

EFEITO DA TORREFAÇÃO NO PERFIL CROMATOGRÁFICO OBTIDO POR FILTRAÇÃO EM GEL DE EXTRATOS DE CAFÉ ARABICA¹

*Luiz C. Trugo*²

Instituto de Nutrição
Universidade Federal do Rio de Janeiro
Rio de Janeiro, Brasil

RESUMO

As modificações que ocorrem durante a torrefação do café, em relação aos pesos moleculares de seus componentes, foram estudadas, usando-se cromatografia de filtração em gel com colunas do tipo TSK-pW 4000, sob alta pressão. Os extratos obtidos de amostras de café verde e torrado em diferentes intensidades foram cromatografados e monitorizados usando-se detectores de índice de refração diferencial (IRD) e de ultra violeta (UV) a 280, 325 e 420nm. Marcantes diferenças foram verificadas nos cromatogramas dos extratos, usando-se o detector IRD, em relação ao café verde e ao café torrado em diferentes intensidades. O uso do detector de UV a 280nm e 325nm mostraram similaridades no perfil cromatográfico, indicando que a formação de componentes de alto peso molecular, durante a torrefação, envolve a participação de ligações entre proteínas e compostos fenólicos. A formação de pigmentos pode ser claramente acompanhada durante a torrefação com detecção a 420nm.

O uso de cromatografia líquida de alta resolução provou ser um método extremamente rápido, em comparação a filtração em gel tradicional, mostrando-se útil para estudos mais detalhados das modificações de pesos moleculares que ocorrem durante o processo de torrefação do café.

INTRODUÇÃO

Durante a torrefação do café acentuadas transformações físicas e químicas ocorrem no produto, modificando inteiramente suas características. Reações de condensação entre grupamentos aminados e grupos carbonilas (reação de Maillard), caramelização da sacarose e reações degra-

Manuscrito modificado recebido: 19-2-86.

- 1 Trabalho realizado na University of Reading, Department of Food Science, Berkshire, England.
- 2 Instituto de Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CCS, Bioco J., 2º Andar, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, Brasil.

dativas de trigonelina, ácidos clorogênicos, proteínas e polissacarídeos, são apenas alguns exemplos de reações e compostos envolvidos no processo. Embora os mecanismos dessas complexas transformações ainda não esteja elucidado, essas reações são indispensáveis para a formação do aroma e sabor característicos do café bebida. A torrefação promove também modificações acentuadas na distribuição de componentes em relação aos seus pesos moleculares e o estudo da natureza desse material de alto peso molecular formado, tem sido alvo de intensas pesquisas, na tentativa de se alcançar um melhor entendimento dos mecanismos de formação dos componentes organolépticos, característicos do café torrado, bem como dos processos envolvidos na retenção do aroma no produto final.

Os estudos realizados para verificação de componentes de alto peso molecular no café torrado, baseados na técnica de filtração em gel, têm utilizado materiais cromatográficos tais como Sephadex (1,2) ou Bio-gel (3). Recentemente, novas fases para cromatografia de filtração em gel, com a propriedade de resistirem a altas pressões, foram desenvolvidas. Alguns exemplos desse tipo de material são aqueles obtidos a partir de polímeros hidrofílicos com ligações cruzadas (TSK-PW) (4) e os obtidos através da ligação química de sílica gel com compostos hidrofílicos (TSK-SW) (5). O uso dessas novas fases possibilitam a obtenção de um sistema que reduz significativamente o tempo de análise e, em muitos casos, aumenta consideravelmente a resolução, quando comparado a filtração em gel convencional. Embora varios exemplos da aplicação desse material sejam encontrados na literatura, o mesmo ainda não foi utilizado para o estudo de extratos de café e de seus derivados. Utilizamos portanto nesse trabalho colunas do tipo TSK-PW 4000 para se efetuar a filtração em gel de extratos aquosos de café verde, bem como de amostras submetidas a diferentes graus de torrefação.

MATERIAL E METODOS

Preparo das Amostras

Amostras industriais de café verde e torrado (Arabica-Guatemala), sem secagem prévia, foram moidas em moinho Brook Motors (Inglaterra) e peneiradas em malha de 0.841mm. O café verde foi torrado em uma indústria, usando-se equipamento Probat, em escala piloto, a 205°C. Foram utilizados 5 kg de amostra em cada torrefação, sempre provenientes da mesma partida, de maneira a se obter 4 diferentes graus, em função do tempo utilizado. As amostras (2.00 g) foram então extraídas com 20 ml de água fervente, agitando-se por 3 minutos em um banho maria com água em ebulição. A mistura foi a seguir filtrada sob vácuo, deixada chegar a temperatura ambiente e refiltrada, usando-se filtro Millipore (0.45 um) (Varian Ltd., Inglaterra). Este último filtrado foi então utilizado para a cromatografia.

Cromatografia

Para a cromatografia dos extratos foram utilizadas duas colunas em série, do tipo TSK-PW 4000, de 300 mm de comprimento e 8 mm de

diâmetro interno cada (Varian Associates Ltd., Inglaterra) e uma bomba Altex modelo 110 A (Beckman Ltd., Inglaterra). Como fase móvel foi usado água deionizada em uma velocidade de escoamento de 0.8 ml/min. A temperatura da coluna foi mantida a 20°C por meio de uma jaqueta com água circulante. Foi utilizado um sistema de detecção que consistia de um detector de IRD, modelo 750/14 (Applied Chromatography Systems Ltd., Inglaterra) com atenuação x 4, em série com um detector de UV, modelo CE 212 (Cecil Instruments, Inglaterra), ajustado a 420nm e 0.5 AUFS. Alternativamente foram utilizados dois detectores de UV, em série, um a 280nm, modelo 750/11 (ACS Ltd., Inglaterra) e o outro a 325nm, modelo CE 212, ambos ajustados a 1 AUFS. A injeção dos extratos foi realizada através de uma válvula de injeção com lupa de volume fixo (50 µl), modelo 7120 (Rheodyne Inc., USA). Frações de dextranas Pharmacia Fine Chemicals (Suécia), foram utilizadas como padrões cromatográficos em concentrações de 5 mg/ml.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de café verde foram torradas em quatro tempos diferentes, de maneira a se atingir características normalmente utilizadas na indústria. Os tempos de torrefação, bem como as perdas de peso durante o processamento, em relação a matéria seca, estão descritos na Tabela 1. O teor de umidade do café verde foi de 8.4% (determinado em estufa a vácuo a 70°C).

TABELA 1

CARACTERÍSTICAS DOS CAFES TORRADOS EM RELAÇÃO AO TEMPO DE TORREFAÇÃO, PERDAS DE PESO E TEOR DE UMIDADE

Tipo de torrefação	Tempo (min)	Perda de peso (o/o)	Teor de umidade (o/o)
Leve	7	3.8	2.1
Média	10	3.7	2.1
Escura	13	10.0	1.8
Muito escura	19	9.8	1.7

A utilização do detector de IRD mostrou diferenças marcantes entre as amostras analisadas. Essas diferenças foram verificadas tanto na região de alto peso molecular, como na de baixo peso molecular do perfil cromatográfico. Substâncias com alto peso molecular ($> 2.5 \times 10^5$) foram formadas durante o processo de torrefação, entretanto a quantidade desse material diminuiu com o grau de torrefação. Mostrando que com a torrefação mais acentuada essas substâncias sofrem determinado grau de degradação, ou então tornam-se insolúveis em água (Figura 1). O pico predominante no café verde, detectado nessas condições de análise, foi

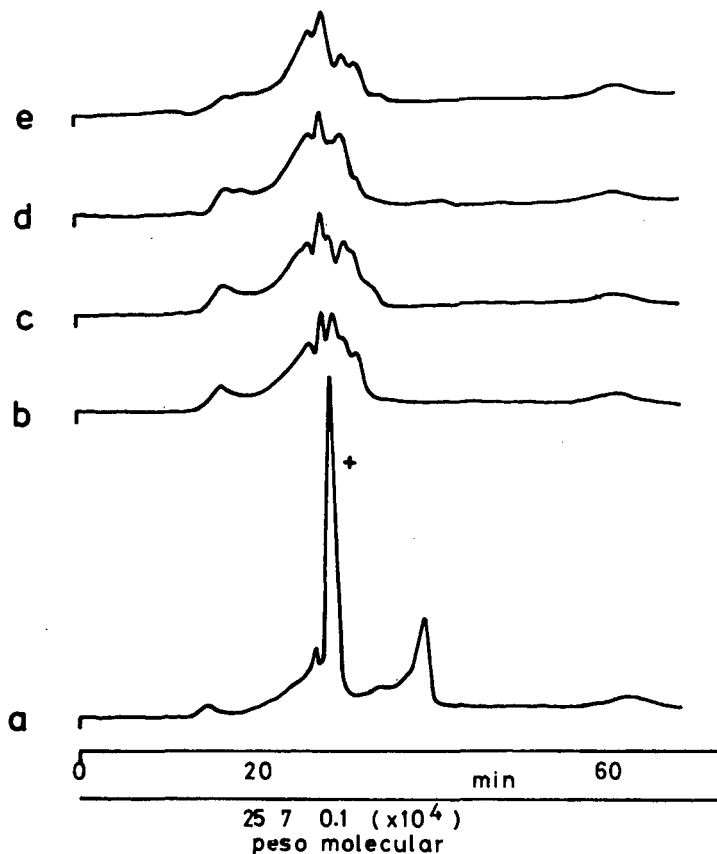


FIGURA 1

Cromatografia de gel filtração de café Arabica (Guatemala), verde e torrado, usando-se para a detecção o detector de índice de refração diferencial. Cromatografia usando-se duas colunas em série, do tipo TSK-PW 4000 (300 x 8 mm diâmetro interno) e água deionizada com fluxo de 0.8 ml/min. Cromatogramas de (a) café verde, (b) café levemente torrado, (c) torrefação média, (d) torrefação escura e (e) torrefação muito escura. (+) sacarose

identificado como sacarose, pelo método de adição de padrão. Este pico diminuiu sensivelmente no café torrado, o que está de acordo com o processo de degradação que a mesma sofre durante o processo e também com resultados obtidos quando métodos específicos foram utilizados para a análise desse composto (6). Na região do cromatograma correspondente a uma faixa de peso molecular intermediário, um perfil mais complexo foi

observado no café torrado, em comparação com o café verde, ilustrando as acentuadas transformações que ocorrem durante o processo de torrefação. Alguns compostos foram excessivamente retidos na coluna na região de peso molecular abaixo de 10^3 , indicando também a ocorrência de processos adsortivos durante a cromatografia.

A utilização do detector a 420nm demonstrou claramente a formação de pigmentos durante a torrefação, com poucos picos aparecendo no café verde mas com uma grande variedade no café torrado. Grande parte desses pigmentos apresentou peso molecular intermediário entre os limites estudados, entretanto, maior ou menor quantidade desses compostos estavam distribuídos por todo o perfil cromatográfico (Figura 2).

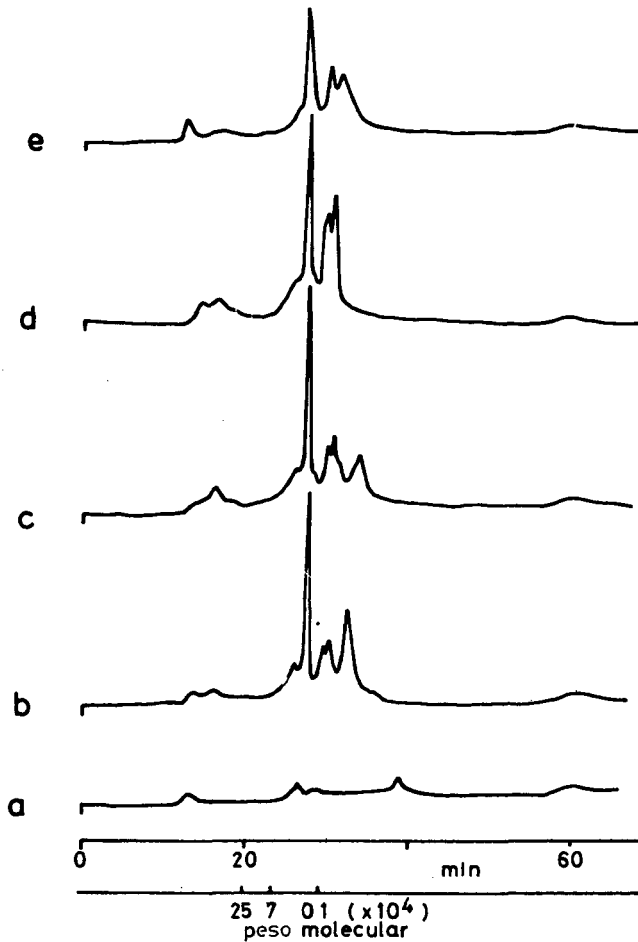


FIGURA 2

Cromatografia de gel filtração de café verde e torrado usando-se detecção a 420nm. Condições descritas na Figura 1.

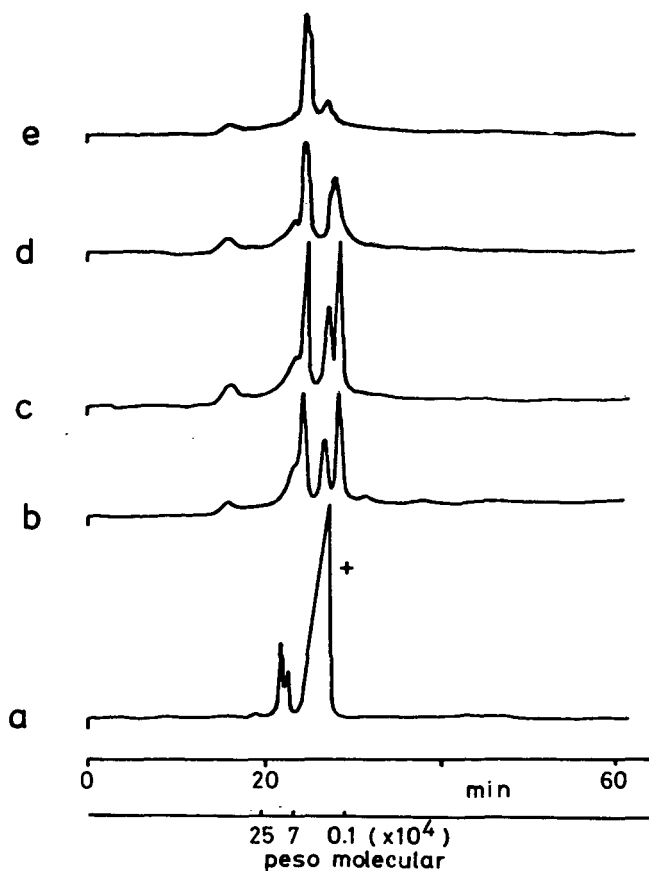


FIGURA 3

Cromatografia de gel filtração de café verde e torrado usando-se detecção a 325 nm. Condições descritas na Figura 1 (+) ácido clorogênico.

Um perfil cromatográfico relativamente simple do café verde foi obtido com detecção a 325nm, conforme mostra a Figura 3, sendo o pico correspondente ao ácidoclorogênico, predominante. Entretanto esse perfil foi consideravelmente alterado após a torrefação, com modificações acentuadas nos componentes de menor peso molecular mas também com o surgimento de material com peso molecular acima de $2,5 \times 10^5$. É interessante notar que compostos fenólicos absorvem fortemente neste comprimento de onda indicando que os mesmos também participam nas reações de polimerização durante o processo. Esta fração de alto peso

molecular aumentou com o grau de torrefação, exceto em torrefação extrema, onde a mesma diminuiu.

A detecção a 280nm, que é geralmente usada em filtração em gel de compostos proteicos, apresentou um perfil similar àquele obtido a 325nm, especialmente na região de peso molecular acima de 10^3 (Figuras 3 e 4), com a maioria dos picos detectados a 325nm também aparecendo a 280nm. Não foram detectadas proteínas com peso molecular acima de 2.5×10^5 no café verde, somente aparecendo no café torrado. Esta observação está de acordo com os resultados (em torno de 30/o) obtidos, por Underwood e Deatherage (7) para proteínas solúveis em água. Embora o teor total de proteínas em café verde seja comumente cotado entre 10-130/o (8) é possível que outros componentes nitrogenados, não pro-

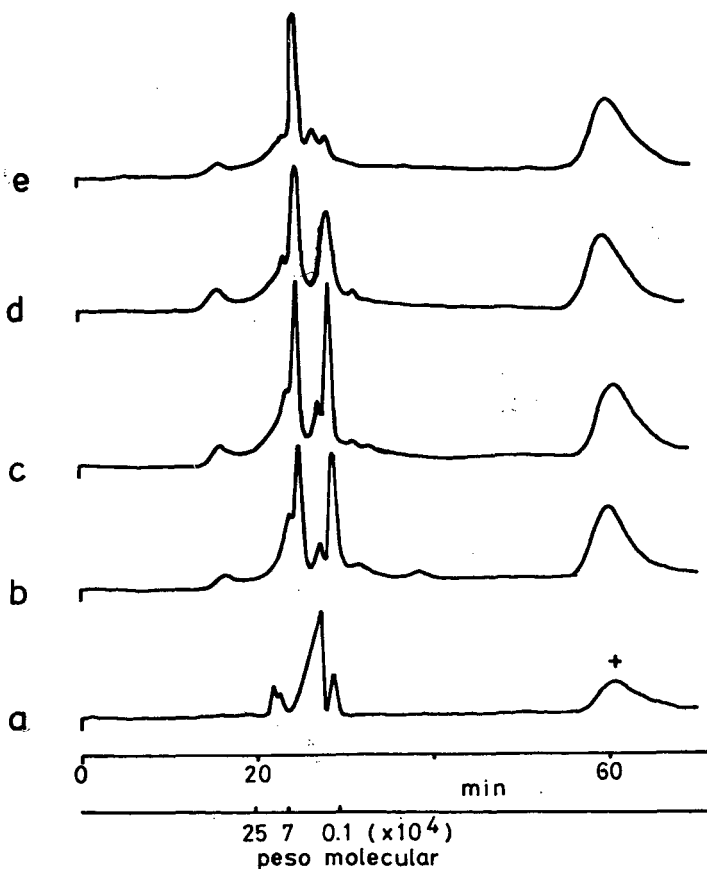


FIGURA 4

Cromatografia de gel filtração de café verde e torrado usando-se detecção a 280 nm. Condições descritas na Figura 1 (+) cafeína.

teicos, tais como trigonelina, cafeína, peptonas, bases de Schiff e outros, estejam também sendo considerados no cálculo desses resultados, já que os mesmos são geralmente baseados na determinação do nitrogênio total da amostra. Portanto, observando-se a Figura 4, nota-se que a maioria das proteínas do café verde estão possivelmente distribuídas na faixa de peso molecular intermediária e que a similaridade entre os cromatogramas obtidos a 325nm e 280nm é uma forte indicação de que compostos fenólicos (ácido clorogênico) apresentam-se ligados à proteínas, como tem sido sugerido por outros autores (9). Existem indicações de que grande parte das proteínas do café verde são desnaturadas durante o processo de torrefação, tornando-se insolúveis (10).

Conseqüentemente o surgimento de material de alto peso molecular no extrato aquoso do café torrado, como verificado a 280 e 325nm, sugere que os compostos fenólicos participam de reações de polimerização não somente com proteínas, como também com outras macromoléculas, como por exemplo polissacarídeos solúveis em água. Cafeína foi detectada nessas condições de análise, tanto no café verde como no café torrado, entretanto esta ficou fortemente retida na coluna, sendo somente eluída após 60 minutos (Figura 4). Isso mostra que na separação desse composto houve nitidamente a predominância do mecanismo de adsorção no processo cromatográfico.

Ficou comprovado que a técnica de cromatografia de filtração em gel descrita é bastante rápida em comparação com métodos convencionais, tomando-se, portanto, um método útil para o acompanhamento de alterações no perfil cromatográfico que ocorrem durante a torrefação do café, podendo ser um valioso instrumento no fornecimento de importantes informações sobre as modificações químicas que ocorrem durante o processamento. O aprimoramento da resolução cromatográfica e o estudo de frações isoladas, em relação a composição química das mesmas, serão importantes para o melhor entendimento dos complexos mecanismos envolvidos na formação do sabor e do aroma do café torrado.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o financiamento do CNPq (Brasil) e do "Committee of Vice-Chancellors and Principals of the Universities of the United Kingdom", bem como da firma Sol Tenco Ltd., pelo fornecimento de amostras.

SUMMARY

EFFECT OF ROASTING ON THE MOLECULAR WEIGHT PROFILE OF ARABICA COFFEE EXTRACTS

Gel filtration chromatography under a high pressure system was used to investigate green and roasted coffee aqueous extracts. Chromatographic columns used were of the type TSK-PW 4000, in series. Chromatography of the extracts was monitored either using a refractive index (RI) detector in series with an ultraviolet (UV) detector at 420nm or with two UV detectors at 280 and 325nm, respectively. The utilization

of RI detection showed significant differences in the molecular weight profile between green and roasted coffees. UV detection at 280 and 325nm revealed similar chromatographic patterns, suggesting that phenolic compounds were probably bound to proteins. Pigment formation after roasting was monitored by detection at 420nm, showing that colored material was distributed throughout the molecular weight range studied.

The method provided a more rapid analysis compared to traditional gel filtration chromatography and proved to be useful for monitoring changes in molecular weight profile which occur during coffee roasting.

BIBLIOGRAFIA

1. Clifford, M.N. The composition of green and roasted coffee beans. *Proc. Biochem. March*, 20-29, 1975.
2. Maier, H.G., W. Diemair & J. Ganssmann. Isolation and characterization of the brown constituents of roast coffee. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **137**:282-292, 1968.
3. Nakabayashi, T. & C. Watanabe. Chemical studies on the quality of coffee. IV. Formation of brown pigments from chlorogenic acid by roasting. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **24**:124-129, 1977.
4. Barbetti, P & I. Chiappini. Gel chromatography of the brown pigments of coffee of different degrees of roasting. *Industria delle Bevande*, **7**:445-460, 1978.
5. Rokushika, S., T. Ohkawa & H. Hatano. High-speed aqueous gel permeation chromatography of proteins. *J. Chromatogr.*, **176**:456-461, 1979.
6. Hashimoto, T., H. Sasaki, H. Aiura & Y. Kato. High-speed aqueous gel permeation chromatography. *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, **16**:1789-1800, 1978.
7. Trugo, L.C. & R. Macrae. The determination of carbohydrates in coffee products using high performance liquid chromatography. In: *Association Scientifique Internationale du Café, 10^e Colloque*: 187-191, 1982.
8. Underwood, G. E. & E. Deatherage. Nitrogen compounds of coffee. *Food Res.*, **17**:419-424, 1952.
9. Pearson, D. *The Chemical Analysis of Foods*. 7th ed. London, Churchill Livingstone, 1976, p. 272.
10. Amorim, H. V. & R. V. Josephson. Water-soluble protein and non-protein components of Brazilian green coffee beans. *J. Food Sci.*, **40**:1179-1184, 1975.