

CORRELAÇÃO ENTRE PRECURSORES E VOLÁTEIS EM CAFÉ ARÁBICA BRASILEIRO PROCESSADO PELAS VIAS SECA, SEMIÚMIDA E ÚMIDA E DISCRIMINAÇÃO ATRAVÉS DA ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS

Neusa P. Arruda*, Ana M. C. Hovell e Cláudia M. Rezende

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Bl. A, 21941-909 Rio de Janeiro - RJ, Brasil

Suely P. Freitas

Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Bl. E, 21941-909 Rio de Janeiro - RJ, Brasil

Sonia Couri e Humberto R. Bizzo

Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, 23020-470 Rio de Janeiro - RJ, Brasil

Recebido em 20/1/12; aceito em 19/6/12; publicado na web em 31/8/12

CORRELATION BETWEEN PRECURSORS AND VOLATILES IN BRAZILIAN ARABICA COFFEE PROCESSED BY DRY, SEMI-DRY AND WET METHODS AND DISCRIMINATION BY PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS. The influence of pre-processing of arabica coffee beans on the composition of volatile precursors including sugars, chlorogenic acids, phenolics, proteins, aminoacids, trigonelline and fatty acids was assessed and correlated with volatiles formed during roasting. Reducing sugars and free aminoacids were highest for natural coffees whereas total sugars, chlorogenic acids and trigonelline were highest for washed coffees. The highest correlation was observed for total phenolics and volatile phenolics ($R=0.999$). Experimental data were evaluated by Principal Components Analysis and results showed that washed coffees formed a distinct group in relation to semi-washed and natural coffees.

Keywords: aroma precursors; volatiles; pre-processing of coffee.

INTRODUÇÃO

As técnicas de pré-processamento de café mais empregadas são conhecidas como via seca, via semiúmida e via úmida. A opção por cada uma delas impactará fortemente o perfil sensorial, a qualidade e o valor de mercado do produto pós-torra, por influenciar nos teores dos compostos precursores do *flavor*.¹⁻⁵

No preparo por via seca, o fruto é seco integralmente (com casca, polpa, mucilagem, pergaminho e semente), sendo esta a técnica mais utilizada pelos produtores de café no Brasil. Pela via semiúmida, são retirados a casca e o mesocarpo externo dos frutos, encaminhados à secagem com a mucilagem aderida ao pergaminho, dando origem aos cafés despulpados. Este processo leva à eliminação da parte externa do fruto, que representa 20% do fruto cereja e contém cerca de 60% da água, que não interessa ao cafeicultor. No preparo por via úmida, os cafés recém-despulpados são desmucilados (o mesocarpo interno é digerido), na maioria dos casos em excesso de água, por fermentação mediada pela microbiota nativa ou por catálise enzimática exógena, dando origem aos cafés desmucilados.⁶ Os grãos obtidos por via seca produzem bebidas mais encorpadas, o que tem sido associado à translocação de substâncias presentes na polpa para dentro das sementes de café.^{7,8} Em paralelo, os cafés despulpados e lavados fornecem bebidas mais suaves, o que classicamente é associado à remoção mecânica e lixiviação de alguns precursores de aroma.⁹

A comparação sobre os teores de açúcares e aminoácidos entre grãos lavados e não lavados sugere a ocorrência de germinação e processos bioquímicos que, embora ainda não totalmente elucidados, resultam em diferenças importantes nos teores de precursores do *flavor*, que ao final conferem as características peculiares de cada produto.¹⁰⁻¹⁴

O processo de torra do café aumenta a pressão dentro do grão, necessária para que as reações químicas ocorram. Pelo aumento de temperatura ocorrem, principalmente, a decomposição dos açúcares, a descarboxilação de ácidos carboxílicos, os rearranjos e as reações entre aminoácidos e açúcares via reações de Maillard e Strecker, formando inúmeros compostos de classes químicas bastante distintas.^{1,2} Através de mecanismos térmicos já bem descritos os ácidos clorogênicos, principais compostos fenólicos do café, são primeiramente hidrolisados a ácido quínico e ácidos cafeicos, que por pirólise formam os fenólicos voláteis. Os ácidos cinâmicos produzem os predominantes vinil-fenóis por descarboxilação.³

A MEFS é empregada na análise de voláteis de café com várias finalidades, como na avaliação da qualidade da bebida, na comparação de eficiência com outras técnicas de captura de voláteis, na caracterização das condições de torra, na diferenciação entre espécies e, mais recentemente, na avaliação da influência das condições da moagem de grãos torrados.¹⁵⁻¹⁷ Quanto às condições de processamento dos grãos, a aplicação da microextração em fase sólida ao *headspace* da amostra, seguida da análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (*HS-MEFS-CG-EM*), foi empregada para avaliar o efeito de quatro diferentes pré-processamentos do café arábica por via úmida sobre a fração volátil: foram identificados 62 compostos para o café verde e 102 para o café torrado. As amostras foram discriminadas, nos dois estudos, utilizando ACP (análise por componentes principais), por grupos de notas aromáticas, mas a composição dos precursores não foi discutida nesses trabalhos.¹⁸

O objetivo deste trabalho foi investigar a influência do pré-processamento sobre os precursores de voláteis presentes nos grãos de um café arábica (*Coffea arabica*, variedade *Catuai Amarelo*), oriundos de mesma origem geográfica e selecionados em condições controladas de campo. Os dados de composição química quanto aos açúcares solúveis e totais, ácidos clorogênicos, fenólicos totais, proteínas,

*e-mail: neusa.arruda@ifrj.edu.br

aminoácidos livres, trigonelina e ácidos graxos foram correlacionados com os voláteis produzidos após a torra. Foi empregada a análise por componentes principais dos dados experimentais de composição química para discriminar as amostras por tipo de pré-processamento e avaliar quais precursores são mais importantes na discriminação.¹⁹

PARTE EXPERIMENTAL

Amostragem

As amostras de café arábica (*Coffea arabica*, variedade *Catuai Amarelo*) foram originárias de plantas de mesma quadra de plantio, da Fazenda São Francisco (município São José do Vale do Rio Preto, RJ, Brasil), safra 2005/2006, entre os meses de julho e setembro de 2006. Os frutos foram colhidos, seletivamente, no estádio cereja. A colheita foi realizada de forma casualizada na área reservada ao experimento, de modo a obterem-se 3 sacas de 60 kg de grãos para cada tipo de amostra. Os grãos foram submetidos aos tratamentos: (i) por via seca, sendo obtido o café cereja natural, por secagem em terreiro suspenso por 5 dias; (ii) por via semiúmida, pela remoção mecânica da casca e polpa antes da secagem, gerando o café despulpado e (iii) por via úmida, pela retirada da casca e mucilagem, por fermentação natural pela microbiota endógena, em tanques com excesso de água por 16 h, e lavagem ao final do período para retirada do material de fermentação, gerando o café desmucilado. Após os tratamentos (ii) e (iii) os cafés foram, também, conduzidos a terreiros suspensos e secos por 5 dias. A secagem final ocorreu em forno à lenha até umidade próxima a 12% m/m (balança Marte-1200). Parte dos grãos foram submetidos à torra média (155 °C/15 min). As amostras foram armazenadas em freezer a -20 °C. Imediatamente antes de cada análise, 200 g de cada café, cru ou torrado, foram moídos em moinho de facas Tecnal, modelo TE-650.

Ácidos cafeoilquínicos

Os ácidos 3-cafeoilquínico (3-CQA), 4-cafeoilquínico (4-CQA) e 5-cafeoilquínico (5-CQA) foram extraídos com solução aquosa de metanol 40% (v/v) e determinados por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando sistema de gradiente (Shimadzu LC-10-AD, Kyoto, Japão); detecção por ultravioleta (UV, detector Shimadzu LC-10-AD), em 325 nm; coluna ODS-C18 (Rexchrom: 5 µm, 250 x 4,6 mm DI, Regis, Morton Grove, IL, EUA). Foi aplicado um gradiente utilizando tampão citrato 10 mmol L⁻¹ e metanol. Os padrões foram adquiridos da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA). Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de café cru.²⁰

Fenólicos totais

A metodologia empregada para determinação dos fenólicos totais seguiu o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, utilizando curva de calibração com padrões de ácido gálico (0; 5,0; 10; 15; 25, 40 e 50 mg L⁻¹). As reações com padrões e amostras foram realizadas em meio básico (solução aquosa de carbonato de sódio) e a leitura da absorbância feita a 765 nm. Os resultados foram expressos como equivalentes de ácido gálico g⁻¹ de café cru (mg AG g⁻¹) ou (EAG). Reagente de Folin-Ciocalteu e padrão de ácido gálico foram adquiridos da Fisher Scientific International, Inc. (EUA).²¹

Açúcares solúveis, redutores e totais

O teor de açúcares redutores foi obtido pelo método titulométrico de Lane-Enyon.²² O cátion cúprico do reativo de Fehling (solução alcalina de sulfato de cobre em tampão de tartarato duplo de sódio

e potássio) foi reduzido, por titulação, a óxido cuproso, pelos açúcares redutores do meio aquoso em que a amostra foi dispersada. A determinação dos teores de açúcares totais foi feita em hidrolisado ácido (HCl 12 mol L⁻¹) neutralizado com solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹. Os açúcares não redutores foram encontrados pela diferença entre os totais e os redutores, sendo os resultados expressos em g 100 g⁻¹ de café cru. Para padronização foi empregada solução de glicose 5,0% (m/v).

Aminoácidos livres

Os aminoácidos livres foram extraídos com solução etanol:água (80:20) e determinados em um analisador de aminoácidos (Dionex DX-300, EUA), equipado com detector UV. Para a separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi empregada coluna de troca catiônica, seguida de reação pós-coluna com ninidrina. Foi utilizada solução padrão de aminoácidos Pierce (EUA). Os resultados foram expressos em g 100 g⁻¹ de café cru.²³

Aminoácidos totais

Esta determinação foi realizada após hidrólise ácida (HCl 6 mol L⁻¹/110 °C/22 h) de uma massa de amostra correspondente a aproximadamente 25 mg de proteína. Após evaporação do ácido, as amostras foram ressuspensas em tampão borato 0,20 mg mL⁻¹. O perfil de aminoácidos totais foi obtido por CLAE, após derivatização pré-coluna com o reagente 6-aminoquinolil-*N*-hidroxissuccinimidil carbamato. A separação foi realizada em coluna de fase reversa (Hypersil ODS, Thermo Scientific, EUA) e a detecção foi por UV a 254 nm. Os resultados foram expressos em g 100 g⁻¹ de café cru.²⁴

Trigonelina

Para extração da trigonelina 2,0 g de amostra foram agitados com 100 mL água a 100 °C/5 min. A determinação foi realizada por CLAE, utilizando coluna Spherisorb ODS2 (5 µm, 250 x 4,6 mm DI). O sistema de solventes empregado foi um gradiente com tampão fosfato 0,20 mol L⁻¹ (pH 4,0) e metanol. A detecção foi feita por UV a 268 nm. Para quantificação foi utilizado padrão da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA), sendo os resultados expressos em g 100 g⁻¹ de café cru.²⁵

Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa, após derivatização aos respectivos ésteres metílicos (reagente: metanol em meio básico), no equipamento HP-5890 Serie II, Agilent (EUA). A separação dos ésteres foi realizada em coluna FFAP (0,3 µm, 25 m x 0,2 mm D.I.). Para quantificação foram utilizados padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA), sendo os resultados foram expressos em g 100 g⁻¹ de óleo extraído do café cru por *Soxhlet*, utilizando hexano como solvente.²⁶

Microextração em fase sólida (MEFS)

A extração dos compostos voláteis foi realizada através de MEFS, com o emprego da fibra de DVD (divinil-benzeno)/CAR (carboxen) sobre PDMS (polidimetilsiloxano) 50/30 µm. O *headspace* foi formado a partir de 1,00 g do café torrado moído, com aquecimento a 60 °C por 30 min, em frasco com selo de politetrafluoretileno (PTFE) de 5 mL; a fibra ficou exposta ao *headspace* por 15 min e a dessorção dos compostos ocorreu no injetor do

cromatógrafo, operado no modo sem divisão de fluxo, a 250 °C, durante 5 min.

Caracterização da fração volátil por CG-EM

A análise cromatográfica para determinação dos compostos voláteis foi realizada em cromatógrafo Agilent 6890. Foi utilizada coluna capilar de polietilenoglicol (DBWax, J&W Corp., 25 m x 0,2 mm de D.I. x 0,25 mm de espessura de filme); programação do forno: 40 °C (5 min)/4 °C min⁻¹/230 °C (20 min), com pressão constante do gás de arraste He a 10 psi, temperatura do injetor 250 °C (sem divisão de fluxo). As áreas relativas aos picos cromatográficos, para efeito de tratamento estatístico, foram adquiridas em um detector de ionização de chama (DIC) a 260 °C. Os espectros de massas foram obtidos com um detector seletivo de massas Agilent modelo 5973, operando no modo ionização eletrônica (70 eV), temperatura de linha de transferência em 280 °C e fonte íons em 220 °C. Os índices de retenção linear (IRL) foram calculados por injeção de uma série padrão de *n*-alcanos (C₇-C₂₈) nas mesmas condições de análise. A identificação dos compostos foi realizada a partir dos espectros de massas em comparação com a biblioteca eletrônica NIST 2.0, cálculo dos índices de retenção linear (IRL) e comparação com a literatura, bem como pela co-injeção de alguns padrões externos adquiridos da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA), grau CG (piridina, pirazina, 2,5-dimetil-pirazina, 2,6-dimetil-pirazina, 2,3-dimetil-pirazina, 2-etil-6-metil-pirazina, 2-etil-5-metil-pirazina, furfural, 5-metil-2-furil-carboxaldeído, maltol, 2-metoxi-4-etil-fenol, 2-metoxi-4-vinil-fenol). Foram considerados para a análise quimiométrica apenas os compostos identificados com similaridade na comparação do espectro de massas maior que 90%.²⁷

Análise quimiométrica

Foi aplicado o teste *t* não pareado para definir diferenças significativas de composição química entre as amostras independentes. As correlações entre precursores de *flavor* e áreas cromatográficas relativas aos voláteis do café torrado, obtidas por MEFS-CG-EM foram realizadas pelo teste de Pierson. A discriminação entre as amostras dos diferentes tipos de pré-processamento foi realizada pela análise por componentes principais (ACP), a partir de uma matriz (9 x 9) de amostras versus os valores da composição química (3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, fenólicos totais, açúcares redutores, açúcares totais, aminoácidos livres, aminoácidos totais, trigonelina) avaliados no café cru. Para cada tipo de pré-processamento foram avaliadas 3 amostras. Foi utilizado o programa Unscrambler versão 9.1 (Camo Corp.) e os dados foram normalizados pela média e autoescalados. Pela análise das coordenadas dos *loadings* foram identificados os parâmetros mais importantes na discriminação entre as amostras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Precusores de voláteis

Açúcares

Foram determinados os teores de açúcares redutores e totais nos cafés diferentemente pré-processados. O café natural apresentou o maior teor de açúcares redutores e o café demucilado o menor teor (Tabela 1), como já relatado em estudos anteriores com café arábica cereja.²⁸

O teor de açúcares redutores mais elevado encontrado no café natural parece estar associado à manutenção do exocarpo e do mesocarpo durante a secagem, este último rico em açúcares. Ao longo do processo ocorre degradação e transporte passivo de componentes

Tabela 1. Teor de açúcares, aminoácidos, proteínas, trigonelina, ácidos clorogênicos e ácidos graxos em cafés arábica (*Coffea arabica*, variedade Catuaí Amarelo) crus

Tipo de café	natural	despolpado	demucilado
Açúcares solúveis (g 100 g ⁻¹ café cru)			
açúcares redutores	0,943 ± 0,0287 ^a	0,522 ± 0,0189 ^b	0,135 ± 0,00654 ^c
açúcares totais ^A	7,98 ± 0,235 ^a	7,54 ± 0,188 ^a	8,98 ± 0,323 ^b
Nitrogênio proteico (g 100 g ⁻¹ café cru)			
aminoácidos livres totais	1,15 ± 0,0700 ^a	0,757 ± 0,0218 ^b	0,674 ± 0,0217 ^c
proteína total (SER+THR+ARG+LYS) ^B	10,6 ± 0,360 ^a	11,7 ± 0,500 ^b	12,5 ± 0,501 ^b
	2,12	2,36	2,61
Trigonelina (g 100 g ⁻¹ café cru)			
	1,17 ± 0,0402 ^a	1,13 ± 0,0501 ^a	1,37 ± 0,0767 ^b
CQA (mg g ⁻¹ café cru)			
3-CQA	4,2 ± 0,33 ^(a) 9,2% ^(b)	4,1 ± 0,060 ^(a) 8,6% ^(b)	4,9 ± 0,31 ^(b) 9,3% ^(b)
4-CQA	6,2 ± 0,84 ^(a) 13,5% ^(b)	7,1 ± 0,44 ^(a,b) 15,1% ^(a)	8,0 ± 0,45 ^(b) 15,0% ^(a)
5-CQA	35,3 ± 0,304 ^(a) 77,3% ^(a)	36,1 ± 1,66 ^(a) 76,3% ^(b)	39,4 ± 1,57 ^(b) 75,3% ^(b)
Total CQA	45,7 ± 1,47 ^(a)	47,3 ± 2,16 ^(a)	52,3 ± 2,33 ^(b)
Fenólicos totais (mg.g ⁻¹ café cru - EAG)			
	34,9 ± 0,479 ^a	36,4 ± 0,603 ^b	38,1 ± 0,807 ^c
Composição percentual em ácidos graxos			
Ácido graxo	G 100 g ⁻¹ óleo do café cru		
C16:0	37,3 ± 1,53	38,8 ± 1,59	37,6 ± 1,54
C18:0	7,30 ± 0,336	7,80 ± 0,718	7,50 ± 0,690
C18:1	11,8 ± 1,80	11,6 ± 1,76	11,3 ± 1,72
C18:2	37,6 ± 2,34	38,1 ± 2,38	38,3 ± 2,39
C18:3	1,40 ± 0,183	1,40 ± 0,183	1,40 ± 0,183
C20:0	2,30 ± 0,201	2,30 ± 0,201	2,20 ± 0,192
Total	97,8	100,0	98,3

Resultados expressos como média ± desvio padrão de 5 replicatas. ^(A) Os teores de açúcares não redutores foram calculados através da diferença entre totais e redutores (fator sacarose: 0,95). Valores seguidos de letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes. ^(B) O somatório SER+THR+ARG+LYS representa os teores destes aminoácidos ligados, calculado pela subtração entre aqueles determinados pela análise da proteína total e aqueles determinados pela análise dos aminoácidos livres.

para o interior dos grãos, tendo em vista o teor elevado de água no endosperma. A remoção do exocarpo nos cafés despolpados e demucilados leva à perda de açúcares e de outras moléculas de baixa massa molecular, por lixiviação ou metabolismo exógeno.^{6,9} Na etapa de fermentação, que ocorre no processo por via úmida, a concentração de oxigênio cai rapidamente devido à ação microbiana, enquanto no processo por via seca o café se mantém num ambiente aeróbico, em que o metabolismo respiratório é predominante. Em comparação com a respiração, a fermentação consome mais moléculas de hexoses para gerar o mesmo número de moléculas de adenosina trifosfato (ATP). Isto sugere que o declínio de açúcares redutores no processo por via úmida é provocado pela mobilização dessas reservas.²⁹

O café processado por via úmida apresentou, por sua vez, maior teor de açúcares totais em relação aos cafés processados por

via seca e semiúmida, como verificado anteriormente para cafés arábica var. Acaíá.²⁸ Isto parece estar relacionado à germinação das sementes, que começa ocorrer nos tanques de fermentação da mucilagem, acarretando o consumo de açúcares redutores e a hidrólise de polissacarídeos para a síntese de açúcares de acumulação, virtualmente a sacarose, principal carboidrato de acumulação no endosperma do café.^{14,30}

Aminoácidos livres e proteína total

O café natural apresentou o maior teor de aminoácidos livres, enquanto o café desmucilado revelou o menor teor, possivelmente pelo arraste desses constituintes de baixo peso molecular para a solução de degomagem, no processo por via úmida. O café despulpado, que foi ao terreiro com a mucilagem aderida, apresentou um teor de aminoácidos livres intermediário entre os dois outros processos (Tabela 1). Quanto ao teor de proteínas totais, os cafés processados por via úmida e semiúmida apresentaram os maiores valores em comparação ao café natural (Tabela 1). Não houve, portanto, indícios de perda das moléculas maiores para a solução de degomagem, e a perda de pequenas moléculas provocou um aumento percentual das primeiras. É possível sugerir, ainda, que houve mobilização de aminoácidos livres para a síntese de novas proteínas de reserva, indício de germinação, devido ao ambiente favorável às reações bioquímicas pelo imersão em excesso de água.³¹

Trigonelina

A trigonelina (1-metil-3-carboxipiridina) está entre os alcaloides mais importantes do café. Sua degradação térmica gera pirróis e piridinas, relevantes para o *flavor* do café torrado. É produzida a partir do ácido nicotínico, mas em estágios avançados de germinação, parece ter função de reserva de ácido nicotínico para uma futura conversão à coenzima nicotinamida adenina dinucleotídico (NAD).³²

O teor de trigonelina foi maior para o café desmucilado, seguido pelo café despulpado e o café natural (Tabela 1). Os resultados sugerem não ter havido perda do alcaloide pelo excesso de água empregado no processo de desmucilagem e que, possivelmente, a etapa fermentativa promoveu o aumento relativo do alcaloide no grão. Este efeito não foi observado no café despulpado, o que novamente reforça indícios de processos metabólicos na biossíntese, possivelmente devido à sua função como fator de germinação.

Ácidos cafeoilquínicos (ACQ) e fenólicos totais

Os compostos fenólicos possuem alto potencial redox, sendo assim, substratos preferenciais no combate ao estresse oxidativo provocado por circunstâncias de campo, como alta intensidade luminosa, fraturas físicas, deficiências nutricionais, ataque de insetos e micro-organismos e alterações climáticas. Além da funcionalidade, contribuem expressivamente como precursores de *flavor* no café torrado.³³ A retirada da polpa e da mucilagem do fruto do café, decorrente do processo via úmida, provocou aumentos relativos médios de 18% de 3-CQA, 20% de 4-CQA e 10% de 5-CQA em relação aos cafés despulpado e natural, que não se distinguiram estatisticamente (pelo teste t não pareado) (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores que compararam os processos pelas vias seca e úmida e pelas vias semiúmida e úmida.^{34,35}

O teor de ácidos clorogênicos na casca e na polpa dos grãos maduros do café é baixo em relação ao endosperma. Durante a desmucilagem por fermentação ocorre perda de íons e moléculas de baixa massa molecular, o que poderia ter acarretado o aumento relativo do teor do ACQ. A mesma tendência foi observada para os fenólicos totais: o café desmucilado apresentou teor 12% superior em relação aos cafés despulpado e natural, que não se distinguiram estatisticamente (Tabela 1).

Ácidos graxos

A composição relativa dos ácidos graxos nos grãos do café foi equivalente para os três processamentos, revelando que as técnicas de pós-colheita empregadas não afetam o perfil saponificável (Tabela 1). Em média, 85% da composição lipídica do café está na forma de triacilglicerídeos, material de reserva para germinação, preservada em numerosas estruturas semelhantes a gotas esféricas no interior das células. O manejo adequado na fase de colheita do fruto evita a degeneração das membranas e da parede celular, controlando a permeabilidade na pós-colheita.³⁶

Correlação entre precursores dos cafés crus e voláteis produzidos durante a torra

Dentre os inúmeros estudos sobre a composição química volátil do café, contribuições importantes foram dadas pelo grupo de Werner Baltes (*Model studies on aroma formation in coffee*), ao lado de Holscher e Tressl. Em 1987 e 1990, respectivamente, os autores divulgaram estudos modelos para café com reações entre aminoácidos e a sacarose, onde foi verificado que após a torra do grão do café, estes compostos eram quase completamente degradados; a pirólise era parte integrante na formação de compostos de aroma, pela qual foram identificadas cerca de 20 alquilpirazinas; serina e treonina sofriram descarboxilação e dimerização para produzir pirazinas (outros aminoácidos também formariam pirazinas apenas via degradação de Strecker); serina e treonina seriam precursores de oxazolas. Foram identificadas cerca de 350 substâncias, destacando-se furanos e suas estruturas mistas, pirróis, piridinas, pirazinas; oxazolas e compostos carboxílicos. Uma complexa rota de reações se descortinava para a formação de voláteis no café torrado, dependente de precursores nitrogenados e carbonilados, mas que logo foram acrescidos dos ácidos clorogênicos, lipídeos e carotenoides.³⁷

Recentemente, um estudo avaliou o perfil de voláteis por HS-MEFS-CG-EM de cafés torrados diferentemente pré-processados e colhidos em diferentes estádios de maturação (verde, cereja e boia). A análise por componentes principais discriminou as amostras e ficou evidenciado que o café cereja desmucilado gerou o *headspace* mais rico (maior área cromatográfica total) e, como consequência, apresentou o maior distanciamento quimiométrico em relação aos demais cafés. O café verde natural gerou o *headspace* mais pobre.¹⁹

O agrupamento quanto às classes funcionais mostrou predominância de furanos (cerca de 31%), seguidos de pirazinas (11%), fenóis (9%) e pirróis (8%), que são efetivamente as funções majoritárias da fração volátil do café arábica torrado. Esta divisão tem sido adotada na literatura, mas deve-se ressaltar que há inúmeros compostos de funções mistas que são alocados aleatoriamente nas classes majoritárias específicas.¹⁸

A seguir discute-se a correlação entre estas principais classes de voláteis e os teores de precursores de *flavor* apresentados na Tabela 1.

Açúcares e voláteis nitrogenados

O grupo de compostos característicos das rotas de Maillard e Strecker no café torrado (piridinas, pirazinas, pirróis e aldeídos) representou cerca de 37% do *headspace* analisado por MEFS, e o maior teor foi observado para o café desmucilado, seguido do café natural e do café despulpado (material suplementar). O grupo das pirazinas se destacou com 11% em área absoluta, resultado próximo à média de 14% descrita anteriormente.³⁷ Foram identificadas 21 pirazinas, predominando a 2-metil-pirazina, cuja formação aumenta com o progresso da torra.^{38,39}

Os pirróis representaram a segunda função nitrogenada em maior concentração (cerca de 8%) sendo predominantes os de função

mista, já bem identificados em café, como 1-(1*H*-pirrol-2-il)-etanona, *N*-fúril-2-metil-pirrol, 1*H*-pirrol-2-carboxaldeído e 1-metil-1*H*-pirrol-2-carboxaldeído, constituintes de impacto no aroma de cafés torrados. Pirróis estão associados à degradação da trigonelina.⁴⁰

Na Figura 1 são apresentados, em *biplot*, o perfil de variação do teor de açúcares solúveis totais do café cru e o somatório das áreas cromatográficas absolutas das substâncias nitrogenadas com origem associada aos mecanismos de Maillard e Strecker, no *headspace* dos cafés torrados (material suplementar). Foi observada alta correlação entre os parâmetros açúcares totais e voláteis nitrogenados ($R = 0,993$, pelo teste de Pierson), ressaltando que os fatores que contribuem para o aumento no teor de açúcares tendem a aumentar linearmente a produção deste importante grupo de aromatizantes.

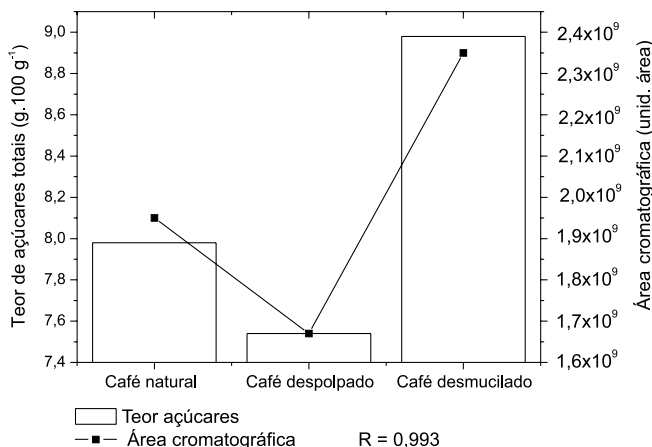


Figura 1. Correlação entre açúcares totais no café cru e somatório das áreas cromatográficas relativas aos voláteis nitrogenados nos cafés arábica torrados submetidos a diferentes pré-processamentos, obtidas por MEFS-CG-EM

Aminoácidos, trigonelina e voláteis nitrogenados

Não foi observada correlação entre o teor de aminoácidos livres e o somatório das áreas cromatográficas (material suplementar) dos voláteis nitrogenados ($R = 0,0407$, pelo teste de Pierson).

Como os fragmentos de aminoácidos específicos, originalmente ligados às proteínas desnaturadas, enriquecem o ambiente das reações térmicas, sendo mais lábeis a serina, arginina, treonina e lisina, os teores destes aminoácidos foram somados aos teores dos aminoácidos livres para correlacionar com a área cromatográfica dos voláteis nitrogenados, tendo sido obtido valor expressivamente superior àquele obtido anteriormente ($R = 0,833$), reforçando a importância de sua participação destacada na formação dos voláteis durante a torra.⁴¹

Ainda foi possível melhorar a correlação pela inclusão do teor de trigonelina ($R = 0,997$) (Figura 2), sugerindo sua participação direta na formação de voláteis nitrogenados do café torrado. A correlação entre os teores de trigonelina e o somatório das áreas cromatográficas relativas às piridinas e pirróis, de acordo com o mecanismo tradicional de degradação em condições de torra sugerido para a trigonelina, apresentou valor de $R = 0,794$, indicando que a origem destes compostos associados ao *flavor* do café torrado tem forte contribuição de rotas mistas.⁴⁰

Açúcares e furanos, piranos e cetonas

O café desmucilado mostrou-se mais rico na composição de furanos, seguido do café natural e do despulpado.

Os furanos são majoritariamente formados no processo de degradação térmica dos açúcares. Conferem atributos como doce, frutal, nozes ou caramelo aos alimentos termoprocessados, mas

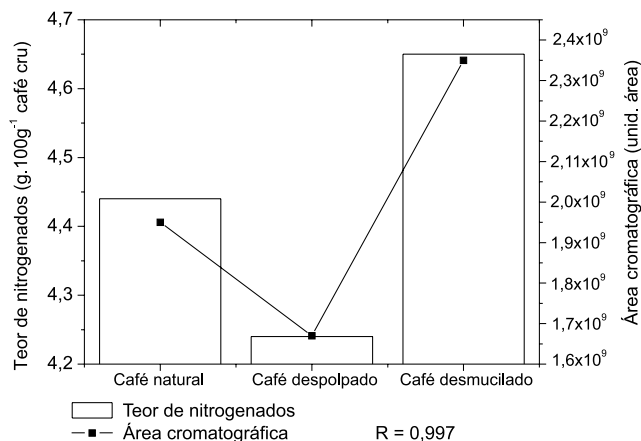


Figura 2. Correlação entre compostos nitrogenados do café cru e somatório das áreas cromatográficas relativas aos voláteis nitrogenados do café torrado, obtidas por MEFS-CG-EM

com a introdução de outros grupos funcionais tendem a aumentar a complexidade sensorial.² Neste trabalho, os furanos responderam por cerca de 22% dos compostos identificados no *headspace*. Entre os furanos identificados destacaram-se: o 2-fúril-metanol, apresentando as maiores concentrações no *headspace* dos três processos, composto que confere sensações de queimado e amargo, já descrito como predominante no *headspace* do café torrado e formado progressivamente durante a torra; o 5-metil-2-fúril-carboxaldeído, composto de odor doce-apimentado, cuja formação é atribuída à degradação da glicose ou a partir do intermediário de Amadori e, o acetato de 2-fúril-metanol, de odor herbáceo-floral, considerado o éster furfúrico presente em maior concentração no café.^{16,41-43}

A área cromatográfica total relativa aos furanos apresentou importante correlação com o teor de açúcares totais nos cafés crus processados ($R = 0,887$).

Os piranos não se apresentaram muito expressivos na fração volátil dos cafés analisados por MEFS com a fibra mista empregada, e responderam por 1,5% da fração do *headspace*. Destacou-se o maltol (3-hidróxi-2-metil-4(*H*)-piran-4-ona), em maior proporção no café despulpado, cuja formação está relacionada com a degradação térmica de dissacarídeos.⁴⁴ As cetonas são parte importante do *flavor* do café torrado, relacionadas à degradação de carboidratos. Foi verificado um percentual expressivo de cetonas alicíclicas e insaturadas, com ênfase para o café desmucilado. Dentre estas, destaca-se 3-metil-2-hidróxi-ciclopenten-1-ona, associada ao odor caramelo-doce que tende a ressaltar o *flavor* do café arábica.^{45,46}

A fração total dos voláteis oriunda caracteristicamente da degradação de açúcares (furanos, piranos e cetonas) apresentou importante correlação com os teores de açúcares totais dos cafés crus ($R = 0,897$ - Figura 3).

Nitrogênio proteico e furanos, cetonas e piranos

Já foram publicados estudos sobre a formação de furanos a partir da degradação de aminoácidos, mas as rotas preferenciais não foram totalmente estabelecidas. Estas incluem as reações de Maillard e degradação térmica de aminoácidos, ácidos graxos poli-insaturados e de carotenoides.⁴⁶ Neste estudo foi observado que as áreas cromatográficas relativas aos compostos característicos da degradação de açúcares (furanos, piranos e cetonas) se correlacionaram fortemente com o teor de nitrogênio proteico mais sensível à degradação e participação nas rotas reacionais envolvidas na torra – aminoácidos livres totais + SER+THR+ARG+LYS ligados ($R = 0,978$ - Figura 4), reforçando a complexidade da origem destes voláteis.

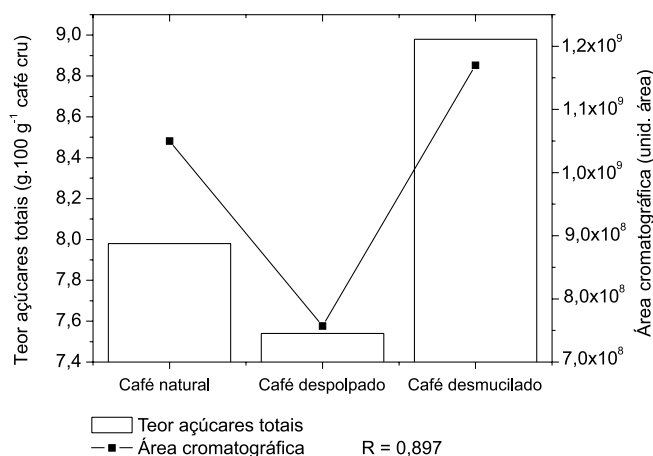


Figura 3. Correlação entre os teores de açúcares totais do café cru e somatório das áreas cromatográficas relativas aos voláteis furanos, piranos e cetonas do café torrado, obtidas por MEFS-CG-EM

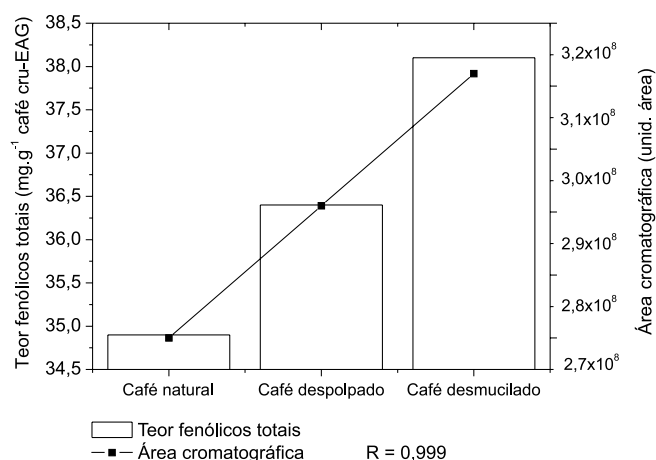


Figura 5. Correlação entre o teor de fenólicos totais do café cru e somatório das áreas cromatográficas relativas aos voláteis fenólicos do café torrado, obtidas por MEFS-CG-EM

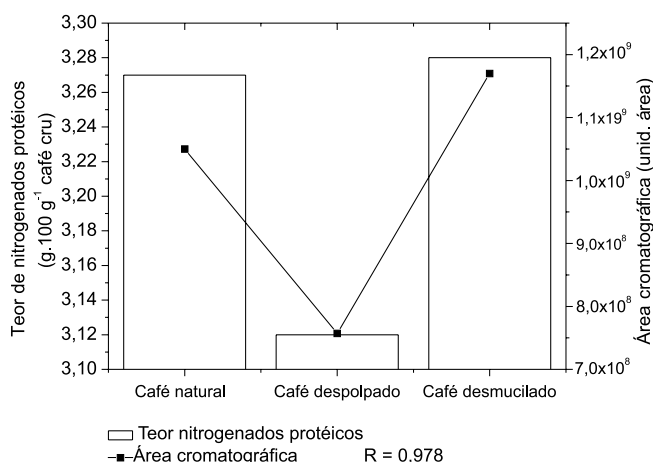


Figura 4. Correlação entre os teores de nitrogenados do café cru e o somatório das áreas cromatográficas dos voláteis furanos, cetonas e piranos do café torrado, obtidas por MEFS-CG-EM

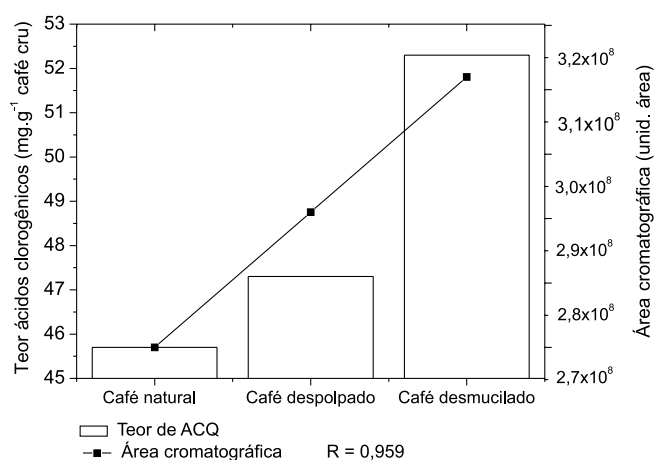


Figura 6. Correlação entre teores dos ácidos clorogênicos do café cru e somatório das áreas cromatográficas relativas aos voláteis fenólicos do café torrado, obtidas por MEFS-CG-EM

Ácidos clorogênicos, fenólicos totais e fenólicos voláteis

O café desmucilado, seguido do despulpado e do natural, apresentou o maior teor de fenólicos voláteis, que foi a terceira classe de compostos majoritários no *headspace* dos cafés torrados (9%, em média). Destacaram-se o 2-metoxi-4-vinil-fenol e 2-metoxi-4-etil-fenol (vinil e etil-guaiaacóis). Os guaiacóis são os principais representantes fenólicos do *flavor* do café torrado, formados a partir de resíduos do ácido ferúlico, por ruptura da estrutura da lignina ou por descarboxilação dos ácidos clorogênicos.⁴⁷

Foi observada alta correlação ($R = 0,999$) entre os teores de compostos fenólicos totais no café cru e a área cromatográfica relativa aos fenólicos voláteis do café torrado (Figura 5). A correlação entre os ácidos clorogênicos e os fenólicos voláteis também apresentou, como esperado, valor elevado ($R = 0,959$ - Figura 6). A operação de desmucilagem do café cereja foi importante para aumentar o teor de compostos fenólicos do café cru e, proporcionalmente, enriquecer o grão torrado de importantes constituintes de *flavor*:

Análise por componentes principais (ACP)

A análise multivariada através da ACP, utilizando parâmetros da composição química (teores de precursores) separou, com 81% da variância total nos dois primeiros CPs, o café desmucilado dos cafés natural e despulpado (Figura 7). A análise das coordenadas dos pesos

(loadings) permitiu observar que os parâmetros mais importantes na diferenciação foram açúcares redutores, aminoácidos livres, proteína total e fenólicos totais. Os cafés desmucilados correlacionaram-se positivamente com 3-ACQ, 4-ACQ, 5-ACQ, proteína total, açúcares totais e trigonelina; já os cafés natural e despulpado correlacionaram-se positivamente com aminoácidos livres, açúcares redutores e fenólicos totais. A avaliação global dos dados reforça as informações de que existem diferenças físico-químicas ou metabólicas entre os tipos de processamentos pós-colheita. Como todos os parâmetros avaliados no café cru mostraram-se fortemente correlacionados com a formação de compostos de *flavor* durante a torra (avaliados por CG-HS-MEFS-EM) e, em sua maioria, mostraram correlação positiva com o café desmucilado, fica evidenciada a importância de se investir neste tipo de tratamento para produção de cafés de qualidade superior. Não foi observado distanciamento quimiométrico significativo entre os cafés processados pelas vias natural e semiúmida.

CONCLUSÕES

Foi possível observar uma forte influência do pré-processamento dos cafés arábica crus no teor dos principais precursores de voláteis, como os açúcares redutores e aminoácidos livres para o café cereja natural e açúcares totais, ácidos clorogênicos e trigonelina no café

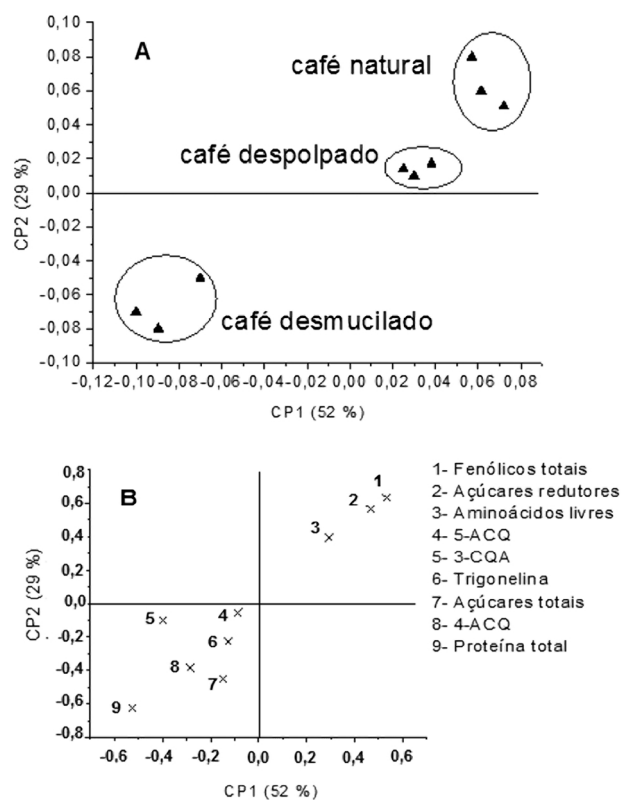


Figura 7. Gráficos de (A) escores e (B) pesos (loadings), obtidos pela ACP para discriminar as amostras de café arábica por tipo de pré-processamento, utilizando parâmetros da composição química

processado por via úmida. A composição relativa dos ácidos graxos nos grãos do café foi equivalente para os três processamentos. Quanto às correlações entre precursores x voláteis, analisadas pelo teste de Pierson, as mais representativas foram observadas para açúcares totais e voláteis nitrogenados, fenólicos totais no café cru e os fenólicos voláteis do café torrado, assim como ácidos clorogênicos e fenólicos voláteis. Outras correlações importantes foram verificadas entre açúcares totais e furanos, piranos e cetonas, entre os aminoácidos livres com destaque para serina, arginina, treonina e lisina e compostos nitrogenados, assim como com furanos, piranos e cetonas. A análise por componentes principais das variáveis de composição química precursora de compostos de *flavor*, produzidos durante a torra, discriminou o café desmucilado dos cafés natural e despulpado. Os cafés desmucilados correlacionaram-se positivamente com 3-ACQ, 4-ACQ, 5-ACQ, proteína total, açúcares totais e trigonelina; já os cafés natural e despulpado correlacionaram-se positivamente com aminoácidos livres, açúcares redutores e fenólicos totais. Estes dados visam colaborar para o entendimento, ao nível molecular, dos fenômenos que ocorrem durante os tratamentos de campo a que são submetidos os grãos de cafés crus, que envolvem processos fermentativos, capazes de remover compartimentos ricos em precursores de voláteis.

MATERIAL SUPLEMENTAR

No material suplementar, disponível em <http://quimicanova.sbg.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre, encontra-se o perfil cromatográfico típico da análise de um café torrado, objeto da atual amostragem, obtido por HS-MEFS-CG-EM, utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS (Figura 1S), assim como a identificação dos compostos predominantes nas classes de compostos químicos importantes para o *flavor* do café. Os compostos identificados por espectrometria de

massas, com respectiva área percentual cromatográfica em cada tipo de amostra/pré-processamento e os índices de retenção linear estão listados na Tabela 1S.

REFERÊNCIAS

1. Clarke, R. J.; Macrae, R. Em *Coffee Chemistry*; Clarke, R.; Macrae, R., eds.; Elsevier Science Publishers: Barking, 1985, chap. 3.
2. DeMaria, C. A. B.; Moreira, R. F. A.; Trugo, L. C.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 209.
3. Joët, T.; Laffargue, A.; Descroix, F.; Doubeau, S.; Bertrand, B.; De Kochko, A.; Dussert, S.; *Food Chem.* **2010**, *118*, 693.
4. Kleinwächter, M.; Selmar, D.; *Food Chem.* **2010**, *119*, 500.
5. Gonzales-Rios, O.; Suarez-Quiroz, M. L.; Boulanger, R.; Barel, M.; Guyot, B.; Guirald, J. P.; Schorr-Galindo, S.; *J. Food Compos. Anal.* **2007**, *20*, 289.
6. Tarzia, A.; Scholz, M. D. S.; Petkowicz, C. L. O.; *Int. J. Food Sci. Technol.* **2010**, *45*, 2167.
7. Pereira, R. G. F. A.; Villela, T. C.; Andrade, E. T.; *Resumos do 2º Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, Vitória, Brasil, 2002.
8. Villela, T. C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Lavras, Brasil, 2002.
9. Wootton, A. E.; *Proceedings of the 16^{ème} Colloque International sur la Chimie des Cafés Verts ASIC*, Paris, France, 1974.
10. Selmar, D.; Bytof, G.; Knopp, S-E.; *Proceedings of the 19th International Colloquium on the Chemistry of Coffee*, ASIC, Paris, France, 2002.
11. Bytof, G.; Knopp, S. E.; Schieberle, P.; Teutsch, I.; Selmar, D.; *Eur. Food Res. Technol.* **2005**, *220*, 245.
12. Selmar, D.; Bytof, G.; Knopp, S-E.; Breitenstein, B.; *Plant Biol.* **2006**, *8*, 260.
13. Bytof, G.; Knopp, S-E.; Kramer, D.; Breitenstein, B.; Bergervoet, J. H. W.; Groot, S. P. C.; Selmar, D.; *Ann. Bot.* **2007**, *100*, 61.
14. Kramer, D.; Breitenstein, B.; Kleinwächter, M.; Selmar, D.; *Plant Cell Physiol.* **2010**, *51*, 546.
15. Ribeiro, J. S.; Augusto, F.; Salva, T. J. G.; Thomaziello, R. A.; Ferreira, M. M. C.; *Anal. Chim. Acta* **2009**, *634*, 172.
16. Franca, A. S.; Oliveira, L. S.; Oliveira, R. C. S.; Agresti, P. C. M.; August, R.; *J. Food Eng.* **2009**, *92*, 345.
17. Baggenstoss, J.; Thomann, D.; Perren, R.; Escher, F.; *J. Food Sci.* **2010**, *75*, 697.
18. Gonzales-Rios, O.; Suarez-Quiroz, M. L.; Boulanger, R.; Barel, M.; Guyot, B.; Guiraud, J. P.; Schorr-Galindo, S.; *J. Food Compos. Anal.* **2007**, *20*, 297.
19. Arruda, N. P.; Hovell, A. M. C.; Freitas, S. P.; Couri, S.; Bizzo, H. R.; Rezende, C. M.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 819.
20. Farah, A.; Donangelo, C. M.; *Braz. J. Plant Phys.* **2006**, *18*, 23.
21. Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela, R. M.; *Methods Enzymol.* **1999**, *299*, 152.
22. Lane, J. H.; Eynon, L.; *Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator*, Normam Rodge: London, 1934.
23. Spackman, D. C.; *Anal. Biochem.* **1958**, *30*, 1190.
24. Cohen, S. A.; Michaud, D. P.; *Anal. Biochem.* **1993**, *211*, 279.
25. Casal, S.; Oliveira, M. B.; Ferreira, M. A.; *Food Chem.* **2000**, *68*, 481.
26. Hartmann, L.; Lago, R. C. A.; *Lab. Prac.* **1973**, *22*, 475.
27. Viegas, M. C.; Bassole, D. G.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 2031.
28. Knopp, S.; Bytof, G.; Selmar, D.; *Eur. Food Res. Technol.* **2006**, *223*, 195; Borém, F. M.; Coradi, P. C.; C.; Saath, R.; Oliveira, J. A.; *Ciênc. Agrotec.* **2008**, *32*, 1609.
29. Avallone, S.; Guyot, B.; Brillouet, J. M.; Olguin, E.; Guiraud, J. P.; *Cur. Microb.* **2001**, *42*, 252.
30. Avallone, S.; Brillouet, J. M.; Guyot, B.; Olguin, E.; Guiraud, J. P.; *Int. J. Food Sci. Technol.* **2002**, *37*, 191.

31. Bytof, G.; Knopp, S. E.; Schieberle, P.; Teutsch, I.; Selmar, D.; *Eur. Food Res. Technol.* **2005**, *220*, 245.
32. Shimizu, M. M.; Mazzafera, P.; *Plant Biol.* **2000**, *6*, 605.
33. Lima, A. R.; Pereira, R. G. F. A.; Abrahão, S. A.; Duarte, S. M. S.; Paula, F. B. A.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 20.
34. Duarte, S. M. S.; Abreu, C. M. P.; Menezes, H. C.; Santos, M. H.; Gouvêa, C. M. C. P.; *Cienc. Tecn. Alim.* **2005**, *25*, 387.
35. Duarte, G. S.; Pereira, A. A.; Farah, A.; *Food Chem.* **2010**, *118*, 851.
36. Fries, D. D.; Alves, J. D.; Delú, N. F.; Magalhães, P. C.; Goulart, P. F. P.; Magalhães, M. M.; *Rev. Cienc. Agron.* **2007**, *66*, 1.
37. Baltes, W.; Bochmann, G.; *J. Agric. Food Chem.* **1987**, *35*, 340; Holscher, W.; Vitzthum, O. G.; Steinhart, H.; *Café Cacao Thé* **1990**, *34*, 205.
38. Lestremou, F.; Andersson, F. A. T.; Desauziers, V.; *Chromatographia* **2004**, *59*, 607; Hashim, L.; Chaveron, H.; *Food Res. Int.* **1996**, *28*, 619.
39. Kato, S.; Kurata, T.; Ishitsuda, R.; Fujimaki, M.; *Agric. Biol. Chem.* **1970**, *34*, 1826; Stadler, R. H.; Varga, N.; Hau, J.; Vera, F. A.; Welti, D. H.; *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 1192.
40. Macdonald, I. A.; Macrae, R.; *Proceedings ASIC: Association Scientifique Internationale sur le café*, Paris, France, 1986.
41. Tressl, R.; Bahri, D.; Koppler, H.; Jensen, A.; *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1978**, *167*, 111.
42. Fagerson, I. S.; *J. Agric. Food Chem.* **1969**, *17*, 747.
43. Mottram, D. S.; Mottram, M. Em *Volatile Compounds in Foods and Beverages*; Maarse, H., ed.; Marcel Dekker: New York, 1991, p. 107.
44. Ledl, F.; *Anais do 4th Int. Symp. Maillard React.*, Lausanne, Switzerland, 1990.
45. Clarke, R. J.; *Ital. J. Food Sci.* **1990**, *2*, 79.
46. Baltes, W.; Bochmann, G.; *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1987**, *185*, 5; Baltes, W.; Bochmann, G.; *Anais do 3th Int. Symp. Maillard React.*, Tokio, Japan, 1985; Yaylayan, V.; *Food Sci. Technol. Res.* **2003**, *3*, 9; Perez, L. C.; Yaylayan, V. A.; *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 6830.
47. Maga, J. A.; *CRC Crit. Rev. Food Technol.* **1978**, *10*, 323.