

DITERPENOS DO CAFÉ COMO POSSÍVEIS MARCADORES DE QUALIDADE DA BEBIDA

Fábio Junior Moreira Novaes¹; Francisco Radler de Aquino Neto²; Claudia Moraes de Rezende³.

¹ Estudante, PG, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, fabiojmnovaes@yahoo.com.br

² Pesquisador, DSc, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, ladetec@iq.ufrj.br

³ Pesquisador, DSc, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, crezende@iq.ufrj.br

RESUMO: O teor lipídico elevado tem sido associado com grãos de café Arábica de melhor qualidade. Neste contexto, apresentou-se uma abordagem baseada na extração de lipídios por Soxhlet para avaliar essa hipótese, que se mostrou inconsistente. No entanto, a segunda classe de compostos majoritários do óleo de café foi investigada e utilizada com sucesso para prever a qualidade do café, mesmo antes dos processos de torrefação e preparo da bebida, a razão entre os diterpenos cafestol/ kahweol.

PALAVRAS-CHAVE: Café Arábica verde; Cafestol; Caveol; Cromatografia Gasosa; Prova de Xícara.

COFFEE DITERPENES AS POSSIBLE MARKERS OF DRINK QUALITY

ABSTRACT: High lipid content has been associated with better quality Arabic coffee. In this context, we report here an approach based on lipid Soxhlet extraction to evaluate this hypothesis, which shown itself inconsistent. However, the second class of majority compounds of Arabica coffee oil was investigated and successfully used to predict the quality of coffee even before the roasting and brewing processes, the ratio between two diterpenes cafestol/ kahweol.

KEYWORDS: Green Arabic coffee; Cafestol; Kahweol; Gas chromatography; Cup quality.

INTRODUÇÃO

A bebida quente obtida a partir de grãos de café torrado e moído é um sistema químico complexo que culmina com o lançamento de um aroma agradável e sabor típico do café torrado, que refletem a composição química associada a aspectos agrônômicos e práticas pós-colheita (secagem, armazenamento, torra e moagem) (Franca *et al.*, 2005a; Oliveira *et al.*, 2005).

Ao redor do mundo, a avaliação de café para posterior comercialização é inicializada por aspectos sensoriais, que avaliam o seu aroma e sabor, garantindo qualidade. No Brasil, essa é baseada na quantidade de grãos defeituosos (preto, imaturos ou azedo, danificado por inseto, quebrado, etc.) e por um ensaio sensorial específico e categorizado por referência a uma escala de sabor denominado “prova de xícara”, a partir de estritamente mole (o melhor), mole, apenas mole, duro, riado, rio e rio zona (o pior) (Bartholo & Guimarães, 1997; Farah *et al.*, 2006).

Estudos anteriores correlacionaram alguns compostos químicos com a prova de xícara. Correlação positiva com cafés de qualidade satisfatória foi associada como a presença do ácido 3,4-dicafeoilquínico (Farah *et al.*, 2006), enquanto que correlações negativas foram observadas com algumas aminas, tais como a histamina e triptamina (Oliveira *et al.*, 2005), e correlações ambíguas com cafeína e trigonelina (Franca *et al.*, 2005ab; Farah *et al.*, 2006). O teor elevado de lipídios também foi associado com cafés de melhor qualidade (Decazy *et al.*, 2003; Franca *et al.*, 2005b; Amorim *et al.*, 2009). Foslar (1985) afirmou que os lipídios são ingredientes importantes para o aroma do café. Em matrizes alimentares, os lipídios são descritos como precursores de muitos compostos aromáticos, comportam-se como reservatórios de voláteis e dão características desejáveis ao produto como cremosidade, molhabilidade e auxílio na formação de espuma (Liman & Numrych, 1978). No entanto, o papel dos lipídios na qualidade sensorial de café continua por ser elucidado (Decazy *et al.*, 2003).

A fração lipídica do café Arábica é composta principalmente por triacilgliceróis (75-80%), esteróis (2-5,4%) e grandes quantidades de ésteres furocaurano diterpenos, como cafestol e caveol (7-20 %) (Figura 1), principalmente palmítico e linoleico (Speer & Kölling-Speer, 2006).

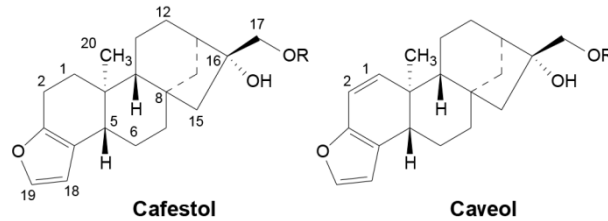


Figura 1. Diterpenos cauranos frequentes no café Arábica (Forma livre: R = OH; Forma esterificada: R = Éster graxo: C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3}, C_{20:0}, C_{22:0} e C_{24:0}).

A determinação do teor lipídico em grãos de café é normalmente realizada por método gravimétrico, composto de extração em Soxhlet com hidrocarboneto alifático de cadeia curta (5 a 7 átomos de carbono), evaporação do solvente e pesagem do óleo obtido. Dois procedimentos oficiais são descritos, um pela Sociedade Alemã de Ciência Lipídica (“German Society of Lipid Science, GSLS”) que utiliza de 4 h de extração e outro pela Associação de Química Analítica (“Association of Official Analytical Chemists, AOAC”) que usa 16 h (GSLC, 1952; AOAC, 1965). A utilização de tempos de extração curta pode resultar em uma lixiviação incompleta do analito sobre a superfície da matriz (Luque de Castro & García-Ayuso, 1998). Enquanto que a exposição prolongada em superfícies aquecidas pode resultar na formação de artefatos devido à termolabilidade das substâncias (Oigman *et al.*, 2012; Dias *et al.*, 2013). Quanto à determinação analítica, o óleo é hidrolisado a fim de produzir moléculas mais simples as quais são analisadas por técnicas cromatográficas como a cromatografia líquida de alta eficiência ou a cromatografia gasosa (CG). Essa última preferencialmente utilizada devido maior poder de separação, detecção e facilidade operacional. Nesse contexto, nós reportamos uma abordagem baseada na extração do óleo de café Arábica verde por soxhlet e investigação dos seus constituintes para correlação com a qualidade da bebida.

MATERIAL E MÉTODOS

Grãos de café Arábica verde (não torrado) foram comprados de produtores do estado de São Paulo (SP) e Minas Gerais (MG). Os grãos foram classificados pelos vendedores de acordo com o método brasileiro prova de xícara (Bartholo & Guimarães, 1997).

Trinta gramas de café arábica cru foram utilizados em extrator Soxhlet com *n*-hexano (grau CLAE, Tedia, Rio de Janeiro, Brasil) na proporção de 1:4 entre amostra e solvente sob refluxo de 4 horas para obter o óleo de café, o qual foi submetido a metanólise assistida por Micro-ondas (single-mode Monowave Anton Paar 300, Graz Austria) na presença de 0,5 de carbonato de cálcio e 3 mL de metanol (grau CLAE, Tedia, Rio de Janeiro, Brasil) por 3 min a 90 °C (Oigman *et al.*, 2012). Posteriormente, o óleo hidrolisado foi filtrado e diluído para uma razão de 1:150 de amostra e metanol para análise por CG.

Cromatógrafo gasoso Agilent 6890 (Palo Alto, CA, USA) equipado com injetor automático HP 7673 e acoplado a detector por ionização em chama aquecido a 365 °C. Hidrôgenio como gás carreador a vazão constante de 50 cm³ s⁻¹. Injetor com divisão de fluxo (1:50) aquecido a 330 °C e pulso de pressão de 25 psi durante os 15 s iniciais. Forno programado a 50 °C (0,25 min), taxa de aquecimento de 15 °C min⁻¹ até 350 °C. Coluna capilar DB-17HT (50% fenil e 50% metilsiloxano, 10 m x 0,25 mm d.i. x 0,15 µm, J&W Scientific/Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os métodos oficiais GSLS (1952) e AOAC (1965) são usados para extração de lipídios do café em Soxhlet por 4 h ou 16 h, respectivamente. Portanto, as extrações foram avaliadas quanto ao tempo de extração e rendimento de óleo. A precisão do método foi expressa pelo desvio padrão relativo (DPR %) entre replicatas das extrações.

Tabela 1. Rendimento de óleo (g 100 g⁻¹) presente no grão de café Arábica verde versus tempo de extração (h).

Rendimento (g 100 g ⁻¹)	GSLS ^a [18] (Soxhlet, 4 h)	AOAC ^b [19] (Soxhlet, 16 h)
Replicata 1	9,47	9,87
Replicata 2	8,79	9,63
Replicata 3	9,47	9,97
Média	9,24	9,83
DP	0,39	0,18
DPR %	4,24	1,84

^a German Society of Lipid Science (GSLS).

^b Association of Official Analytical Chemists (AOAC).

A análise de variância entre os tempos de extração utilizando o teste de Tukey (Software Statistica™ Versão 7, Statsoft, Oklahoma, USA) indicou não haver nenhuma diferença significativa entre os resultados dos tempos de extração avaliados ($p < 0,05$). Portanto, 4 h mostrou ser tempo suficiente para extração do óleo de café como recomendado pelo método GSLS (1952), o qual representa um rendimento no espaço de tempo (g h^{-1}) 4 vezes maior que o método oficial da AOAC (1965).

O procedimento foi utilizado para a extração lipídica em 13 grãos de café arábica verde com o intuito de verificar correlação com a qualidade da bebida (Tabela 2). Diferente do que foi indicado por diversos pesquisadores (Decazy *et al.*, 2003; Franca *et al.*, 2005b; Amorim *et al.*, 2009) nenhuma correlação entre o teor lipídico e a qualidade dos grãos foi encontrada. Esses resultados sugerem que algum componente ou classe de substâncias presentes no óleo de café sejam responsáveis por essa indicação. Jahm *et al.* (2003) avaliaram os derivados acilgliceróis, principais constituintes do óleo de café e não encontraram correlação alguma, o que sugere que essa seja oriunda dos diterpenos.

Tabela 2. Rendimento de óleo ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) presente no grão de café Arábica verde versus a qualidade da bebida.

Número do grão de café (origem) e avaliação pela prova de xícara	Teor de Óleo ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$)
1 (SP) Mole	7,49
2 (MG) Mole	8,26
3 (MG) Duro	8,37
4 (SP) Duro	8,60
5 (MG) Mole	8,60
6 (MG) Duro	8,71
7 (MG) Duro	8,73
8 (SP) Rio	8,85
8 (MG) Mole	8,98
10 (MG) Duro	8,99
11 (MG) Duro	9,21
12 (MG) Duro	9,26
13 (MG) Duro	9,47

A determinação dos diterpenos totais é normalmente realizada após hidrólise do óleo de café, seguida por determinação cromatográfica. Os óleos obtidos anteriormente foram submetidos à metanólise assistida por micro-ondas conforme procedimento desenvolvido por Oigman *et al.* (2012), visto ser esse o mais rápido e simples já descrito na literatura (3 min) e a determinação por CG (Figura 2). Os resultados são sumarizados na Tabela 3.

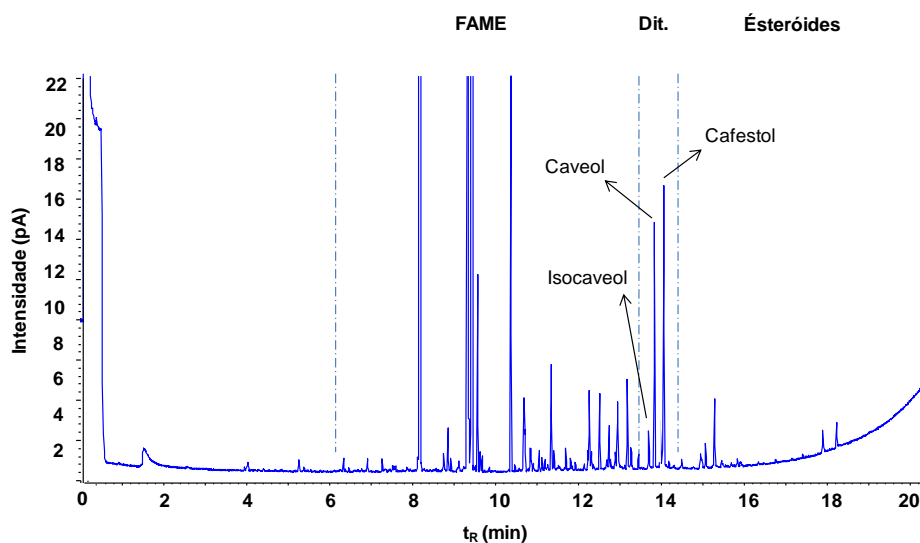


Figura 2. Cromatograma do óleo de café Arábica verde metanolisado obtido em CG com regiões de eluição dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME), diterpenos (Dit.) e esteróides.

A quantidade percentual ($p/p \%$) de caveol e cafestol juntos variou de 8 a 12% nos óleos e de 0,7 a 1% nos grãos, dados esses consistentes com os descritos na literatura (Speer & Kölling-Speer, 2006). Isocaveol também foi encontrado em

alguns grãos. Halvorsen *et al.* (1998) reportaram uma razão média de isocaveol e caveol entre 1:10, similar aos nossos resultados (1:10-18).

Diferenças significativas foram encontradas na proporção entre cafestol e caveol (de 1:2 até 2:1) (Tabela 3). Essa variação tem sido observada na literatura 1:1 (Rui Del Castillo *et al.*, 1999), 1:2 (Dias *et al.*, 2013) e 2:1 cafestol:caveol (Silva *et al.*, 2012), mas sem explicação alguma. No entanto, verificou-se uma correlação dessa razão cafestol/caveol (C/K) com a qualidade dos grãos descrita pelo teste de prova de xícara, onde cafés classificados como de bebida mole apresentaram uma razão C/K > 1,2, enquanto que os de qualidade inferior (duro ou rio) essa razão foi $\leq 0,96$ (Tabela 3). Grãos de cafés com valores de C/K intermediários (0,96-1,2) não foram avaliados, assim como os com valores $\leq 0,6$ e $\geq 1,7$. Até o momento, não há nenhum dado na literatura que correlacione o conteúdo dos diterpenos com a qualidade da bebida.

Coffea arabica L. possui potencial genético para a produção de cafés finos (grande apreciação no mercado internacional). Em geral, a principal causa da perda da qualidade é oriunda da colheita indiscriminada de grãos em estágios de maturação diferentes e de práticas pós-colheita inapropriadas (Franca *et al.*, 2005a), que certamente impactam no conteúdo de biomoléculas como os diterpenos do café e muito provavelmente na proporção entre eles.

Tabela 3. Rendimento ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) de diterpenos livres totais no óleo e grãos de café Arábica verde e correlação com a qualidade da bebida pelo teste de prova de xícara.

Número do grão de café (origem) e avaliação pela prova de xícara	Isocaveol*	Caveol (K)	Cafestol (C)	Razão (C/K)	Total	
	Óleo	Óleo	Óleo		Óleo	Grão
13 (MG) Duro	0,38	6,64	4,25	0,64	11,27	1,07
12 (SP) Rio	Nd	7,50	4,92	0,66	12,42	1,10
4 (MG) Duro	0,35	5,81	4,14	0,71	10,31	0,95
8 (MG) Duro	Nd	6,26	4,59	0,73	10,84	0,91
11 (MG) Duro	Nd	5,95	4,64	0,78	10,59	0,92
7 (MG) Duro	0,32	4,55	3,61	0,79	8,48	0,78
5 (MG) Duro	0,37	5,05	4,05	0,80	9,49	0,83
2 (SP) Duro	0,43	4,35	3,96	0,91	8,74	0,75
10 (MG) Duro	Nd	4,90	4,69	0,96	9,59	0,86
9 (MG) Mole	0,40	3,93	4,80	1,22	9,13	0,82
6 (MG) Mole	Nd	4,87	7,21	1,48	12,08	1,04
3 (MG) Mole	Nd	4,24	6,51	1,54	10,75	0,89
1 (SP) Mole	Nd	4,57	7,55	1,65	12,12	0,91

* Valor estimado.

Nd: Não detectado.

CONCLUSÕES

1. Segundo o teste estatístico de Tukey a extração por Soxhlet em 4 h utilizada pela SGLC é equivalente ao período de 16 h descrito pela AOAC, o que a torna 4 vezes mais eficiente considerando os tempos envolvidos.
2. Nenhuma correlação com o conteúdo lipídico e a qualidade do grão de café pela prova de xícara foi encontrada e por isso uma investigação quanto aos diterpenos do café foi realizada.
3. A cromatografia gasosa proveu por ser uma ferramenta ponderosa, simples e rápida na quantificação e medição da proporção dos diterpenos cafestol, caveol e isocaveol no óleo de café Arábica verde metanolizado, onde se verificou que a razão entre cafestol/ caveol possui uma correlação positiva com a qualidade do café.
4. O procedimento analítico desenvolvido pode ser usado para facilitar o controle de qualidade do café, assim como avaliar a existência de adulteração de grãos pela adição de outros de menor valor, sem necessidade da torra e preparo da bebida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, A.C.L., HOVELL, A. M.C., PINTO, A.C., EBERLIN, M.N., ARRUDA, N.P., PEREIRA, E.J., BIZZO, H.R., CATHARINO, R.R., MORAIS FILHO, Z.B., REZENDE, C.M. Green and roasted arabica coffees differentiated by ripeness, process and cup quality via electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting. *J. Braz. Chem. Soc.* 20:313-321 (2009).
- AOAC Method 14.029, in: Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, tenth ed., AOAC, Washington, 1965.
- BARTHOLO, G. F., GUIMARÃES, P. T. G. Cuidados na colheita e no preparo do café. *Informe Agropecuário*, 18:33-42 (1997).
- DECAZY, F., AVELINO, J., GUYOT, B., PERRIOT, J.J. PINEDA, C. CILAS, C. Quality of different Honduran coffees in relation to several environments. *J. Food Sci.* 68:2356-2361 (2003).

- DIAS, R. C. E., FARIA, A. F., MERCADANTE, A. Z., BRAGAGNOLO, N., BENASSI, M. T. Comparison of extraction methods for kahweol and cafestol analysis in roasted coffee. *J. Braz. Chem. Soc.* 24:492-499 (2013).
- FARAH, A., MONTEIRO, M. C., CALADO, V., FRANCA, A. S., TRUGO, L. C. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chem.* 98: 373-380 (2006).
- FOSTAR, P. Lipids. In: R.J. Clarke, R. Macrae (Eds.), *Coffee Volume 1: Chemistry*, Springer Netherlands, London, 1985, pp. 203-222.
- FRANCA, A. S., MENDONÇA, J. C. F., OLIVEIRA, S. D. Composition of green and roasted of different cup qualities. *LWT – Food Sci. Technol.* 38:709-715 (2005a).
- FRANCA, A. S., OLIVEIRA, L. S., MENDONÇA, J. C. F., SILVA, X. A. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. *Food Chem.* 90:89-94 (2005b).
- German Society for Lipid Sciences (GSLs, “Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft, DGF”), *Einheitsmethoden 1950-1975*, No. B-1b, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. 1952.
- HALVORSEN, B., RANHEIM, T., NENSETER, M. S., HUGGETT, A. C., DREVON, C. A. Effect of a coffee lipid (cafestol) on cholesterol metabolism in human skin fibroblasts. *J. Lipid Res.* 39:901-912 (1998).
- JHAM, G. N., NIKOLOVA-DAMYANOVA, B., VIERA, M., NATALINO, R., RODRIGUES, A. C. Determination of the trigacylglycerol composition of coffee beans by reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Phytochem. Anal.* 14:310-314 (2003).
- LUQUE DE CASTRO, M. D., GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an out dated technique with a promising innovative future. *Anal. Chim. Acta* 369:1-10 (1998).
- OIGMAN, S. S., SOUZA, R. O. M. A., SANTOS JÚNIOR, H. M., HOVELL, A. M. C., HAMERSKI, L., REZENDE, C. M. Microwave-assisted methanolysis of green coffee oil. *Food Chem.* 134:999-1004 (2012).
- OLIVEIRA, S. D., FRANCA, A. S., GLÓRIA, M. B. A., BORGES, M. L. A. The effect of roasting on the presence of bioactive amines in coffees of different qualities. *Food Chem.* 90:287-291 (2005).
- RUI DEL CASTILLO, M. L., HERRAIZ, M., BLACH, G. P. Rapid analysis of cholesterol-elevating compounds in coffee brews by off-line high-performance liquid chromatography/high-resolution gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 47:1525-1529 (1999).
- SILVA, J.A., BORGES, N., SANTOS, A., ALVES, A. Method validation for cafestol and kahweol quantification in coffee brews by HPLC-DAD. *Food Anal. Method* 5:1404-1410 (2012).
- SPEER, K., KÖLLING-SPEER, I. The lipid fraction of the coffee bean. *Braz. J. Plant Physiol.* 18:201-216 (2006).