

MÉTODOS DE ANÁLISE ORGÂNICA DO CAFÉ. II. COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA CAFEÍNA EM CAFÉ VERDE *

H. V. AMORIM **

J. G. CORTEZ ***

RESUMO

O método micro Bailey-Andrew, oficial da A. O. A. C. (1970) e o proposto por NAVELLIER et al. (1969) para determinação de cafeína em café, foram comparados. Para extração e purificação seguiu-se os dois métodos citados e para a determinação propriamente dita utilizou-se o peso, nitrogênio total, espectrofotometria com correção da linha de base e o pico à 273 nm .

As seguintes conclusões foram tiradas:

- a) A determinação por pesagem não deve ser utilizada para nenhum dos dois métodos de extração e purificação, pois além dos valores encontrados serem bem acima dos reais, os coeficientes de variação também foram altos.
- b) O método de extração e purificação de NAVELLIER et al. (1969) não consegue remover interferentes nitrogenados, mas talvez possa ser utilizado quando a cafeína é determinada por espectrofotometria com correção da linha de base.
- c) Não houve diferença significativa entre a determinação da cafeína pelo nitrogênio e espectrofotometria com correlação da linha de base quando se seguiu a extração e purificação da A. O. A. C. (1970).

INTRODUÇÃO

A presença da cafeína no grão do café foi primeiramente observada em 1820, e posteriormente foi encontrada em outros vegetais. O seu poder estimulante tornou o café a bebida natural mais consumida no mundo.

A determinação da cafeína não só no café verde como no torrado e no solúvel é imperativo para um bom controle da qualidade do produto. Alguns mercados exigentes não aceitam café que tenham teores de cafeína inferiores a limites determinados. Por outro lado, o melhoramento genético do ca-

* Pesquisa realizada com verba do Convênio IBC/GERCA/ESALQ. — Entregue para publicação em 17/12/73.

** Departamento de Química, Setor Bioquímica da E. S. A. «Luiz de Queiroz», da USP, Piracicaba, São Paulo.

*** Bolsista do IBC junto ao Departamento de Química, Setor Bioquímica da ESALQ.

feeiro, exige análise de rotina da cafeína nos grãos de café, para orientação da seleção do cafeeiro no sentido desejado; alto ou baixo teor de cafeína.

Na África, alguns países buscam cafés de baixo teor de cafeína, pois atualmente já existe mercado para este tipo de café.

Encontra-se na literatura um grande número de métodos de determinação de cafeína, e vários deles foram discutidos por NAVELLIER (1970) em recente revisão, abordando principalmente as dificuldades geralmente encontradas na extração e purificação da mesma.

Como é premente a necessidade de um método rápido e um método de referência para a determinação da cafeína em café verde para serem aplicados na indústria do café, assim como no melhoramento genético, uma série de métodos têm sido elaborados recentemente.

A A. O. A. C. (1970) aconselha três métodos: Micro-Bailey-Andrew, cromatográfico-espectrofotométrico e o Bailey-Andrew modificado. Recentemente Navellier propôs que seu método (NAVELLIER et al., 1969) fosse incluído nos estudos da A. O. A. C. para servir como método de referência, mas devido ao fato deste método ter sido criticado quando apresentado no Quarto Colóquio Internacional sobre Química de Café (1969) realizado em Amsterdam, achou-se conveniente fazer um estudo com o objetivo de comparar este método (NAVELLIER et al., 1969) com o micro Bailey-Andrew da A. O. A. C. (1970).

MATERIAL E MÉTODOS

O café utilizado em todas as determinações foi um café colhido na safra de 1970/71 no Estado do Espírito Santo e classificado como de bebida Rio.

Para determinação da umidade seguiu-se o método aconselhado pela A. O. A. C. (1970).

O método da A. O. A. C. seguido foi o micro Bailey-Andrew (A. O. A. C., 1970) e outro foi o aconselhado por NAVELLIER et al. (1969). Ambos os métodos foram seguidos sem nenhuma modificação quanto a extração e purificação. Na determinação propriamente dita, além de seguir os tipos de determinação recomendados, foram adicionados outros tipos, sendo que alguns deles, a pesagem por exemplo, ainda é prática em laboratórios de algumas indústrias.

A determinação da cafeína pelo peso foi obtida depois da evaporação do clorofórmio a 100°C. Na determinação pelo nitrogênio utilizou-se o micro-Kjeldahl. Para a determinação espectrofotométrica utilizou-se nos dois métodos a correção da linha de base aconselhada por NAVELLIER et al. (1969). Para a verificação da importância da correção da linha de base, considerou-se também a leitura somente do pico de absorção máxima da cafeína que é em 273 nm.

A análise estatística foi baseada nas recomendações de PIMENTEL GOMES (1963).

RESULTADOS

Os resultados obtidos com os dois tipos de extração e purificação e os diversos métodos de determinação encontram-se no Quadro 1.

Quadro 1 — Determinação de cafeína em % da matéria seca em café verde beneficiado.

Repetições	EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO						
	A. O. A. C. (1970)				NAVELLIER et al. (1969)		
	peso	N	Espectrofotometria c/ correção	pico	peso	N	espectr c/correção
1	1,40	0,93	0,84	1,01	1,21	0,97	0,87
2	1,08	0,86	0,88	1,03	1,33	0,96	0,91
3	1,11	0,89	0,90	1,06	1,44	0,94	0,88
4	1,33	0,90	0,87	1,01	1,09	0,90	0,90
5	1,28	0,93	0,83	0,94	1,42	0,95	0,87
6	1,55	0,93	0,92	1,01	1,27	0,95	0,89
7	1,57	0,83	0,84	0,98	1,21	0,95	0,89
8	1,40	0,90	0,88	1,01	1,31	0,94	0,89
9	1,08	0,86	0,89	0,98	1,21	0,96	0,88
10	1,38	0,92	0,90	1,01	1,14	0,92	0,88
	1,32	0,90	0,88	1,00	1,26	0,94	0,89
	b	a	a	c	b	d	a
d.p.	±0,18	±0,03	±0,03	±0,03	±0,11	±0,02	±0,01
C.V.	13,68	3,87	3,43	3,15	8,99	2,12	1,59

a, b, c, d — As letras iguais significam que as médias não diferem estatisticamente entre si, e as diferentes diferem ao nível de 1%.

d. p. — Desvio padrão

C. V. — Coeficiente de variação

DISCUSSÃO

A diferença destes dois métodos de determinação de cafeína reside na extração e purificação da mesma. Enquanto NAVELLIER et al. (1969) utiliza NH_4OH para liberar a cafeína de seus complexos, principalmente do ácido clorogênico, o método de Bailey-Andrew (A. O. A. C., 1970) utiliza MgO em meio aquoso.

A extração pelo método da A. O. C. é feita aquecendo-se até a ebulição e mantendo por 45 min. enquanto que Navellier extrai em Soxhlet ou BBS, utilizando clorofórmio como solvente. Estas duas primeiras etapas parecem ser igualmente eficientes nos dois processos, apesar de que seja mais demorada pelo método de Navellier.

A purificação pelo método da A. O. A. C. é bem mais simples e utiliza apenas H_2SO_4 e clorofórmio, ao passo que Navellier utiliza parafina para remover os lipídeos e KMnO_4 , H_2O_2 ácido acético e clorofórmio para remover outros interferentes. A extração com água em vez do clorofórmio, já elimina os lipídeos na primeira filtração.

É nesta fase que o método de NAVELLIER et al. (1969) parece ser inferior, pois este tipo de purificação é insuficiente, deixando acompanhar com a cafeína alguns compostos nitrogenados, provavelmente aminoácidos. Este fato pode ser observado pelos resultados apresentados no Quadro 1. A evidência que tal fato ocorre reside na diferença significativa para mais, encontrada entre a determinação da cafeína pelo nitrogênio com extração e purificação pelo método de Navellier e os valores encontrados pelo método espectrofotométrico com correção da linha de base utilizando-se o mesmo método de extração e purificação. Além disso, o método espectrofotométrico de Navellier não diferiu estatisticamente do método da A. O. A. C. tanto pela determinação do nitrogênio como também pela utilização do espectrofotômetro com correção da linha de base.

Por outro lado, a determinação pelo peso nos dois métodos deram valores bem acima dos encontrados pelo nitrogênio e espectrofotométrico indicando que muitas impurezas ainda se encontram junto com a cafeína. Seriam necessárias repurificações para se utilizar a pesagem como método satisfatório.

A determinação somente pela leitura do pico, também deu superior a determinação pelo nitrogênio e espectrofotométrico com correção, indicando que a correção da linha de base é importante, evitando interferência de compostos que absorvem a 273 nm.

CONCLUSÕES

Aconselha-se a utilizar-se o método Bailey-Andrew, recomendado pela A. O. A. C. (1970) como referência e rotina para a determinação da cafeína em café verde em vez do proposto por NAVELLIER et al. (1969), pelos seguintes motivos:

a) A extração e purificação utilizada por Navellier não é suficiente para evitar a interferência de compostos nitrogenados, acarretando diferença sig-

nificativa quando se usa o nitrogênio total como determinação da cafeína em confronto com o método espectrofotométrico como correção da linha de base A extração e purificação da A. O. A. C. não possui este inconveniente.

b) A determinação da cafeína por pesagem, necessitaria da repurificação extra, já que os dois métodos de purificação estudados são insuficientes para se conseguir a cafeína pura.

c) O método da A. O. A. C. é muito mais rápido, menos complicado e mais barato.

SUMMARY

METHODS OF ORGANIC ANALYSIS OF COFFEE. II. COMPARISON OF METHODS OF CAFFEINE DETERMINATION IN GREEN COFFEE.

The micro Bailey-Andrew method (official of A. O. A. C., 1970) and the proposed reference method of Navellier et al. (1969) for determination of caffeine in coffee were studied. For the caffeine extraction and purification, it was followed the A. O. A. C. (1970) and Navellier et al. (1969) procedures, without modification, but for the caffeine estimation, the weight, total nitrogen, spectrophotometry with base line correction and the peak at 273 nm were used.

The following conclusion could be drawn:

a) the determination of caffeine by using the weight should not be applied by either methods, because it gave high values in comparison with nitrogen and spectrophotometry, and because of the high coefficient of variation.

b) the extraction and purification procedures used by Navellier don't remove all nitrogenous materials which interferes on the total nitrogen determination, whereas the Navellier spectrophotometry method gave similar results with the A. O. A. C. (1970) nitrogen and spectrophotometric determinations.

c) no difference was found for nitrogen and spectrophotometric (with correction of base line) determination of caffeine when A. O. A. C. (1970) extraction and purification procedures were used.

LITERATURA CITADA

- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 1970. pp. 236. 11 Edition. W. Horwitz Ed., Washington, U.S.A.
- NAVELLIER, P., R. BRUNIN, G. DALGER. 1969 — Remarques sur le dosage de la caféine. pp. 149-159. ASIC. 4^{ème} Colloque International sur la Chimie des Cafés. Amsterdam.
- NAVELLIER, P. 1970 — Coffee. pp. 373-447. *In* Encyclopédia of Industrial Chemical Analysis, Vol. 10. John Wiley & Sons, Inc.
- PIMENTEL GOMES, F. 1963 — Curso de Estatística Experimental, 2.^a Edição. ESALQ, USP. Piracicaba, S. P. 384 pp.

