

Estimativa do teor de cafeína nas sementes de café baseada na sua concentração nas folhas de mudas e de plantas adultas

Júlio César Dias Chaves^{1*}, Mário Miyazawa¹, Maria de Fátima Mesarina Bloch¹ e Jorge Kaoro Yamakami²

¹Instituto Agronômico do Paraná-Iapar, C. P. 481, 86001-970, Londrina, Paraná, Brasil. ²Departamento de Pesquisa ex-Cooperativa Agrícola de Cotia-CAC-CC. *Autor para correspondência. e-mail : jchaves@iapar.br

RESUMO. Este trabalho foi conduzido no Centro Experimental do Iapar em Londrina - PR, sendo realizadas amostragens de folhas, de casca de café e de sementes em plantas de *Coffea arabica* cvs. Mundo Novo, Catuaí, Icatu, Sarchimor e Laurina e de *Coffea canephora* cv. Robusta, com o objetivo de economizar tempo na seleção de plantas para teores de cafeína na semente, mediante o conhecimento prévio das concentrações do alcalóide nas folhas. A amostragem das folhas a campo foi feita conforme a idade: 1^o, 3^o e 6^o pares, nos estádios de chumbinho dos frutos, de enchimento dos grãos, de granação e de maturação. Os frutos foram coletados no estádio de cereja; parte de suas sementes foi semeada para obtenção de mudas das quais retiraram-se o 1^o e 3^o pares de folhas para análise. Os materiais coletados foram secos, moídos e submetidos à análise de cafeína, sendo a extração efetuada pelo método da água quente e a determinação por espectrofotometria a 273 nm. Os resultados mostraram que, para as duas espécies utilizadas, o teor de cafeína, no primeiro e no terceiro pares de folhas de mudas, aumentou linearmente com o aumento do teor de cafeína nas sementes das plantas da mesma variedade no campo, podendo, as folhas de mudas indicar, com eficiência, os teores nas sementes das plantas adultas. Em condições de campo, com plantas adultas, o primeiro par de folhas mostrou sempre valores superiores de cafeína em relação às folhas mais velhas, particularmente no caso da espécie *C. canephora*. No período de maturação dos frutos, foi encontrado o menor teor de cafeína nas folhas. O primeiro par de folhas amostrado no estádio “chumbinho” dos frutos pode predizer, com mais eficiência, o teor de cafeína das sementes. Observou-se que o teor do alcalóide foi menor na palha (casca + pergaminho) comparativamente às sementes. Nas sementes, os valores de cafeína aumentaram linearmente com os teores de N.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, alcalóide, qualidade da semente.

ABSTRACT. Estimative of the caffeine content in the coffee seeds based on its concentration in the leaves of the seedlings and mature plants. This work was conducted in the Iapar Experimental Station at Londrina, state of Paraná, Brazil. Leaf, fruit peel and seed samples were collected in an experimental site of *Coffea arabica* cultivars Mundo Novo, Catuaí, Icatu, Sarchimor and Laurina and of *Coffea canephora*, cultivar robusta. The objective was to save time in the plant selection with different caffeine content with previous determination of the alkaloid in the leaf. Samples composed by the first, third, and sixth pair of leaves counted from the lateral branch in the following coffee fruit stages: initial growth, fruit filling, green formed gram and full maturation. Fruit samples were collected in the bearing stage. Part of the fruits were sown to obtain seedlings from which were collected the first and third pair of leaves. Plant materials were dried, ground and then used for the caffeine determination. Caffeine was extracted by the hot water method and determined by spectrophotometry at 273nm. The results showed that for the both coffee species the caffeine content in the first and third pair of leaves of the seedlings increased linearly with increasing caffeine content in the seeds of the plants from the same variety in the field. Therefore, the first and the third pair of leaves of the seedlings were considered to be efficient to estimate of the caffeine content in the seeds of the mature plants. Under field conditions the first pair of leaves showed caffeine content higher than older leaves, mainly for the *Coffea canephora*. Coffee fruit in the maturation stage presented the lowest caffeine content in the leaves. The first pair of leaves sampled in the beginning of fruit growth was the most efficient plant material to estimate the caffeine content in the seeds as compared with the older leaves and with the more advanced time of the fruit development. The alkaloid contents were slightly lower in the fruit peel (shell + parchment) as compared with seeds. The caffeine content in the seeds increased linearly with increasing N content.

Key words: *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, alkaloid, seed quality.

Introdução

A cafeína é um alcalóide, encontrado nas sementes de café, pertencente ao grupo das metilxantinas, que ocorre livre no citoplasma ou complexada com o ácido clorogênico na forma de sais de potássio (Horman e Viani, 1972).

Segundo a farmacopéia brasileira, a cafeína está incluída entre os excitantes psicomotores que têm, principalmente, a propriedade de estimular a atividade mental. Em humanos, sob condições normais, em doses terapêuticas (100-200 mg), produz leve excitação psíquica, favorecendo o trabalho intelectual, afastando a sonolência e a sensação de fadiga (Mingoia, 1967); no entanto a ingestão de grandes quantidades pode provocar problemas à saúde. A desinformação e as contradições existentes a respeito do assunto provocam, nos consumidores, o desejo de buscar alternativas em bebidas isentas de cafeína ou com teores reduzidos, embora outros compostos presentes no grão de café também possam ser responsáveis por parte desses efeitos.

A qualidade do café, além dos atributos sensoriais, pode ser avaliada através da quantificação de componentes, tais como a cafeína que está associada à saúde humana, a trigonelina e os ácidos clorogênicos que são responsáveis pela formação do *flavour* durante a torrefação (Trugo e Macrae, 1989). Nogueira *et al.* (2000) constataram que o processo de torrefação reduz os teores de ácidos clorogênicos totais e de trigonelina e aumenta os de cafeína.

Dentro da espécie *C. arábica*, a variedade Laurina apresenta o menor teor de cafeína, conforme Carvalho *et al.* (1965), porém a exploração comercial direta é difícil em virtude de sua baixa produtividade (Carvalho *et al.*, 1988). Os teores de cafeína em sementes também podem variar conforme a época de colheita (Lopes *et al.*, 2000).

A cafeína é encontrada em todas as partes do cafeeiro, porém com mais abundância nas flores, nas sementes e nas folhas mais novas (Raju e Gopal, 1979).

Em *Coffea arabica*, a espécie mais cultivada no Brasil, não foram encontradas cultivares sem cafeína, embora ocorra uma sensível variabilidade no que concerne à quantidade do alcalóide nas sementes (Mazafera e Carvalho, 1991).

O conteúdo de cafeína nas sementes do cafeeiro depende da espécie; em *C. arábica*, o conteúdo médio é de 12 g/kg; em *C. canephora*, em torno de 22 g/kg e a *C. bengalensis* não produz esse alcalóide, constituindo-se em material potencial para a área de genética (Screenath, 1997).

Em virtude de toda essa discussão sobre os problemas que a cafeína poderia causar particularmente à saúde, o consumo de café

descafeinado aumentou muito, tornando-se um ramo economicamente promissor, dentro do comércio do café.

Sendo o principal produto agrícola, em termos de comercialização mundial, e a base da economia de vários países, o café ainda pode ganhar alguns mercados onde o consumo é baixo, particularmente no continente asiático. Para isso, é necessário continuar desenvolvendo pesquisas que visem, principalmente, dar resposta ao consumidor sobre as verdades e sobre os mitos da bebida café.

Neste trabalho, avaliou-se a concentração de cafeína nas folhas de mudas, nas folhas de plantas adultas, nas sementes e na casca do fruto de cafeeiros, visando à possibilidade de se estimar antecipadamente, sem necessidade de se esperar pela produção de frutos, qual a característica da planta quanto ao teor de cafeína nas sementes, mediante o conhecimento prévio do teor de cafeína nas folhas.

Material e métodos

O trabalho foi realizado no Centro Experimental do Iapar em Londrina, Estado do Paraná, utilizando-se de cafeeiros cultivados em experimentos do programa de melhoramento. Foram usadas plantas adultas no campo da espécie *C. arabica* cvs. Mundo Novo, Catuaí, Sarchimor, Icatu e Laurina e da espécie *C. canephora* cv. Robusta, sendo as folhas colhidas em quatro diferentes estádios fenológicos: após o florescimento na fase de “chumbinho”, crescimento do fruto (expansão), granação do fruto e maturação do fruto (cereja); essas folhas foram retiradas do primeiro, do terceiro e do sexto pares (separadamente), a partir da extremidade superior do galho plagiotrópico, na altura média das plantas, coletando-se um par em cada quadrante, em 10 plantas de cada cultivar por repetição. Os frutos foram coletados no estádio “cereja”, na altura média das plantas; no terço médio dos ramos; um ramo em cada quadrante, em 10 plantas de cada cultivar por repetição. Parte dos frutos foi transformada em sementes (com pergaminho) para a produção de mudas necessárias para análise; essas sementes foram semeadas em germinador de areia e posteriormente, no estádio “orelha de onça”, foram transferidas para um recipiente de plástico contendo substrato próprio (terra + esterco de gado + calcário + superfosfato simples) para adequado crescimento das mudas.

Nas mudas, as folhas foram coletadas do primeiro e do terceiro pares em 08 plantas de cada cultivar, por repetição. As folhas e os frutos foram secos em estufa de circulação forçada a 65°C, por 48 horas. Os frutos foram separados em palha (casca + pergaminho) e em sementes. Todos os materiais, separadamente, foram triturados em moinho de bola e armazenados em

frasco de vidro e encaminhados ao laboratório para as determinações de cafeína e de nutrientes.

O experimento obedeceu ao delineamento experimental, em blocos ao acaso, com 06 tratamentos (cultivares de cafeeiro) e com 04 repetições, utilizando-se, no campo, 28 plantas por cultivar e por repetição, sendo úteis as 10 centrais; no viveiro, foram produzidas 24 mudas por cultivar e por repetição, sendo utilizadas, para análises, as 8 centrais.

A cafeína dos tecidos do cafeeiro (folha, palha e semente) foi extraída em água quente e determinada por espectrofotometria a 273 nm (Li *et al.*, 1990). O procedimento constou do seguinte: preparo da solução padrão de cafeína em H₂O 0,0; 10,0; 25,0; 50,0; 100,0 e 150,0mg L⁻¹; transferência de 200,0 mg de amostra de tecido vegetal para frasco de vidro de 50,0mL; Adição de 20,0mL de H₂O e 500,0mg de MgO; aquecimento por 30 minutos, em banho-maria, a 95°C, após temperatura ambiente, completou-se o volume de água evaporada. Após decantação do tecido vegetal, transferiram-se 2,0mL de alíquota e/ou de solução padrão de cafeína para tubo de vidro, de 25,0mL com tampa, adicionando-se 4,0mL de CHCl₃, agitou-se por 10 minutos e centrifugou-se; transferência de 2,0mL da fase orgânica para tubo de vidro, após a evaporação do CHCl₃ na estufa a 65°C, adicionou-se 10,0mL de H₂O e efetuou-se a leitura no espectrofotômetro a 273 nm; estimou-se a concentração da cafeína através da curva analítica. Quanto ao nitrogênio, obedeceu-se ao critério utilizado pelo laboratório de solos e de tecido vegetal

do Iapar (Miyazawa *et al.*, 1992).

A interpretação dos resultados baseou-se nas análises de variância, procedendo-se também a análises de regressão para avaliação das relações entre os resultados da análise foliar e os valores de cafeína nas sementes.

Resultados e discussão

Concentração de cafeína nas folhas de mudas e nas sementes de cafeeiro

A análise do teor de cafeína em folhas e em sementes de algumas cultivares de *C. arabica* e de *C. canephora* mostrou que a concentração de cafeína nas sementes aumentou linearmente com o aumento dos teores de cafeína nas folhas do primeiro par em mudas, conforme mostra a Figura 1 A. Constatou-se que as folhas do primeiro par, em plantas jovens de cafeeiro, são mais ricas em cafeína do que as folhas do terceiro par. Esse resultado corrobora a afirmação de Raju e Gopal (1979).

No terceiro par de folhas, os teores de cafeína, embora ligeiramente inferiores às folhas do primeiro par, mostraram a mesma tendência, ou seja, aumentaram linearmente com o aumento do teor de cafeína nas sementes (Figura 1 B), indicando que tanto o primeiro como o terceiro pares de folhas de mudas podem predizer, de forma eficiente e com ganho de tempo, o teor de cafeína nas sementes dessas mesmas plantas quando adultas.

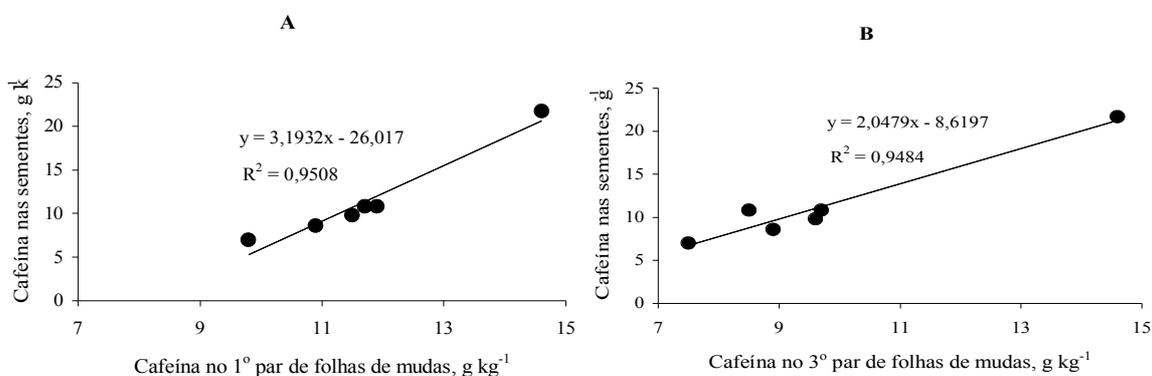


Figura 1. Relação entre as concentrações de cafeína nas sementes e nas folhas do primeiro (A) e do terceiro (B) pares de folhas em mudas de cafeeiro.

Concentração de cafeína nas folhas de plantas adultas

O teor de cafeína nas folhas de plantas adultas de cafeeiro foi avaliado nas cultivares das duas espécies estudadas. Constataram, em *C. canephora*, que acumula mais cafeína nas sementes, teores bem diferenciados do alcalóide no primeiro, no terceiro e no sexto pares de folhas, particularmente nos estádios do fruto de “chumbinho”, de crescimento e de granação (Figura 2 A). Nas cultivares de *C. arábica*, que acumulam menos cafeína nas

sementes, o primeiro par de folhas sempre mostrou maior concentração de cafeína em relação aos demais, no entanto, entre o terceiro e o sexto pares, os valores não foram muito diferentes (Figuras 2 B, 2 C, 2 D, 2 E, 2 F). No estágio de maturação dos frutos, por sua vez, as concentrações de cafeína, em todos os pares de folhas, para as duas espécies estudadas, apresentaram-se mais baixas, concordando com Herndlhofer (1933), Bernegg (1938), Mazzafera (1986), Raju e Gopal (1979) e Mazzafera e Carvalho (1991). Tais concentrações foram, nos diferentes

pares de folhas, muito próximas, indicando uma provável transferência para os frutos, de forma mais intensa, na fase que vai da granação à maturação.

O teor de cafeína no sexto par de folhas da espécie *C. canephora*, em todas as épocas avaliadas, foi bem inferior em comparação com as cultivares do *C. arabica*, o que reforça a hipótese de redistribuição para os frutos, visto que as sementes de café daquela espécie acumulam muito mais cafeína

comparativamente às cultivares de *C. arabica*. Nas folhas mais velhas, geralmente, o teor de nitrogênio também é mais reduzido devido à redistribuição para os frutos, podendo a cafeína ser um veículo para o transporte do N para os frutos e para as folhas mais novas, contradizendo a observação de Baumann e Wanner (1972).

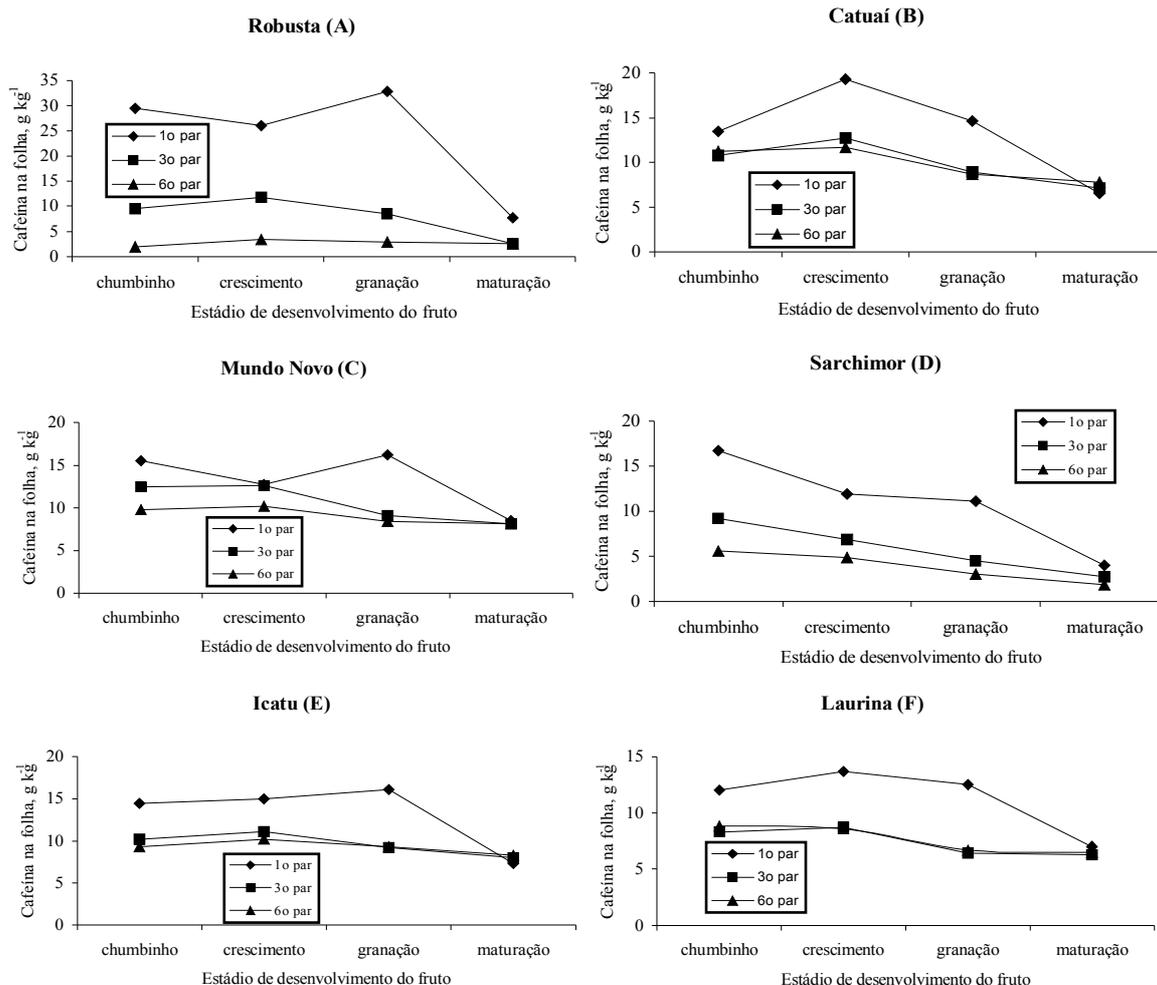


Figura 2. Concentrações de cafeína em folhas de cultivar de *C. canephora* (A) e cultivares de *C. arabica* (B, C, D, E, F) em diferentes estádios de crescimento do fruto.

A análise de regressão revelou relação linear e positiva entre os teores de cafeína nas sementes e no primeiro par de folhas na fase “chumbinho” dos frutos (Figura 3), mostrando dois aspectos importantes: o primeiro par de folhas do cafeeiro e a fase do fruto chamada de “chumbinho” representam as condições mais adequadas para estimar o potencial de cafeína das sementes no cafeeiro.

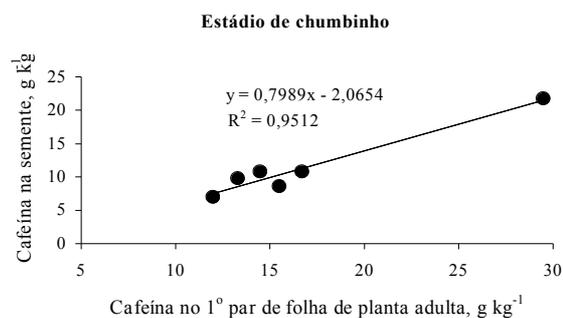


Figura 3. Relação entre as concentrações de cafeína nas sementes e no primeiro par de folhas de plantas adultas de cafeeiro.

Concentração de cafeína na palha (casca + pergaminho) e nas sementes

Foram avaliados também os teores de cafeína na palha dos frutos (pericarpo) e nas sementes do cafeeiro, obtendo-se sempre valores inferiores na palha em relação às sementes na seguinte ordem crescente: Robusta < Laurina < Sarchimor < Catuaí < Icatu < M. Novo (Figura 4). Particularmente, no caso do *C. canephora*, a relação cafeína na semente/cafeína na palha foi muito mais alta (7,9) do que nas cultivares de *C. arabica*, (1,4) (as relações podem ser calculadas com os resultados da figura 4), mostrando que quase toda cafeína acumulada no fruto transferiu-se para a semente. Este mecanismo facilitador de transferência do N da casca para as sementes no *C. canephora*, provavelmente seja o responsável pelo teor elevado do alcalóide nas sementes dessa espécie de café.

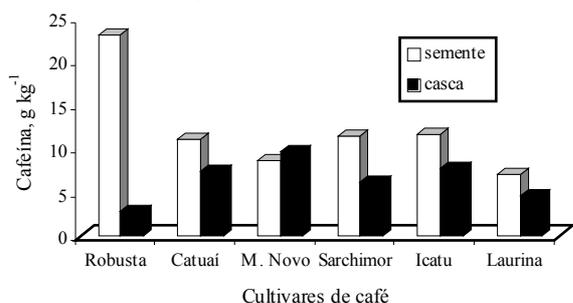


Figura 4. Concentrações de cafeína na casca dos frutos e nas semente de café.

Concentração de N e de cafeína nas sementes

A concentração de cafeína nas sementes aumentou linearmente com o aumento do nitrogênio, conforme Figura 5. Esse fato indica que os valores de cafeína, além de variar com as espécies e com as cultivares dentro da mesma espécie, também podem ser afetados pela adubação nitrogenada. Segundo Cloughley (1982), a concentração de cafeína em folhas jovens de chá correlacionou-se positivamente com as doses de nitrogênio empregadas.

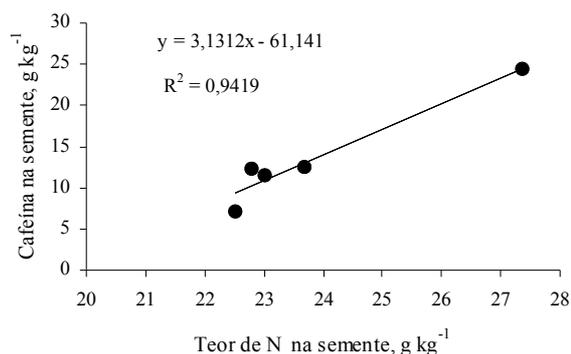


Figura 5. Relação entre as concentrações de cafeína e de nitrogênio nas sementes de café.

Conclusão

Os teores de cafeína nas folhas de mudas e de plantas adultas podem ser utilizados para estimar o teor do alcalóide nas futuras sementes a serem produzidas;

Em folhas de plantas jovens de cafeeiro, tanto o primeiro par quanto o terceiro apresentaram correlação elevada com o teor de cafeína nas sementes;

O primeiro par de folhas de plantas adultas, no estágio de “chumbinho” dos frutos, é mais indicado para prever o teor de cafeína nas sementes;

Todas as conclusões acima indicam que é possível ganhar tempo no processo de seleção das plantas quanto ao teor de cafeína nas sementes.

Referências

BAUMAN, T.W.; WANNER, H. Untersuchungen über den transport von kaffein in der kaffeepflanze (*Coffea arabica*). *Planta*, Berlin, 108:11-19, 1972.

BERNEGG, A.S. von. *Plantas tropicais e subtropicais da economia mundial: O café*. Rio de Janeiro: Departamento Nacional do Café, 1938.

CARVALHO, A. *et al.* Genetic control of the caffeine content of coffee. *Nature*, London, v. 205, n. 4968, p. 314, 1965.

CARVALHO, A. *et al.* Melhoramento do cafeeiro: XLII. Produtividade de progênies derivadas de hibridação dos cultivares Laurina e Mundo Novo. *Bragantia*, Campinas, v. 47, n. 2, p. 213-222, 1988.

CLOUGHLEY, J.B. Factors influencing the caffeine content of black tea, part 1: the effect of field variables. *Food Chemistry*, Barking, v. 9, p. 269-276, 1982.

HERNDLHOFER, E. A distribuição das proteínas da cafeína dos mono-amino-ácidos e dos di-amino-ácidos no cafeeiro e as variações da porcentagem destas substâncias no percurso de um ano. *Boletim de Agricultura*, São Paulo, v. 34, p. 163-251, 1933

HORMAN, I ; VIANI, R. The nature and confirmation of the caffeine-clorogenate complex of coffee. *J. Food Sci.*, Chicago, v. 37, p. 925-927, 1972.

LI, S. *et al.* UV spectrophotometric determination of

- theobromine and caffeine in cocoa beans. *Anal. Chim. Acta*, Amsterdam, v. 232, p. 409-412, 1990.
- LOPES, L.M.V. *et al.* Variação no teor de cafeína de grãos crus de 15 linhagens de café (*Coffea arabica* L.), colhidos em três épocas durante a colheita. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, Poços de Caldas, *Anais...* Poços de Caldas: Embrapa-Café/Minasplan, 2000, p. 618:620.
- MAZZAFERA, P. Teor de cafeína em folhas de cafeeiro. *Cienc. Cult.*, São Paulo, v. 38, n. 7, p. 869-870, 1986. (Suplemento).
- MAZZAFERA, P.; CARVALHO, A. A cafeína do café. Campinas: IAC, 1991. (Documentos IAC, 25).
- MINGOIA, Q. Excitantes do sistema nervoso central: excitantes psicomotores. In: *Química Farmacêutica*. São Paulo: Melhoramentos, 1967, p. 222-227.
- MIYAZAWA, M. *et al.* Análise química de tecido vegetal. Londrina: Iapar, 1992. 17p. (Iapar. Circular, 74).
- NOGUEIRA, G.C. *et al.* Otimização da metodologia para determinação simultânea de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico em café utilizando HPLC com coluna de permeação em gel. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, Poços de Caldas, *Anais...* Poços de Caldas: Embrapa/Minasplan, 2000, p. 646-649.
- RAJU, K.I.; GOPAL, N.H. Distribution of caffeine in arabica and robusta coffee plants. *J. Coffee Res.*, Karnataka, v. 9, n. 4, p. 83-90, 1979.
- SCREENATH, H.L. Development of caffeine free coffee varieties. *Indian Coffee*, Bangalore, v. 61, n. 10, p. 13-14, 1967.
- TRUGO, L.C.; MACRAE, R. Application of High Performance Liquid Chromatography to the Analysis of Some Non-volatile Coffee Components. *Arch. Latinoam. Nutr.*, v. 39, p. 97-107, 1989.

Received on November 12, 2003.

Accepted on September 16, 2004.