

CONSTITUINTES QUÍMICOS EM FRUTOS E FOLHAS EM DIFERENTES CULTIVARES DE CAFÉ E RELAÇÃO COM INSETOS

Flávio Lemes Fernandes^{1*}, Guilherme Carvalho Geraldo², Antônio Jacinto Demuner³, Marcelo Coutinho Picanço⁴, Maria Elisa de Sena Fernandes⁵

*Autor correspondente: flaviolefe@yahoo.com.br

¹Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Cep. 36570-000, Doutorando em Entomologia

²Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Cep. 36570-000, Mestrando em Química

³Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Cep. 36570-000, Doutorado em Química

⁴Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Cep. 36570-000, Doutorado em Entomologia

⁵Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Cep. 36570-000, Mestranda em Genética e Melhoramento

Resumo - As folhas e os frutos do cafeeiro possuem vários compostos secundários diferentes. Esta miríade química pode ter importante papel na suscetibilidade dos cafeeiros a insetos-praga. Assim este trabalho tem por objetivo qualificar e identificar os compostos químicos presentes em folhas e frutos e em diferentes cultivares de café. As amostras de café *Coffea arabica* (variedade catuaí amarelo e vermelho) foram colhidas no estágio de maturação verde e cereja (maduro), e obtidos em uma lavoura de 50 ha em Viçosa-MG. Já as folhas foram coletadas de plantas de café (catuaí vermelho) *C. arabica* em fase de formação no ano de 2006 em Viçosa-MG. Foram amostradas 6 amostras compostas em uma área de 30 ha. Utilizou-se para a identificação dos frutos cromatógrafo (CG-EM) e para a qualificação e identificação das dos compostos nas folhas HPLC. Vários compostos foram identificados nas diferentes variedades de café. Além disso, foi detectado uma série de compostos químicos voláteis nos frutos do cafeeiro. Sendo que os frutos cereja do catuaí amarelo encontrou-se maior número de picos. Nas folhas encontrou-se compostos deterrentes para insetos.

Palavras chave: compostos químicos, pragas, melhoramento vegetal.

Abstract - The leaves and fruits of the coffee plants has several secondary compounds. This chemistry can has important influency in the susceptibility of the coffee plants on the insects. The objective of this work was to qualify and identify the chemical compounds in the leaves and fruits in different coffee varieties. The samples fruits of *C. arabica* (variety yellow and red catuaí) were collected at stages green and cherry of maturation (ripe), and obtained in a crop with area of 50 ha at Viçosa-MG. The leaves were collected of plants of coffee (red catuaí) *C. arabica* in formation phase in the year of 2006 at Viçosa-MG. Were collected 6 samples in an area of 30 ha. It was used for the identification of the compounds (GC-IN) and for the qualification and identification of compounds in the leaves HPLC. Several compounds were identified in different varieties of coffee. Besides, a series of volatile chemicals was detected in fruits of the coffee. The fruits cherry of the yellow catuaí were larger number of picks. In the leaves deterrents compounds for insects were observed.

Key Words: chemical compounds, pests, plant breeding

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de café, com área plantada de 1.980.300 ha e produtividade média de 15,70 sacas/ha. O principal estado produtor do Brasil é Minas Gerais, que produz 51% do café em coco brasileiro, seguido por Espírito Santo (22% da produção), São Paulo (12% da produção), Paraná (6% da produção) e Bahia e Rondônia (4% da produção cada um), sendo que os demais estados representam 1% da produção nacional. Do café produzido no Brasil cerca de 80% é de *Coffea arabica* e 20% de *Coffea canephora* (CNP&D-Café 2003).

Os compostos químicos presentes nas folhas do cafeeiro podem variar de acordo com a idade das folhas. Normalmente, folhas novas apresentam maior suscetibilidade a doenças fúngicas do que folhas velhas, esse fato provavelmente se deve a presença de compostos que não são comuns as diferentes idades das folhas. PERES (1990) analisou extratos metanólicos de folhas novas e velhas de cafeeiro e encontrou compostos exclusivos em folhas velhas. Esses compostos apresentaram características de terpenos e possivelmente estão envolvidos nos mecanismos de resistência das folhas velhas aos fitopatógenos.

Dentre os princípios ativos mais estudados, destacam-se os óleos essenciais resultantes do metabolismo secundário dos vegetais (VON POSER & MENTZ 2003). Muitas plantas (e organismos vivos) volatilizam ou emitem essas substâncias principalmente como um meio de defesa ou atração de polinizadores. No café, estes compostos são muito importantes, pois estes determinam seu aroma (MEUA et al. 2003).

Segundo KLIFFORD & WILLSON (1985) esses compostos secundários presentes nas folhas e frutos do cafeeiro podem constituir importante fator no controle de pragas. Segundo ORTIZ et al. (2004), com o conhecimento da composição específica dos voláteis emitidos pelo fruto do café em fases de maturação diferentes, poderíamos entender melhor como componentes individuais, ou combinações destes componentes, afetam o desenvolvimento de doenças e pragas nesta cultura.

As folhas e frutos do cafeeiro possuem compostos como fenóis, terpenos, flavonóides, alcalóides (cafeína), aldeídos, hidrocarbonetos, ácido clorogênico, ácido neoclorogênico, ésteres, cetonas, pirazinas e cumarinas, que podem ter importante papel na suscetibilidade dos cafeeiros a insetos-praga (ZULUAGA et al. 1971, HOLLOWAY et al. 1972, NACCACHE & DIETRICH 1985, PETTITT Jr. 1987, KUSHALAPA & ESKES 1989, PERES 1990).

2. OBJETIVO

Assim este trabalho tem por objetivo qualificar e identificar os compostos químicos presentes em folhas e frutos e em diferentes cultivares de café.

3. METODOLOGIA

3.1. Parte I - Análise química dos frutos

As amostras de café *Coffea arabica* (variedade catuaí amarelo e vermelho) foram colhidas no estágio de maturação verde e cereja (maduro), e obtidos em uma lavoura de 50 ha em Viçosa-MG. As amostras, após a colheita manual, foram

enviadas imediatamente ao Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos – LASA, no Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, onde as extrações e análises foram feitas.

3.1.1. Extração qualitativa do óleo essencial dos frutos por hidrodestilação

Para extração do óleo essencial em todas as amostras foi utilizada a hidrodestilação, por três horas consecutivas, com auxílio de um aparelho tipo Clevenger. O óleo obtido foi recolhido e extraído com pentano. A fase aquosa foi descartada e a fase orgânica secada com sulfato de magnésio anidro. Posteriormente, o solvente foi enviado para análise qualitativa por CG-EM.

3.1.2. Identificação dos compostos

Obtidos os cromatogramas, a identificação dos compostos foi realizada pela comparação dos espectros de massas obtidos experimentalmente com o banco espectral Wiley, 7ª Edição e pelo índice de retenção relativo, o chamado índice de Kovats (ADAMS, 1995).

3.2. Parte II - Análise química das folhas

As folhas foram coletadas de plantas de café (catuaí vermelho) *C. arabica* em fase de formação no ano de 2006 em Viçosa-MG. Foram amostradas 6 amostras compostas em uma área de 30 há. Após a coleta as folhas foram secas e moídas, separando-se 1 g de cada amostra em erlenmeyers de 50 mL contendo 20 mL de álcool metílico para extração dos fitoquímicos. Após extração o material foi filtrado. O extrato foi filtrado e armazenado em vidros de 10 mL para posterior análise química.

3.2.1. Identificação e quantificação dos compostos químicos

Para se definir o pico e o tempo de retenção de cada composto, os padrões de ácido clorogênico (5-O-cafeoilquínico), cafeína (1,3,7-trimetilxantina), ácido cafeico, teofilina (1,3-dimetilxantina) e teobromina (3,7-dimetilxantina) (Sigma-Adrich) foram injetados em conjunto e separadamente nas concentrações de 0, 1, 2, 4, 8, 12 e 16%. O tempo de retenção foi utilizado para identificação dos fitoquímicos por meio de comparações entre os cromatogramas das amostras com os padrões injetados no HPLC.

O sistema cromatográfico possibilitou a separação e detecção dos padrões teobromina, cafeína, teofilina, ácido clorogênico e ácido cafeico, nos tempos de retenção de 10.85, 12.01, 14.02, 14.86 e 18.71 min, respectivamente. No entanto, os fitoquímicos teobromina e teofilina foram identificados em baixas concentrações. Assim, estes compostos não foram considerados nas análises posteriores.

Após a identificação realizou-se a quantificação dos teores dos compostos. Confeccionaram-se curvas de calibração entre a área abaixo do pico em função das concentrações. As melhores curvas foram aquelas com coeficiente de determinação de 99.9%. A partir destas curvas e dos resultados das áreas abaixo dos picos quantificaram-se os teores dos fitoquímicos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Frutos verdes de catuaí vermelho

Após injeção da amostra de óleo obtido de frutos de Catuaí amarelo foram registrados 29 picos, dos quais 16 foram identificados através da análise dos espectros de massas e os índices de Kovats (IK). Pôde ser observada a presença de vários hidrocarbonetos como o tetradecano, e alguns terpenóides como o α -terpineol, um monoterpeneo, assim como alguns sesquiterpenos como o veridiflorol , o γ -eudesmol e o Selin-11-en-4-alfa-ol.

Este óleo é constituído em sua maioria por hidrocarbonetos (30,9%), sendo que desta porcentagem relativa apenas 0,6% correspondem a hidrocarbonetos insaturados. Com relação aos compostos terpênicos, têm-se que o α -terpineol é o mais abundante (27,6%), já os sesquiterpenos apresentam-se em menor proporção sendo o veridiflorol (8,65%) encontrado em maior quantidade em relação aos demais como o γ -eudesmol (1,3%) e o Selin-11-en-4-alfa-ol (2,9%). Houve uma grande porcentagem relativa de compostos não identificados, cerca de 28,65% da composição, sendo alguns destes picos com porcentagens relativamente altas, como é o caso do último pico do cromatograma ($T_R= 69,4$ minutos) com aproximadamente 5,0%. Na Tabela 1 encontram-se os resultados desta identificação.

Tabela 1. Identificação do óleo essencial de frutos verdes de catuaí vermelho.

Pico	Tempo de Retenção	IK Calculado	Identificação	IK Tabelado	Porcentagem relativa
1	20,957	1187	α -terpineol	1189	27,60
2	30,811	1401	Tetradecano	1399	5,30
3	34,918	1497	NI		1,10
4	35,08	1501	Pentadecano	1500	3,35
5	38,626	1588	Veridiflorol	1590	8,65
6	39,133	1600	Hexadecano	1600	3,50
7	40,887	1647	γ -eudesmol	1649	1,30
8	41,03	1650	Selin-11-en-4-alfa-ol	1652	2,90
9	42,985	1700	Heptadecano	1700	2,70
10	43,225	1707	NI		1,70
11	43,372	1711	NI		1,25
12	43,885	1725	NI		2,00
13	46,65	1800	Octadecano	1800	4,00
14	46,988	1809	NI		1,40
15	48,708	1859	Nonadec-1-ene		0,60
16	48,868	1864	NI		1,20
17	50,144	1900	Nonadecano	1900	3,25
18	50,355	1906	NI		2,90
19	50,997	1926	NI		4,30
20	52,055	1958	NI		1,65
21	52,542	1973	NI		1,50
22	53,478	2000	Icosano	2000	1,70
23	56,643	2100	Enicosano	2100	2,10
24	57,501	2129	NI		0,80
25	58,882	2174	NI		1,65
26	59,728	2202	Docosano	2200	1,25
27	60,013	2212	NI		2,20
28	65,494	2398	Tetracosano	2400	3,15
29	69,401	2533	NI		5,00

4.2. Frutos cereja de catuaí amarelo

Com a injeção da amostra de óleo obtido de frutos amarelos de *Coffea arabica* (Catuaí) foram observados 46 picos, sendo 25 deles identificados através da análise dos espectros de massas e os índices de Kovats. A Tabela 2 mostra a identificação dos compostos assim como a comparação entre os índices de Kovats calculados e tabelados, além de trazer a porcentagem relativa de cada constituinte na amostra.

Nesta amostra, pode ser observada a presença de poucos hidrocarbonetos, identificados como o tetradecano e o pentadecano. Grande parte deste óleo é constituído por compostos terpenóides, sendo a maioria de sesquiterpenos como o nerolidol, o α -muuroleno e o 10-epi- γ -eudesmol. Com relação aos monoterpenos, foram observados o α -terpineol e o geraniol.

Este óleo de frutos amarelos é constituído em sua maioria por sesquiterpenos (81,54%), sendo o elemol e o α -cadinol os mais abundantes com porcentagens de 25,61% e 19,62% respectivamente. Outros compostos desta classe que apresentaram porcentagens significativas foram o γ -eudesmol (9,37%), o γ -eudesmol (8,72%), o Epi- γ -cadinol (6,61%) e o γ -cadineno (0,50%). Já os monoterpenos e hidrocarbonetos representam muito pouco da composição desta amostra, sendo estas classes representadas pelo α -terpineol e geraniol, perfazendo aproximadamente 1,0% da composição; e o tetradecano juntamente com o pentadecano compondo aproximadamente 1,5% deste óleo.

Observando os compostos não identificados, tem-se que estes totalizam 13,73% da composição total. Dentre eles apenas o pico com tempo de retenção igual a 42,044 minutos possui porcentagens relativa considerável (4,76%), enquanto os demais possuem abundância muito baixa (menores que 1,0%).

Dentre as substâncias identificadas, observou-se também a presença de outras classes de compostos como fenóis, representado pelo carvacrol (0,25%), ésteres, representado pelo hexadecanoato de etila (0,86%), e cetonas cíclicas como a β -damascenona (0,33%). Esta cetona é muito comum nos frutos de café, sendo proveniente da degradação de carotenóides. Segundo MOREIRA *et al.* (2000), os carotenóides podem ser encontrados na película de revestimento mais intimamente ligada ao grão de café verde. Sua degradação se dá nos estágios de maturação mais avançados (frutos amarelos e vermelhos).

A β -damascenona apresenta um aroma de chá e de fruta, sendo considerada uma das substâncias de impacto para o aroma final do café torrado (MOREIRA *et al.*, 2000).

Com relação a significativa diminuição das quantidades de hidrocarbonetos e monoterpenos com o conseqüente aumento na porcentagem de sesquiterpenos, pode-se inferir que durante o processo de maturação do café os hidrocarbonetos vão sendo consumidos nas rotas biossintéticas e sendo incorporados aos monoterpenos levando à formação dos sesquiterpenos, o que justificaria os valores percentuais encontrados.

Tabela 2. Identificação do óleo essencial de frutos cerejeja de catuaí amarelo.

Pico	Tempo de Retenção	IK Calculado	Identificação	IK Tabelado	Porcentagem relativa
1	20,209	1173	NI		0,62
2	20,88	1186	α -terpineol	1189	0,53
3	24,092	1255	Geraniol	1255	0,33
4	26,288	1300	Carvacrol	1298	0,70
5	26,658	1309	NI		0,25
6	29,9	1382	β -damascenona	1380	0,33
7	30,31	1390	NI		0,22
8	30,796	1401	Tetradecano	1400	1,08
9	31,432	1416	<i>E</i> -cariofileno	1418	1,01
10	33,938	1475	NI		0,30
11	34,092	1479	Germacreno D	1480	1,27
12	34,675	1492	NI		0,40
13	34,947	1498	α -muuroleno	1499	0,69
14	35,072	1501	Pentadecano	1500	0,41
15	35,49	1511	γ -cadineno	1513	0,50
16	35,93	1523	δ -cadineno	1524	3,33
17	37,08	1551	Elemol	1549	25,61
18	37,197	1554	Germacreno B	1556	0,57
19	37,658	1565	Nerolidol	1564	0,69
20	38,056	1575	Espatuleno	1576	0,81
21	38,255	1580	Oxido do cariofileno	1581	0,83
22	38,612	1588	Veridiflorol	1590	0,61
23	38,899	1595	Guaiol	1595	0,23
24	39,07	1599	NI		0,45
25	39,244	1603	NI		0,67
26	39,443	1609	NI		0,55
27	39,708	1616	10-epi- γ -eudesmol	1618	0,85
28	40,259	1630	γ -eudesmol	1630	8,72
29	40,686	1642	Epi- γ -cadinol	1640	6,61
30	40,973	1649	β -eudesmol	1649	9,37
31	41,204	1655	α -cadinol	1653	19,62
32	41,608	1665	NI		0,44
33	41,773	1669	NI		0,34
34	42,044	1676	NI		4,76
35	42,297	1683	NI		0,21
36	42,47	1687	NI		0,18
37	42,658	1692	NI		0,14
38	43,789	1722	NI		0,29
39	45,738	1775	Guaiázuleno	1772	1,03
40	46,037	1783	NI		1,37
41	48,847	1863	NI		0,25
42	50,982	1926	Hexadecanoato de metila	1927	0,86
43	51,839	1952	NI		0,78
44	52,967	1985	NI		0,26
45	59,996	2211	NI		0,42
46	69,38	2532	NI		0,50

4.3. Análise de folhas de *C. arabica* Catuaí vermelho

Os compostos mais abundantes foram cafeína, ácido clorogênico e ácido cafeico. Os outros compostos presentes em catuaí vermelho apresentaram em baixas concentrações e não foi possível a sua quantificação.

Tabela 3. Teores de compostos secundários em folhas de catuaí vermelho.

Teores de compostos secundários na folha (mg/g de folha)			
Amostras	Ácido clorogênico	Ácido cafeico	Cafeína
1	2,30 ± 0,13	1,11 ± 0,69	30,3 ± 3,1
2	11,22 ± 1,2	2,84 ± 0,74	28,67 ± 9,2
3	10,82 ± 1,4	1,00 ± 0,00	20,0 ± 0,45
4	9,21 ± 1,1	1,97 ± 0,21	33,25 ± 8,1
5	4,72 ± 0,01	3,65 ± 1,31	11,65 ± 3,1
6	11,67 ± 1,00	4,98 ± 1,41	18,98 ± 6,8

O efeito desses compostos sobre insetos tem sido observados em vários trabalhos. Os efeitos podem ser de deterrência, repelência, alteração no comportamento e na reprodução (PANDA 1979). CALATAYUD et al. (1994) verificaram efeito deterrente da cafeína sobre a cochonilha *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Hemiptera: Pseudococcidae) em plantas de mandioca. URBANSKA et al. (1998) verificaram efeito deterrente do ácido clorogênico a pulgões. RAMIRO et al. (2006) verificaram menor ataque de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) em plantas de *C. arabica* com altas concentrações de ácido clorogênico.

5. CONCLUSÃO

Vários compostos foram identificados nas diferentes variedades de café. Além disso, foi detectado uma série de compostos químicos voláteis nos frutos do cafeeiro. Sendo que os frutos cereja do catuaí amarelo encontrou-se maior número de picos. Nas folhas encontrou-se compostos deterrentes para insetos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, R.P., 1995. Identification of Essencial Oil Components by Gás Chromatography / Mass Spectroscopy. Carol Stream – Illinois: Allured Publishing Corporation. 469p.
- Calatayud, P.A., Rahbé, Y., Tjallingii, W.F., Tertuliano, M. & Le Rü, B., 1994. Electrically recorded feeding behaviour of cassava mealybug on host and non-host plants. Entomol. Exp. Appl. 72, 219-232.
- CNP,D-Café. 2003. Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café. Capturado em 25 jul. 2003. Online. Disponível na Internet http://www.embrapa.br/cafe/consorcio/home_4.htm.
- Holloway, P.J., Deas, A.H.B., Kabaara, A.M. 1972. Composition of cutin from coffee leaves. Phytochemistry .11, 1443-1447.

- Klifford, M.N., Willson, K.C., 1985. Coffee Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage. Connecticut, The Avi Publishing Company. 475p.
- Kushalapa, A.C., Eskes, A.B., 1989. Coffee rust: Epidemiology, resistance and management. Boca Raton, CRC. 345p.
- Meua, J., Bryson, J.M., Vonderheide, A.P., Montes-Bayón, M., Caruso, J.A., 2003. Studies of Selenium-Containing Volatiles in Roasted Coffee. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5116-5122.
- Moreira, R.F.A., Trugo, L.C., Maria. C.A.B., 2000. Componentes Voláteis do Café Torrado. Parte II: Compostos Alifáticos, Alicíclicos e Aromáticos. *Química Nova.* 23, 195-203.
- Naccache, V.M., Dietrich, S.M.C., 1985. Changes in phenols and oxidative enzymes in resistant and susceptible *Coffea arabica* inoculated with *Hemileia vastatrix* (coffee rust). *Rev. Brasil. Bot.* 8, 185-190.
- Ortiz, A., Vega, F.E., Posada, F., 2004. Volatile Composition of Coffee Berries at Different Stages of Ripeness and Their Possible Attraction to the Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Agric. Food Chem.* 52, 5914-5918.
- Panda, N., 1979. Principles of host-plant resistance to insect pests. Ilanheld/Universe, New York. 431p.
- Peres, V. Cromatografia de fase gasosa e espectrometria de massa para análise de metabólitos secundários em folhas de cafeeiro. 1990. 81 p. Tese (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa – UFV 1990.
- Pettitt JR, B.C., 1987. Identification of diterpene esters in Arabica and Canephora coffees. *J. Agric. Food. Chem.* 21, 485-487.
- Ramiro, D.A, Guerreiro-Filho, O., Mazzafera, P. 2006. Phenol Contents, Oxidase Activities, and the Resistance of Coffee to the Leaf Miner *Leucoptera coffeella*, *Journal of Chemical Ecology* 32: 1977-1988.
- Urbanska, A., Leszczynski, B., Matok, H., 1998. Defence metabolism of grain aphid against cereal phenolics, 2° International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-2). 1, 1-30.
- Von Poser, G.L., Mentz, L.A. 2003. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A. & Petrovick, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 5 ed. – Porto Alegre; Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS; Ed. UFSC. 833 p.
- Zuluaga, J.V., VALENCIA, G.A., GONZALEZ, J., 1971. Contribucion al estudio de la naturaleza de la resistencia del cafeto a *Ceratocystis fimbriata* (Ell. Halst).