

## COMPOSTOS FENÓLICOS EM CAFÉ TORRADO

FARAH, A.<sup>a</sup>; NEVES, D.F.<sup>a</sup>; TRUGO, L.C.<sup>a</sup>; ROSENTHAL, A.<sup>b</sup>; DELLA MODESTA, R.C.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro- Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos, Instituto de Química (CT), Bl.A Lab 528, Ilha do Fundão, CEP:21949-900, Rio de Janeiro, RJ, Fone: 2562-7351, <LCtrugo@iq.ufrj.br>; <sup>b</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos- Av. das Américas 29501, CEP23020-470, Rio de Janeiro, RJ; Fone: (21) 2410-7400, <arosen@ctaa.embrapa.br>

**RESUMO:** Os compostos fenólicos são bem conhecidos por suas características antioxidantes *in vitro*. Os ácidos clorogênicos (CGA) constituem um dos principais grupos entre os fenólicos e têm apresentado várias outras características farmacológicas importantes em estudos *in vitro* e em animais. Embora os grãos verdes do café contenham os maiores teores de CGA encontrados na literatura, durante seu processamento esses compostos sofrem acentuada modificação. Estudou-se a modificação da composição dos principais ácidos clorogênicos de duas amostras de café, *Coffea arabica* (bebida mole) e *C. canephora* de cultivo brasileiro, nas torras: americana (clara), convencional (média) e extra forte (escura). A cor instrumental das amostras foi obtida através de medida de reflectância. Os CGAs foram extraídos e analisados de acordo com o método de Trugo e Macrae adaptado para sistema isocrático de HPLC. Umidade e lipídios totais foram determinados segundo os métodos da AOAC. Oito CGAs foram identificados. Houve diminuição gradativa nos teores totais de CGA à medida que a intensidade de torra aumentou; a amostra de café arábica apresentou perdas de cerca de 13, 47 e 86% nas torras americana, convencional e extra forte, respectivamente, e o café conillon apresentou perdas de 23, 58 e 88% nas torras americana, convencional e extra forte, respectivamente, em relação ao café verde. Apesar da grande perda de fenólicos na torra extra forte, os teores nas amostras submetidas a menor intensidade de torra ainda se destacam entre os outros alimentos e plantas medicinais reconhecidos por seus teores relativamente altos de CGA.

**Palavras-chave:** compostos fenólicos, ácidos clorogênicos, café.

## PHENOLIC COMPOUNDS OF TOASTED COFFEE

**ABSTRACT:** Phenolic compounds are well known for their *in vitro* antioxidant characteristics. Chlorogenic acids (CGA) represent some of the main phenolic compounds and have shown many other important pharmacological characteristics *in vitro* and *in vivo*. Although green coffee seems to present the greatest content of CGA found in food material, during processing severe changes occur with these

compounds. We have studied the CGA distribution changes in arabica and conillon coffee samples roasted according to the three most common degrees of roasting found in the Brazilian market: "americana" (light), "convencional" (medium) and "extra forte" (dark). Samples' instrumental color was determined after roasting by reflectance measurement. CGA were extracted and analysed according to Trugo & Macrae's method, adapted to isocratic HPLC system. Moisture and total lipids were determined according to the A.O.A.C. methods. Green arabica sample showed considerably lower levels of CGA when compared to conillon sample. Roasting process produced a gradual decrease in the levels of total CGA. When compared to green arabica coffee, the americana, convencional and extra forte samples showed loss of 13%, 47% and 86% in total CGA, respectively. The loss percentages for americana, convencional and extra forte robusta samples, were 23%, 58% and 88%, respectively. Despite of the significative loss of phenolic compounds in the extra forte samples, the amount of CGA in the light and medium roast samples still stands out when compared to other food material and medicinal plants considered as good sources of CGA.

**Key words:** phenolic compounds, chlorogenic acids, coffee.

## INTRODUÇÃO

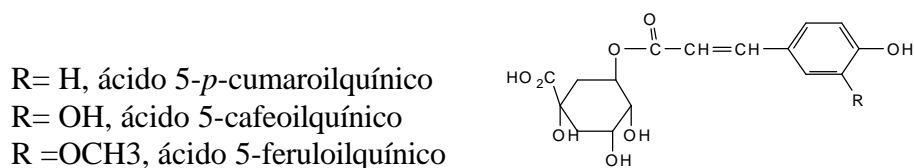
Ao longo dos tempos, os compostos fenólicos têm sido amplamente estudados pelas suas características antioxidantes *in vitro*. Uma das principais classes de compostos fenólicos é a dos ácidos hidroxicinâmicos, dentre os quais os ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico se destacam. Eles podem ser encontrados no reino vegetal sob a forma livre ou esterificada, principalmente, com o ácido quínico. Esse grupo de ésteres é chamado de ácidos clorogênicos (CGA). Apesar desses compostos serem identificados numa grande variedade de plantas, os grãos verdes do café contêm os maiores teores de CGA encontrados na literatura (de 5,5 a 12,5%) (Ferreira et al. 1971; Roffi et al. 1971; Chassevent et al. 1973 a,b; Clifford e Wight, 1976; Rees e Theaker, 1977; Tono et al. 1989, Van der Stegen e Van Duijn, 1980; Trugo e Macrae, 1984b), e nesta semente os cinco grupos de isômeros identificados que compõem os CGAs são: ácidos cafeoilquínicos (CQA), feruloilquínicos (FQA), p-cumaroilquínicos, dicafeoilquínicos (diCQA) e os cafeoilferuloilquínicos (Clifford, 1979).

Além de servirem como precursores na formação de lignina e apresentarem a função de proteção contra predadores e microrganismos para a planta, esses compostos participam da formação de pigmentos, aroma e sabor do café, gerados durante a torrefação. Durante as últimas décadas, várias características

farmacológicas envolvendo diferentes isômeros desse grupo de compostos têm sido evidenciadas em estudos com células e animais. Entre elas estão: poder antioxidante (Kono et al., 1997; Luzia et al., 1997; Desmarchelier et al., 1998); indução da diminuição dos níveis sanguíneos de glicose (Herling et al., 1998); inibição de integrases que participam na replicação do vírus HIV-1 (Robinson et al., 1996; Mc Dougall et al., 1998); poder antiespasmódico (Trute et al., 1997); e inativação de substâncias carcinogênicas produzidas, inclusive, durante a torrefação do próprio café (Stich et al., 1982).

Embora os grãos verdes do café contenham os maiores teores de CGA encontrados na literatura, durante seu processamento esses compostos sofrem acentuada modificação. Se as funções comprovadas *in vitro* e em animais forem realmente válidas para humanos, isto é, se os CGAs forem comprovadamente biodisponíveis em humanos, diante da possibilidade de controle dos teores desses isômeros em amostras de café durante a torrefação, será bastante interessante a produção de uma bebida que, mantendo suas características sensoriais mais agradáveis, possa ainda atender a uma funcionalidade biológica.

Este trabalho teve como objetivo o estudo da modificação da composição dos principais ácidos clorogênicos de duas espécies de café, *C. arabica* (bebida mole) e *C. canephora* ou conillon, de cultivo brasileiro e submetidas aos três tipos de torra mais utilizados na indústria brasileira: americana, convencional e extra forte, para que se possa selecionar as melhores condições de torrefação, dependendo da finalidade de uso do produto em termos nutracêuticos.



**Figura 1** - Estrutura molecular dos principais ácidos clorogênicos

Nota: A esterificação ocorre preferencialmente no átomo de carbono 5 do ácido quínico, mas também é possível nos átomos de carbono 3 e 4. Os ácidos dicafeoilquínicos são formados pela esterificação de duas moléculas de ácido caféico com uma de ácido quínico.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de *C. arabica* (bebida mole) e *C. canephora* ou conillon foram gentilmente fornecidas pela ABIC e torradas na EMBRAPA, nas torras americana, convencional e extra forte. De forma a avaliar objetivamente o ponto de torra, além do controle visual realizado durante a torrefação, foi determinada a cor instrumental das amostras, através de medida de reflectância, em S & M Colour Computer modelo SM-

4-CH da Suga, no sistema Hunter, com abertura de 30 mm de diâmetro. As amostras foram então moídas em granulação de 0,75 mm e desengorduradas para sofrerem extração dos ácidos clorogênicos pelo método de Trugo e Macrae (1984-b) adaptado, utilizando-se uma solução aquosa de metanol a 40% (v/v) a frio. Os extratos foram analisados por HPLC, sistema isocrático Shimadzu, com detetor de UV a 325 nm. Vinte µl foram injetados em coluna Rexchrom C18 (Regis), utilizando-se como fase móvel tampão citrato trissódico 0,01 M/metanol (65:35) com ajuste de pH a 2,5, solução de ácido hipoclorídrico 6 N e fluxo de 1 ml/min. Os ácidos 4 e 5 cafeoilquínico foram calculados tendo como referência o padrão de 5CQA da Aldrich Chem. Os outros CGAs foram calculados por coeficiente de extinção molar (Rubach, 1969), levando-se em conta a área do pico e a concentração do padrão de 5CQA. Padrões para identificação dos picos de 3 e 4 CQA foram obtidos em nosso laboratório, a partir da isomerização do 5CQA (Trugo, 1984). A identificação dos outros picos foi realizada por comparação com cromatogramas previamente obtidos em nosso laboratório com auxílio de padrões. Umidade e lipídios totais foram calculados segundo os métodos da AOAC.(1984).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros de cor medidos em relação à placa branca ( $L = 90,21$ ;  $a = -2,32$ ;  $b = 1,38$ ) foram:

- **L** = luminosidade (0 = preto e 100 = branco)
- **a** (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho)
- **b** (-100 até zero = azul, do zero ao +70 = amarelo)
- **ΔE** (diferença total de cor) =  $\sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$

Foram realizadas quatro repetições para cada amostra disposta em placa de Petri com 0,5 cm de diâmetro e 0,2 cm de altura.

Os resultados de cor instrumental para o café verde e para o café torrado estão apresentados na Tabela 1. Esses resultados se assemelharam a dados obtidos anteriormente na literatura (Souza, 2000).

Oito ácidos clorogênicos foram identificados neste estudo, sendo que não foi possível separar os isômeros 4CQA e 5CQA nessas condições cromatográficas. Os teores dos principais ácidos clorogênicos nas amostras de café arábica (bebida mole) e conillon estão apresentados na Tabela 2. Não foi possível a identificação do isômero 3FQA nessas condições cromatográficas. No entanto, este composto está presente no café em quantidades muito pequenas. A amostra verde de café arábica mostrou níveis consideravelmente mais baixos de CGA do que a amostra verde de café conillon, sendo os CQAs os

principais componentes entre os CGAs (76,56% na amostra arábica e 78,39% na amostra conillon), como já havia sido reportado antes para os mesmos tipos de café de proveniências diferentes (Trugo e Macrae, 1984b; Schrader et al., 1996). Observamos diminuição gradativa nos teores totais de CGA à medida que a intensidade de torra aumentou; a amostra arábica apresentou perdas de cerca de 13, 47 e 86% nas torras americana, convencional e extra forte, respectivamente, enquanto a amostra conillon apresentou perdas de 23, 58 e 88% nas torras americana, convencional e extra forte, respectivamente, em relação à amostra verde. Perdas mais acentuadas foram previamente reportadas por Trugo e Macrae (1984-b), chegando a 96% na torra extra forte do café arábica da Guatemala e a 98% no café robusta proveniente da Uganda. Além de as amostras terem sido diferentes, esse fato pode se dever a diferentes condições de tempo e temperatura nas duas torras.

**Tabela 1** - Cor instrumental das amostras de café verde e torrado

Amostra	L	a	b	ΔE
<b>ARABICA</b>				
verde	46,57	4,90	18,08	47,30
torra americana	35,80	10,90	18,42	58,53
torra convencional	19,59	10,06	12,20	72,51
torra extra forte	10,02	8,71	5,97	81,07
<b>CONILLON</b>				
verde	31,29	6,81	13,04	60,76
torra americana	32,95	10,32	17,39	60,81
torra convencional	19,03	8,59	11,23	72,68
torra extra forte	12,48	8,13	8,48	78,75

Sabe-se que, ao ser submetido ao calor, parte do 5CQA presente no café verde é isomerizada para formar 3 e 4CQA. Isso ficou evidente em ambas as amostras submetidas à torra americana, quando o teor de 3CQA (e provavelmente o de 4CQA) aumentou em relação ao café verde. Já nas torras mais intensas pode-se verificar a diminuição no teor do isômero 3CQA de ambas as amostras. O mesmo pode ser observado em relação ao 5FQA e seu isômero 4FQA. O teor de 4CQA aumentou nas torras americana e convencional e diminuiu na torra extra forte, em relação ao café verde, provavelmente em decorrência da isomerização do 5FQA, que diminuiu gradativamente durante o processo de torrefação.

Nas amostras submetidas à torra extra forte, houve grande perda dos compostos fenólicos presentes na amostra verde, chegando o ácido 4,5 dicafeoilquínico a não ser detectado e chegando a haver perda de

96% dos diCQA na amostra arábica e de 93% na amostra conillon. Houve perda de 86% dos CQAs totais da amostra arábica e de 91% da amostra conillon, e de 68% dos FQAs da amostra arábica e 66% da amostra conillon.

Mesmo que tenha sido observada diminuição nos teores de CGA nas amostras de café submetidas às torras americana e convencional. os teores restantes ainda se destacam em relação à torra extra forte e entre os demais alimentos e plantas medicinais considerados como boas fontes de CGA. Além disso, a literatura não apresenta valores mínimos de ingestão dos 5CQA e de outros CGAs, apesar de apontar para uma baixa absorção (Bourne & Rice-Evans, 1996) para que possam exercer em humanos as atividades farmacológicas observadas *in vitro* e em animais.

Teores de outros compostos, como o benzopireno (composto formado em certas condições durante a torrefação e reconhecido como cancerígeno) e a niacina (vitamina formada durante a torrefação a partir da trigonelina), precisariam ser levados em consideração na escolha do melhor tipo de torra para o consumo humano com finalidade nutracêutica.

**Tabela 2** - Teores de ácidos clorogênicos em amostras de café arábica (bebida mole) e conillon antes e depois da torrefação <sup>a</sup>

AMOSTRA	Umidade (g%)	3CQA	4+5 CQA	Total de CQA	4FQA	5FQA	Total de FQA	3,4 diCQA	3,5 diCQA	4,5 diCQA	Total de diCQA	Total de CGA
<b>ARÁBICA</b>												
verde	4,68	5,68	40,38	<b>46,06</b>	0,75	2,87	<b>3,62</b>	3,74	3,47	3,27	<b>10,48</b>	<b>60,16</b>
t. americana	2,58	9,91	33,54	<b>43,45</b>	1,40	1,63	<b>3,03</b>	1,92	2,02	1,89	<b>5,83</b>	<b>52,31</b>
t.convencion	1,65	5,94	17,15	<b>23,09</b>	1,44	1,25	<b>2,69</b>	0,91	0,66	0,75	<b>2,32</b>	<b>28,10</b>
t. extra forte	1,39	1,86	4,57	<b>6,43</b>	0,79	0,38	<b>1,17</b>	0,35	0,07	n.d. <sup>b</sup>	<b>0,42</b>	<b>8,02</b>
<b>CONILLO</b>												
verde	3,92	10,85	63,39	<b>74,24</b>	1,19	8,35	<b>9,54</b>	5,07	2,83	3,03	<b>10,93</b>	<b>94,71</b>
t.americana	2,04	12,67	42,12	<b>54,79</b>	5,11	5,07	<b>10,18</b>	2,71	1,12	1,92	<b>5,75</b>	<b>70,72</b>
t.convencion	1,82	7,41	20,32	<b>27,73</b>	4,48	3,93	<b>8,41</b>	1,47	0,79	0,62	<b>2,88</b>	<b>39,02</b>
extra forte	1,49	2,14	4,69	<b>6,83</b>	1,82	1,50	<b>3,32</b>	0,66	0,08	n.d. <sup>b</sup>	<b>0,74</b>	<b>10,89</b>

<sup>a</sup> Resultados em média de duplicatas expressos em g kg<sup>-1</sup>, em base seca.

<sup>b</sup> nd = não detectado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC – Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical Chemists. Willian Byrd Press, Inc, Richmond, Virginia, 14<sup>a</sup> Edição, 1984 .

- BOURNE, L.C AND RICE-EVANS, -Bioavailability of Ferulic Acid – **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 253:222-7, 1998.
- CHASSEVENT, F.; GERWIG, S AND BOUHARMONT, M, Influence eventuelle de diverses fumures sur les teneurs en acides chlorogeniques et en cafeine de grains decafeiers cultivés. 6th International Scientific Colloquium on coffee (Bogotá). Association Scientifique Internationale du café (Paris), 57-60, 1973.
- CLIFORD, M.N.-., Chlorogenic Acids, 153-202, Coffee: Vol 1 - Chemistry, Elsevier Science Publishing Co, Inc, NY, USA 1979.
- CLIFORD, M.N. AND WIGHT, J. The measurement of feruloylquinic acids and cafeoilquinic acids in coffee beans. Development of the technique and its preliminary application to green coffee beans, **J. Sci. Food Agric.**, 27: 73-84, 1976.
- DESMARCHELIER, C; COUSSIO, J; CICCIA, G. – Antioxidant and free Radical scavenging effects in extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. (“marcela”). **Braz. Med. Biol. Res.**, 31(9) : 1163-70, 1998.
- FERREIRA, L.A.B.; VILAR, H.; FRAGOSO, M.A.C.; AGUIAR, M.C.; CRUZ, M.J.R. AND GONÇALVES, M.M., Subsídio para a caracterização do grão de café do híbrido de timor. 5th International Scientific Colloquium on coffee (Lisboa). Association Scientifique Internationale du café (Paris), 128-147, 1971.
- HERLING, AW, BURGER, H.J; SCHWAB, D; HEMMERLE, H; BELOW, P; SCHUBERT, G - Pharmacodynamic profile of a novel inhibitor of the hepatic glucose-6-phosphatase system- **American Journal of Physiology**, 274 (6pt1): G1087-93, 1998.
- KONO, Y; KOBAYASHI, K, TAGAWA, S; ADACHI, K.; UEDA, A; SAWA, Y; E SHIBATA, H.- Antioxidant activity of polyphenols in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. **Biochimica et Biophysica Acta** 1335: 335-342, 1997.
- LUZIA, MR., PAIXÃO, K.C.C., MARCILIO, R., TRUGO, L.C. QUINTEIRO, L.M.C & DE MARIA, C.A.B. Effect of the 5-cafeoilquinic acid on soybean oil oxidative stability. **Int. J. Food Sci. Technol.**, 32:15-19, 1997.
- MC DOUGALL, B., KING, P.J., WU, B.W., HOSTOMSKY, Z., REINECKE, M.G. & ROBINSON Jr, W.E. Dicaffeoylquinic and dicaffeoyltartaric acids are selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. Jan: 140-146, 1998.
- REES, D.I. AND THEAKER, P.D., High pressure liquid chromatography of chlorogenic acid isomers in coffee. 8th International Scientific Colloquium on Coffee (Abidjan). Association Scientifique Internationale du café (Paris), 79-84, 1977.
- ROBINSON Jr, W.E., CORDEIRO, M., ABDEL-MALEK, S, JIA, Q., CHOW, S.A, REINECKE, M.G.

- & MITCHELL, W.M. Dicaffeoylquinic acid inhibitors of human immunodeficiency virus integrase: inhibition of the core catalytic domain of human immunodeficiency virus integrase. **Molecular Pharmacology**, 50: 846-855, 1996 (a).
- ROFFI, J; SANTOS , A.C; MEXIA, J.T.; BUSSON, F, AND MAIGROT, M. 5th International Scientific Colloquium on Coffee (Lisboa). Association Scientifique Internationale du café (Paris), 179-200, 1971.
- RUBACH, K. Beitrag zur Analytik der hydroxyzimtsaureester des kafees. Dissertation, Technische Universität Berlin, 1969.
- SCHRADER, K, KIEHNE,A;ENGELHARDT,UH AND MAIE, H.G.-J- Determination of Chlorogenic Acids with Lactones in Roasted Coffee. **Sci Food Agric.**,71,392-398,1996.
- SOUZA, VF. Estudo do perfil do consumidor do estado do Rio de Janeiro, relacionando à bebida de café em função dos fatores demográficos e geográficos. Tese de Mestrado. Universidade federal Rural do Rio de Janeiro. Agosto/2000. 121pp.
- STICH, H.F., ROSIN, M.P. E BRYSON, L.- Inhibition of mutagenicity of a model nitrosation reaction by naturally occurring phenolics, coffee and tea. **Mutation Research**, 95: 119-128, 1982.
- TONO, T; FUJITA, S AND KAWABE, M, Determination of chlorogenic acid in coffee samples by difference spectral method and DEAE-Toyopearl™ column chromatography, Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 36: 587-591, 1989.
- TRUGO, L.C.- HPLC in Coffee Analysis – PhD Thesis, University of Reading, England, 1984.
- TRUGO, L.C AND MACRAE, R. Chlorogenic acid composition of instant coffees. **Analyst**, 109:263-266, 1984<sup>a</sup>.
- TRUGO, L.C. AND MACRAE, R. A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using H.P.L.C. **Food Chemistry**, 15: 219-227, 1984-b.
- TRUTE, A, GROSS J, MUTSCHLER E & NAHRSTEDT, A – In Vitro antispasmodic compounds of the dry extract obtained from *Hedera helix*, *Planta Med*, **63** (2):125-9, 1997.
- VAN DER STEGEN, G.H.D AND VAN DUIJN, J. Analysis of chlorogenic acids in coffee. 9th International Scientific Colloquium on Coffee (London). Association Scientifique Internationale du café (Paris), 107-112, 1980.