a qualidade do café. Sabe-se que a presença de grãos defeituosos altera negativamente a qualidade sensorial da bebida café. Tendo em vista a relação entre o teor e o perfil dos voláteis com o sabor e aroma da bebida, propõe-se no presente estudo a avaliação qualitativa do perfil de compostos voláteis de grãos defeituosos (preto, verde, ardido) e sadios, de forma a tentar identificar possíveis substâncias que possam ser utilizadas como marcadores químicos para a quantificação de grãos defeituosos em café.

## Material e Métodos

A matéria prima utilizada foi uma saca (60 Kg) de café Arábica rejeitado pela máquina de separação por cor, proveniente da Fazenda Samambaia (Santo Antônio do Amparo, MG). Os grãos de café pretos, verdes, ardidos e sadios foram manualmente separados da mistura para constituição dos lotes de amostragem. Colocou-se cinco grãos inteiros de cada tipo de café (aproximadamente 0,5 g), separadamente, em frascos de reação Supelco, de 1 mL. As amostras foram extraídas por 30 min em temperatura de 70°C. Uma alíquota de 200 µL da camada gasosa (headspace) foi injetada no CG-EM. As análises foram efetuadas em triplicata.

O equipamento utilizado foi o cromatógrafo a gás HP6890 acoplado a um Espectrômetro de massas HP5989A, coluna HP1 (100% dimetilpolisiloxane) 25 m x 0,25 mm (Hewlett-Packard). O gás de arraste utilizado foi Hélio (2 mL/min). A temperatura de análise foi 200°C inicialmente, subindo 8°C/min até 280°C, permanecendo por 15 min nesta temperatura. As demais condições de análise foram: splitless: fechado 0,5 min; temperatura da fonte e detector: 280°C; impacto eletrônico (EI): 70eV; volume injetado: 200 µL.

## Resultados e Discussões

Apresentam-se na Figura 1 os perfis cromatográficos obtidos para os compostos voláteis de grãos crus de café sadios e defeituosos (preto, verde e ardido). Não foram constatadas diferenças significativas quanto à composição qualitativa dos grãos defeituosos em relação aos sadios. Eles apresentaram os mesmos compostos, isto é, picos em tempos de retenção (TR) e espectro de massa iguais. Porém, estes compostos se encontram em diferentes quantidades.

Tanto os grãos sadios quanto os defeituosos apresentaram altas concentrações do composto de TR 1,45 min, inclusive o grão preto, sendo que neste último a área deste pico equivale a 93% da área total de picos no cromatograma (Tabela 1). Outros picos que são vistos na Figura 1 para os grãos sadio, verde e ardido não são encontrados no grão preto, podendo estar presentes em baixas concentrações. O segundo pico, em área, foi o de TR 10,60 min para os grãos verde, ardido e preto, sendo que neste último essa área equivale à centésima parte da maior área. Para os grãos sadios, o segundo pico de maior área foi o de TR 8,24 min. Exceto pelo pico em TR 1,45min, o grão ardido apresentou as maiores concentrações de todas as substâncias e o grão preto apresentou as menores concentrações destas.

Os grãos defeituosos apresentam ainda algumas características em comum, que diferem um pouco dos grãos sadios, como foi citado. Mas essas diferenças são apenas quantitativas e não qualitativas. O grão preto, como foi destacado, apresentou concentrações baixíssimas dos compostos em geral; alguns não foram detectados.

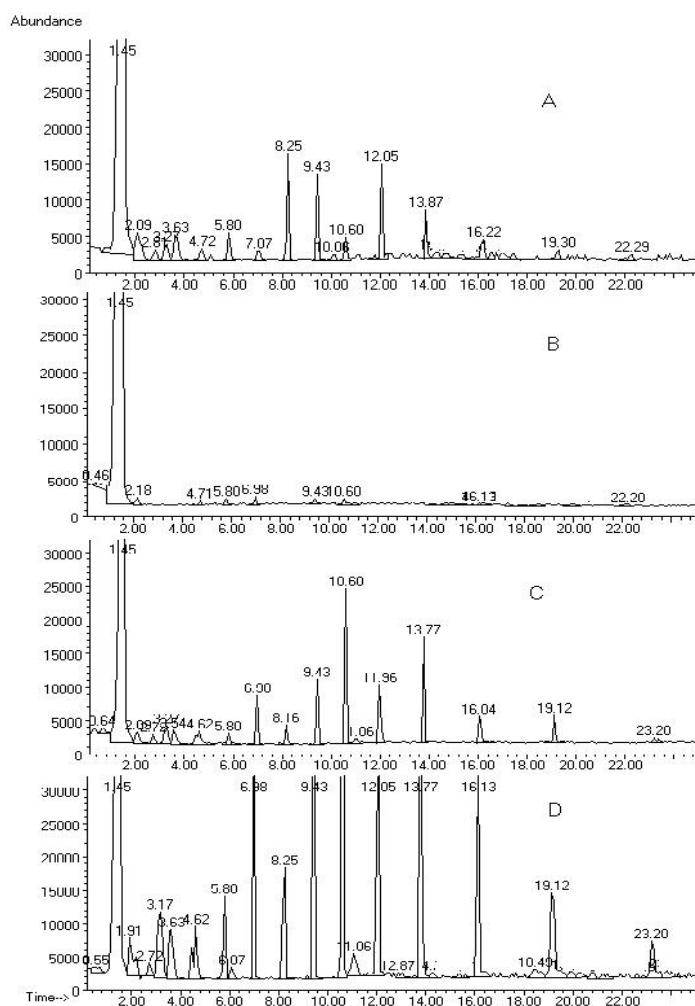


Figura 1 - Perfis cromatográficos dos compostos voláteis em grãos crus de café:  
**A:** grãos sadios; **B:** grãos pretos; **C:** grãos verdes; e **D:** grãos ardidos.

Tabela 1: Tempo de retenção e áreas dos picos de grãos sadios e defeituosos

TR	Área			
	Sadio	Preto	Verde	Ardido
1,45	1.473.205	1.439.836	946.401	947.206
2,08	60.605	10.572	20.236	97.144
3,26	26.741		36.283	138.487
3,62	51.579		32.808	105.485
4,71	19.338		42.017	90.939
5,8	29.088	5.496	15.239	74.522
7,07	16.055	9.062	42.372	198.963
8,24	99.407		24.309	148.647
9,42	68.932	7.486	56.698	402.200
10,6	22.724	14.338	129.117	756.319
12,04	85.295		59.669	268.889
13,86	39.300		87.496	299.287
16,22	33.943	7.087	43.848	210.443
19,3	13.498		31.716	152.918
22,29	10.773	5.397	11.532	64.576

Apresenta-se na Figura 2 o cromatograma da Figura 1-D, com extração dos fragmentos  $m/z$  79,  $m/z$  100 e  $m/z$  147. Pode-se observar que os compostos voláteis de grãos crus de café arpidos pertencem a três classes distintas de substâncias. Apenas um pico é obtido na classe I, 3 picos na classe II e 12 picos na classe III. Os espectros de massa característicos de cada classe são mostrados na Figura 3. No caso das classes II e III não foram obtidos espectros distintos para as substâncias do grupo. A não distinção dos espectros dentro de uma mesma classe pode ser explicada pela forte ionização sofrida pela molécula durante o impacto eletrônico, assim o íon molecular nem sempre é observado. Isto indica que elas contêm provavelmente um corpo estrutural comum, diferindo em substituições de cadeias hidrocarbônicas de diferentes tamanhos.

Segundo McNair and Bonelli (1968), se uma amostra contendo membros de uma série homóloga é analisada por cromatografia gasosa, um comportamento linear é observado entre o número de carbonos e o tempo de retenção para condições analíticas com programação de temperatura. Para condições isotérmicas a linearidade se dá com o logaritmo do tempo de retenção. Observa-se na Figura 4 a dependência linear dos tempos de retenção com um suposto número de carbonos de um substituinte no corpo estrutural comum. Para os constituintes da classe II (3 picos) e da classe III (8 picos) eluídos na parte de temperatura programada da análise, são apresentados o tempo de retenção versus número de carbonos. Para os demais 4 picos da classe III eluídos na parte isotérmica, o gráfico mostra o logaritmo de tempo de retenção versus número de carbonos. Como o comportamento é indubitavelmente linear, pode-se concluir que os compostos das classes II e III pertencem a séries homólogas, aumentando um grupo  $-CH_2-$  de uma para a seguinte.

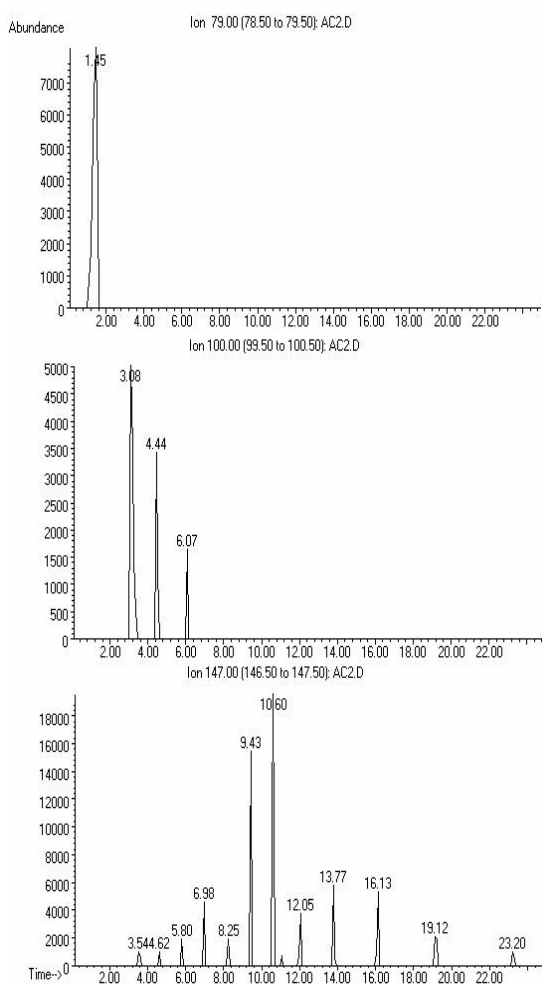


Figura 2: Cromatogramas dos compostos voláteis de grãos arpidos crus de café. Extração de íons  $m/z$  79,  $m/z$  100 e  $m/z$  147 respectivamente.

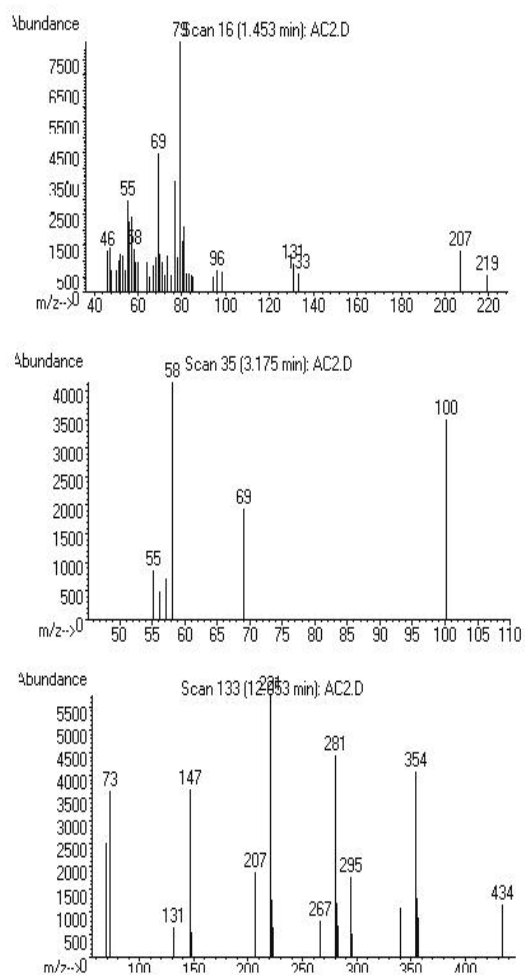


Figura 3: Espectros de massa (IE) característicos das três classes de compostos voláteis em grãos crus de café arpidos.

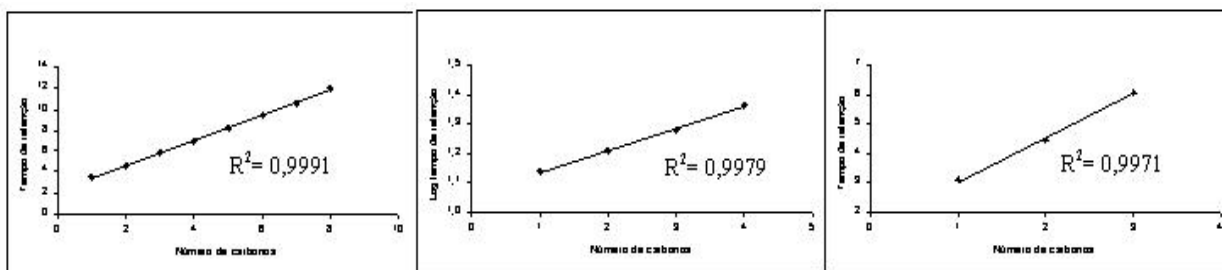


Figura 4 - Dependência dos tempos de retenção com um suposto número de carbonos de um substituinte no corpo estrutural comum da molécula.

A análise dos espectros obtidos com a ajuda de bancos de dados espectrais (Wiley138, Webbook.nist.gov e Aist.go.jp/RIO-DB) levou à proposição do corpo estrutural básico para classe III de substâncias (Figura 5), em que R1 deve ser uma cadeia hidrocarbônica (-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, etc), e R2, R3 e R4, indistintamente da posição, correspondem a um anel furano e a 2 ésteres, respectivamente. Apesar da complexidade estrutural proposta para estas moléculas elas apresentam parte estrutural já encontradas em compostos voláteis de café crus e torrados (hidrocarbonetos, piridinas, pirazinas, pirróis etc) e podem ser potencialmente materiais de partida para a formação destes. Pode-se salientar ainda, na estrutura proposta, a parte estrutural comum à cafeína, isto é a purina. Ainda não foi possível a elucidação do único composto pertencente à classe I e dos 3 compostos da classe II.

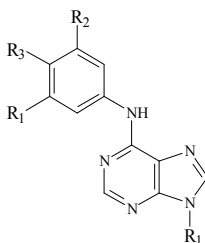


Figura 5: Estrutura proposta para os compostos voláteis de grãos crus de café sadios e defeituosos pertencentes à classe III.

## Conclusão

A análise de compostos voláteis de grãos sadios e defeituosos dos grãos crus de café por CG-EM utilizando o método de extração por headspace indicou diferenças quantitativas desses compostos. O grão defeituoso arduo apresentou as maiores concentrações da maioria dos compostos. A concentração de algumas substâncias também pode aumentar com o tempo de estocagem do grão cru. Através da análise dos espectros de massa e pelo comportamento cromatográfico dos compostos voláteis, concluiu-se que eles são pertencentes a três classes químicas diferentes, sendo uma única substância na classe I, 3 na classe II e 12 na classe III. Os compostos da classe II e III pertencem a séries homólogas diferentes. Foi possível propor uma estrutura química para as 12 substâncias da classe III.

## Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq, FAPEMIG e o apoio técnico do Sindicafé-MG

## Referências bibliográficas

- Dart, S.K.; Nursten, H.E. (1986) Volatile components. In: Clarke, R.J.; Macrae, R. (eds.). *Coffee chemistry*. London: Elsevier applied Science, v. 1, p. 223-265.
- Franca, A.S.; Oliveira, L.S.; Mendonça, J.C.F.; Silva, X.A. (2005). Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. *Food Chem.*, 90: 89-94.
- Grosch, W. (2001) Volatile Compounds. In: Clarke, R.J.; Vitzthum, O.G.(eds.) *Coffee: recent developments*. Oxford: Blackwell Science Ltd, p. 68-85.
- Mazzafera, P. (1999). Chemical composition of defective coffee beans, *Food Chemistry*, 64: 547-554.
- McNair H. M.; Bonelli E. J. (1968) *Basic Gas Chromatography*, Varian aerograph ed., p. 123-128.
- Mendonça, J.C.F.; Franca, A.S.; Oliveira, L.S.; Corrêa, P.C. (2004). Estudo preliminar de caracterização física e química de grãos defeituosos de café (PVA) antes e após a torra. *Revista Brasileira de Armazenamento, Especial Café*(7): 44-49.