

APLICAÇÃO DA ANÁLISE ELEMENTAR DE NITROGÊNIO TOTAL E DETERMINAÇÃO DA PROTEÍNA BRUTA EM GRÃOS DE CAFÉ DE DIFERENTES REGIÕES DO ESTADO DE MINAS GERAIS

Eduardo Carvalho Dias ², Carla Rodrigues ³, Rodrigo Maia ⁴, Cristina Máguas ⁵, Rosemary G.F.A. Pereira ⁶

¹ Trabalho realizado pela Universidade Federal de Lavras em parceria com a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

² Doutorando, M.Sc., UFLA, Lavras, MG, ecdias1@ig.com.br

³ Doutoranda, M.Sc., Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, SIIAF - cirodrigues@fc.ul.pt

⁴ Pesquisador, M.Sc., Faculdade de Ciências, SIIAF - Universidade de Lisboa

⁵ Professora, D.Sc., Faculdade de Ciências, SIIAF - Universidade de Lisboa

⁶ Professora, D.Sc., Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras - MG rosegfap@hotmail.com

RESUMO: Análise quantitativa de nitrogênio por um detector de combustão térmica é um método rápido e altamente reproduzível que evita procedimentos de limpeza e minimiza a interferência de alguns elementos. A partir do conhecimento da composição elementar dos grãos de café pode-se obter dados para o estudo da biodiversidade e verificar eventuais variações no café torrado em relação a sua qualidade. Amostras de grãos de café de diferentes regiões do Estado de Minas Gerais foram utilizadas para a obtenção dos teores de nitrogênio e proteína bruta, constituintes essenciais para a formação de compostos que conferem características de aroma e sabor ao café, dentre estes destacam algumas substâncias que apresentam efeitos benéficos à saúde humana. Os teores de nitrogênio e proteína bruta apresentaram variações significativas nos grãos de café em função das regiões analisadas dentro do Estado de Minas Gerais.

Palavra-chave: café, análise nitrogênio, proteína bruta, origem

DETERMINATION FOR TOTAL NITROGEN AND CRUDE PROTEIN CONTENT IN COFFEE GRAINS FROM DIFFERENT REGIONS OF THE STATE OF MINAS GERAIS

ABSTRACT: Quantitative analysis of nitrogen by a thermal combustion detector (TCD) is a fast and highly reproducible method that avoids procedures for cleaning and minimizes the interference of some elements. From the knowledge of the elemental composition of coffee beans you can get data for the study of biodiversity and monitor any changes in coffee in relation to its quality. Samples of coffee beans from different regions of Minas Gerais State were used to obtain the levels of nitrogen and crude protein, essential constituents for the formation of compounds that provide flavor and aroma characteristics of coffee. Among these are some substances have been demonstrated as beneficial effects on human health. The levels of nitrogen and crude protein showed significant variations in the grains of coffee depending on the region analyzed in the State of Minas Gerais.

Key-words: coffee, nitrogen analysis, crude protein, origin

INTRODUÇÃO

O café é consumido por grande parte da população humana, cerca de 70-80% (Schiller et al., 2001) e é uma das commodities de maior valor e crescimento na exportação em diferentes regiões no mundo (Marcone, M. F., 2004; Ricketts et al., 2004). Por isso, numerosos estudos concernentes

à segurança e as implicações dessa bebida na saúde têm sido realizados em razão de sua composição química.

A composição química dos grãos de café arábica é variável em consequência das condições em que foram produzidos e processados. Essa composição depende de fatores genéticos, ambientais e condições de manejo pré e pós-colheita. Segundo Licciardi et al. (2005) a torração é uma etapa essencial para a formação de compostos que conferem as características de aroma e sabor ao café, entre os quais destacam-se algumas substâncias que apresentam benefícios à saúde humana. Estas substâncias são basicamente formadas por elementos orgânicos.

Várias formas de determinações na análise quantitativa de nitrogênio, oxigênio, hidrogênio, enxofre e compostos orgânicos foram desenvolvidas. Kainz & Wachberger (1968) foram os primeiros autores a determinar CO₂ depois da combustão através de um detector térmico (Ma & Gutterson, 1970). Merz, 1968, concluiu uma análise de nitrogênio em 2,5 minutos colocando a amostra com pó de óxido cúprico, queimando-a com o oxigênio e logo após limpando-a, registrando então o volume de nitrogênio dentro de um equipamento automático (Ma & Gutterson, 1970).

A partir desta data, uma série de trabalhos foi relatada na determinação simultânea de carbono, hidrogênio e nitrogênio. Em 1967, Kainz & Wachberger, modificou o método publicado anteriormente em que as amostras foram queimadas em oxigênio e foram mantidas em cobre e depois reduzidas em óxido de nitrogênio. O nitrogênio foi detectado no primeiro sinal e a área do pico foi automaticamente integrada. O dióxido de carbono e a água foram dessorvidos e igualmente detectados (Ma & Gutterson, 1970).

Atualmente diferentes tipos de análises elementares mostram uma rápida e confiável forma na determinação conjunta de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre, embora diferentes formas de redução na combustão estejam envolvidas.

Na combustão com um forno acoplado a um detector térmico é a principal forma para a determinação conjunta de C, N, S e para uma variedade de substâncias orgânicas (Craig & Brimmer, 1995; Brimmer & Li, 2004). A determinação de nitrogênio por um detector de combustão térmica é um método rápido e altamente reproduzível que evita procedimentos de limpeza e minimiza a interferência de alguns elementos (por exemplo, K, Hg e Cu). No entanto vários outros métodos são aplicados na análise de rotina de nitrogênio total e de proteína na alimentação humana, como a determinação do método de Kjeldahl e de espectroscopia no infravermelho (Kamizake et al., 2003; Kim et al., 2007).

Com o método de Kjeldahl, o teor de nitrogênio determinado para análise alimentar é multiplicado pelo fator de 6,25 (método oficial AOAC 992,23 – proteína bruta em grãos de cereais e oleaginosas – método genérico de combustão; AOAC, 2000) é usualmente aplicado, embora alguns fatores levam a considerar uma variação de 5,7 para 6,25 entre os cereais e outros vegetais (Merrill & Watt, 1973).

Neste trabalho, a partir da validação do método para análise elementar dos teores de nitrogênio, utilizaram-se amostras dos grãos de café de diferentes regiões do Estado de Minas Gerais, para a obtenção dos teores de nitrogênio e a proteína bruta de acordo com AOAC Jornal Método 992,23 (AOAC, 2000). Os valores determinados contribuem para o estudo da biodiversidade regional e no controle da qualidade e origem do café proveniente de diferentes localizações geográficas.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de café (*Coffea arabica L.*) coletadas aleatoriamente de quatro regiões produtoras do Estado de Minas Gerais, foram processadas pelo método via seca e identificadas com a respectiva localização dos municípios, determinando as coordenadas geográficas e a caracterização das propriedades rurais.

Os grãos foram moídos em um moinho Retsch, durante 5 minutos para a obtenção de uma granulometria fina, menores que 1 mm. As amostras foram secadas a 60° C e colocadas em cápsulas

de estanho. A cápsula foi dobrada e o peso anotado para ser utilizado no cálculo de porcentagem para carbono e nitrogênio. A análise elementar foi realizada em triplicata e a média e o desvio padrão foram calculados. A combustão foi realizada com oxigênio ($\text{H}_2\text{O} < 3 \text{ ppm}$, $\text{CnHm} < 0,5 \text{ ppm}$) AirLiquide, Portugal) e a cromatografia gasosa com hélio (He) ($\text{H}_2\text{O} < 3 \text{ ppm}$, $\text{O}_2 < 2 \text{ ppm}$, $\text{CnHm} < 0.5 \text{ ppm}$) (AirLiquide, Portugal), óxido de cromo (20 – 50 mesh) (EuroVector, Milano) e cobalto (II, III) óxido (20 – 50 mesh) (EuroVector, Milano) foram utilizados na catálise oxidativa.

A água foi removida com perclorato de magnésio (6 – 18 mesh) (EuroVector, Milano). A redução do NO_x e a remoção do excesso de O_2 foi realizada com cobre reduzido (fios finos de \varnothing 0.7 mm) (EuroVector, Milano). A calibração foi realizada com padrão farinha de trigo OAS (valor certificado para o carbono: 39.53% w/w com variação de $\pm 0.26\%$; valor certificado para o nitrogênio: 1.47% w/w com variação de $\pm 0.07\%$) da Elemental Microanalysis Ltda, United Kingdom. A análise elementar foi realizada em um equipamento EuroEA 3000 Elemental Analyser (EuroVector, Milano) com um TDC Detector. A separação foi feita por cromatografia gasosa em uma coluna EVR $8 \times 6 \text{ mm}$, 2.0 m (EuroVector, Milano). O gás de arraste foi o (He) e a pressão final foi de 70 KPa. A combustão da amostra foi a $1025 \text{ }^\circ\text{C}$ com a pressão de 20 Kpa e o tempo de 15.7 segundos. A redução do NO_x foi alcançada a $650 \text{ }^\circ\text{C}$. A temperatura final do forno foi de $120 \text{ }^\circ\text{C}$. O sinal do detector foi processado no Callidus 4.1.21 software (EuroVector, Milano).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação dos teores de proteína bruta foi realizada com base nas quantidades de nitrogênio presente nos grãos de café, e esta abordagem é baseada em dois pressupostos: em que nos carboidratos e lipídeos não contem nitrogênio, e que quase todo o nitrogênio presente nas dietas está presente nos aminoácidos e nas proteínas (Kim et al., 2007). O conteúdo de proteína bruta foi determinado a partir do teor de nitrogênio como relatado por outros autores para determinação de proteínas vegetais (Casal et al., 2000; Kim et al., 2007).

As proteínas são consideradas um dos principais precursores dos compostos voláteis no aroma do café. Diversos relatos definem como um composto bastante lábil em comparação com os aminoácidos livres nas reações ocorridas a partir de proteínas e peptídeos para a formação do sabor e o aroma na bebida do café (Homma, 2001). O tipo e a quantidade dos compostos voláteis no café torrado dependem do tempo e da temperatura de torração, espécie do café, origem geográfica (relacionado com os parâmetros climáticos locais e as características do solo), cultivar e a composição química dos grãos (Bradbury, 2001; Homma, 2001; Van der Vossen, 2001) e o processamento na pós-colheita (Gonzalez-Rios et al., 2007a; González-Rios et al., 2007b).

Na pós-colheita, tal como sugerido por Gonzalez-Rios et al., 2007, a partir de uma comparação de diversos tipos de sabor e aroma deve-se realizar um estudo mais detalhado para avaliar o impacto dos teores de proteína no desenvolvimento destes atributos durante o processo de torração. Durante a pós-colheita, diferenças ocorrem principalmente na formação do perfil de aminoácidos, embora o processamento e o grau de torra desempenhar um papel fundamental no processo de torração e na qualidade final no aroma do café (Gonzalez-Rios et al., 2007a; Gonzalez-Rios et al., 2007b).

Os fatores como o clima, a altitude, o tipo de solo, a cultivar e as práticas agrícolas (Van der Vossen, 2001) são parâmetros com grande impacto na qualidade do café, tanto no sabor como no aroma. Entretanto no nosso estudo ainda não podemos determinar quais os fatores abióticos que influenciaram os níveis de nitrogênio, uma vez que os níveis protéicos está relacionado com o aroma, sabor e com a qualidade do café, estimamos que os referidos fatores podem estar relacionados com as diferenças nos teores de nitrogênio dos grãos de café.

Os açúcares e os aminoácidos são os principais substratos da reação de Maillard (Yeretzian et al., 2002, Belitz et al., 2004) que durante o processo de torra, ocorre a formação de compostos orgânicos voláteis como cetonas, aldeídos, pirazinas e furanos, muitos destes apresentando na sua constituição a presença do nitrogênio.

A importância dos elementos básicos aplica-se na formação de substâncias como a cafeína, trigonelina, aminoácidos e outros compostos nitrogenados precursores de várias substâncias formadas durante a torração dos grãos de café responsáveis pelo sabor e o aroma e propriedades químicas características do café. Os teores de nitrogênio e proteína bruta apresentaram variações significativas nos grãos de café em função das regiões analisadas no Estado de Minas Gerais.

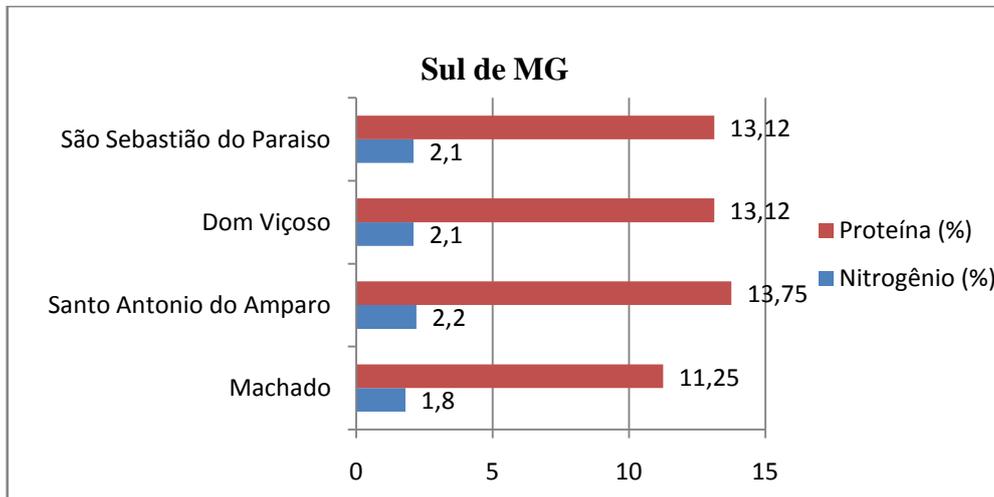


Figura 1 - Níveis de nitrogênio e proteína bruta de amostras provenientes do Sul de MG

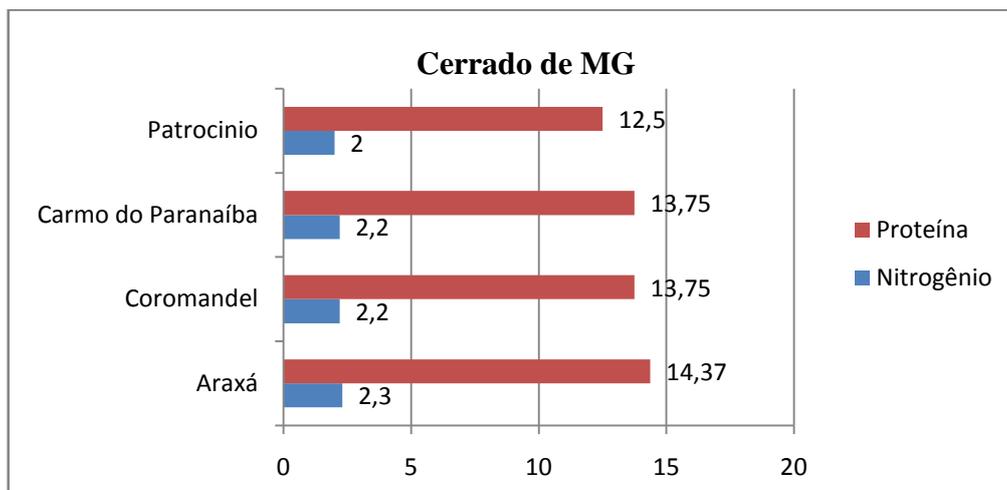


Figura 2 - Níveis de nitrogênio e proteína bruta de amostras provenientes do Cerrado de MG

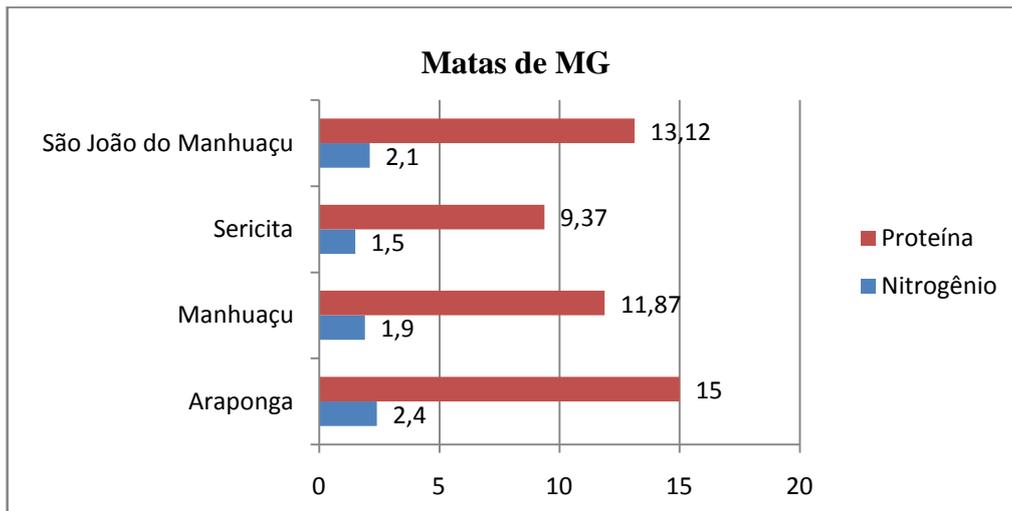


Figura 3 - Níveis de nitrogênio e proteína bruta em amostras provenientes das Matas de MG

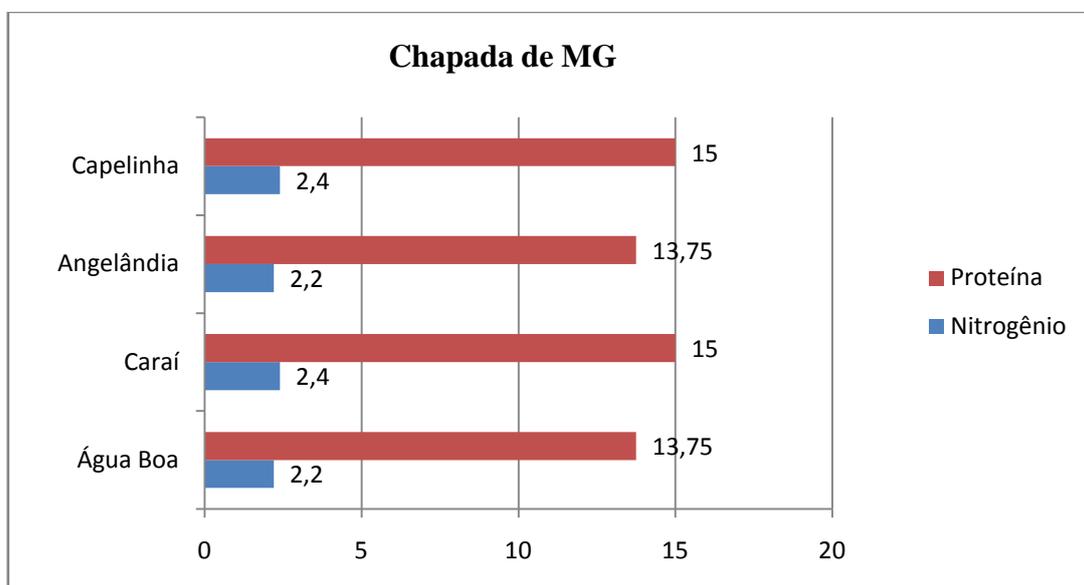


Figura 4 - Níveis de nitrogênio e proteína bruta em amostras provenientes da Chapada de MG

CONCLUSÕES

A análise elementar é uma ferramenta analítica rápida, reprodutível para a determinação de nitrogênio total e proteína bruta em grãos de café. O analisador elementar é acessível para um grande número de amostras em um menor período de tempo de análise. A partir do conhecimento da composição elementar dos grãos de café pode-se obter dados para o estudo da biodiversidade e verificar eventuais variações no café torrado em relação a sua qualidade. Este trabalho está incluído em um projeto maior que deverá tornar possível a construção de uma base de dados em correlação com a análise sensorial para a identificação dos diferentes produtos elaborados a partir do café e melhorar o processo para o desenvolvimento de novos produtos “gourmet”.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC Official Method 992.23, Vol. II, Chapter 32, 24 – 25, Dr. William Horwitz Editor.

- BELITZ, H.-D., GROSCH, W., SCHIEBERLE, P., 2004. Food Chemistry. Springer-Verlag, Berlin.
- BRADBURY, A. G. W., 2001. Chemistry I: non-volatile compounds. In: Clarke, R. J., Vitzthum, O. G. (Eds), Coffee, Recent Developments. Blackwell Science, Oxford.
- CASAL, J. A., VERMAAT, J. E., WIEGMAN, F., 2000. A test of two methods for plant protein determination using duckweed. *Aquatic Botany* 67, 61-67.
- DELWICHE, S. R., 1998. Protein Content of Single Kernels of Wheat by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *Journal of Cereal Science* 27, 241-254.
- GONZALEZ-RIOS, G., SUAREZ-QUEIROZ, M. L., BOULANGER, R., BAREL, M., GUYOT, B., GUIRAUD, J. P., SCHORR-GALINDO, S., 2007a. Impact of “ecological” post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 289-296.
- GONZALEZ-RIOS, G., SUAREZ-QUEIROZ, M. L., BOULANGER, R., BAREL, M., GUYOT, B., GUIRAUD, J. P., SCHORR-GALINDO, S., 2007b. Impact of “ecological” post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: II. Roasted coffee. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 297-307.
- GROSCH, W., 2001. Chemistry III: volatile compounds. In: Clarke, R. J., Vitzthum, O. G. (Eds), Coffee, Recent Developments. Blackwell Science, Oxford.
- HOMMA, S., 2001. Chemistry II: non-volatile compounds. In: Clarke, R. J., Vitzthum, O. G. (Eds), Coffee, Recent Developments. Blackwell Science, Oxford.
- KAMIZAKE, N. K. K., GONÇALVES, M. M., ZAIA, C. T. B. V., ZAIA, D. A. M., 2003. Determination of total proteins in cow milk powder samples: a comparative study between the Kjeldahl method and spectrophotometric methods. *Journal of Food Composition and Analysis* 16, 507-516.
- KIM, Y., SINGH, M., KAYS, S. E., 2007. Near-infrared spectroscopic analysis of macronutrients and energy in homogenized meals. *Food Chemistry (in press)*.
- LI, F., BRIMMER, S. P., 2004. Initial study of a combustion-mass spectrometric system for organic microanalysis. *Analytica Chimica Acta* 525, 141-149.
- LICCIARDI, R.; PEREIRA, R.G.F.A.; MENDONÇA, L.M.V.L.; FURTADO, E.F. Avaliação físico-química de cafés torrados e moídos, de diferentes marcas comerciais, da região Sul de Minas Gerais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.25, p. 425-429, 2005
- MA, T. S., GUTTERSON, M., 1970. Organic Elemental Analysis. *Analytical Chemistry* 42, 105-114.
- MARCONE, M. F., 2004. Composition and properties of Indonesian palm civet coffee (Kopi Luwak) and Ethiopian civet coffee. *Food Research International* 37, 901-912.
- MERRILL, A. L., WATT, B. K., 1973. Energy value of foods: basis and derivation. *Agriculture Handbook* 74, Washington, DC, ARS United States Department of Agriculture.
- RICKETTS, T. H., DAILY, G. C., EHRLICH, P. R., MICHENER, C. D., 2004. Economic value of tropical forest to coffee production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 34, 12579-12582.
- SCHILLER, B., CAVIN, C., TRISTSCHER, A., CONSTABLE, A., 2001. Health Effects and Safety Considerations. In: Clarke, R. J., Vitzthum, O. G. (Eds), Coffee, Recent Developments. Blackwell Science, Oxford.
- VAN DE VOSSSEN, H. A. M., 2001. Agronomy I: coffee breeding practices. In: Clarke, R. J., Vitzthum, O. G. (Eds), Coffee, Recent Developments. Blackwell Science, Oxford.

YERETZIAN, C., JORDAN, A., BADOUD, R., LINDINGER, W., 2002. From the green bean to the cup: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles. *European Food Residue Technology* 214, 92-104.