

## CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS DO BANCO DE GERMOPLASMA DE CAFÉ DA EPAMIG EM RELAÇÃO AO ÁCIDO CLOROGÊNICO, TRIGONELINA E CAFEÍNA<sup>1</sup>

Tesfahun Alemu Setotaw<sup>2</sup>; Claudinéia Ferreira Nunes<sup>3</sup>; Cristina Soares de Souza<sup>4</sup>; Sonia M.L. Salgado<sup>5</sup>; Gladyston Rodrigues Carvalho<sup>6</sup>; Juliana Costa de Rezende<sup>7</sup>; Antonio Alves Pereira<sup>8</sup>; Geraldo Magela de Almeida Cançado<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Trabalho financiado pelo Consórcio de café, CAPES, FAPMIG

<sup>2</sup> Bolsista pós doutorado, DSc., Universidade Federal de Lavras, setotaw2006@gmail.com

<sup>3</sup> Pesquisadora, DSc. INCAPER, Linhares-ES, claudineia.f.nunes@gmail.com

<sup>4</sup> Bolsista pós doutorada, Universidade Federal de Uberlândia, cristina.genetica@gmail.com

<sup>5</sup> Pesquisadora, EPAMIG, Lavras-MG, soniamaria@epamig.ufla.br

<sup>6</sup> Pesquisador, EPAMIG, Lavras-MG, carvalho@epamig.ufla.br

<sup>7</sup> Pesquisadora, EPAMIG, Lavras-MG, julianacr@epamig.ufla.br

<sup>8</sup> Antonio Alvez Pereira, EPAMIG, Viçosa-MG, pereira@epamig.ufv.br

<sup>9</sup> Pesquisador, EMBRAPA GenClima, Campinas, geraldo.cancado@embrapa.br

**RESUMO:** O banco de germoplasma de café da EPAMIG contém acessos muito importantes para o programa de melhoramento de *Coffea arabica*, os quais necessitam de caracterização em relação aos ácidos orgânicos e cafeína. Portanto, esse trabalho objetivou avaliar 64 acessos de *C. arabica*, *C. canephora* var. Robusta e Híbrido de Timor mantidos no banco de germoplasma localizado na Fazenda Experimental da EPAMIG no município de Patrocínio/MG. A avaliação foi baseada na quantificação do ácido clorogênico, trigonelina e cafeína por meio da determinação empregando HPLC Perkins Elmer com “UV/VIS detector”. Detectou-se variabilidade em relação ao ácido clorogênico, trigonelina e cafeína entre acessos de café arábica e os outros acessos do banco de germoplasma. Isso evidencia a importância da caracterização desses acessos para ações futuras dentro do programa de melhoramento do cafeeiro.

**PALAVRAS-CHAVES:** ácidos orgânicos, cafeína, *C. arabica*, HPLC

### CHARACTERIZING THE ACCESSIONS OF GERMPLASM BANK OF COFFEE IN RELATION TO CHLOROGENIC ACID, TRIGOLLINE AND CAFFEINE

**ABSTRACT:** The germplasm banks of EPAMIG consisted of coffee accessions that have great importance for the breeding program of *C. arabica*, that requires characterizing in relation to organic acid and caffeine. Therefore, this work was realized with the objective of evaluating *C. arabica*, Híbrido de Timor and *C. canephora* found in the germplasm bank of Patrocínio, MG. The evaluation was based on chlorogenic acid, trigolline and caffeine. In this work evaluated 64 accessions. Determination of Chlorogenic acid, trigolline and caffeine was done using HPLC PerkinsElmer equipped with UV/VIS detector. The result revealed the existence of variability in relation to chlorogenic acid, trigolline and caffeine between accessions of *C. Arabica* and other accessions of the germplasm bank of EPAMIG em Patrocínio, that showed the importance of characterizing these accessions for the future breeding program of coffee in Brazil.

**KEYWORDS:** organic acids, caffeine, *C. arabica*, HPLC

### INTRODUÇÃO

O café é um produto de grande importância para a economia brasileira contribuindo efetivamente para geração de empregos e renda. Entre as mais de 90 espécies de café, *C. arabica* e *C. canephora* são as duas principais espécies produzidas no Brasil. Contudo, outro grupo denominado Híbrido de Timor, resultado de um cruzamento interespecífico por hibridização natural entre *C. arabica* e *C. canephora* var. Robusta, e retrocruzado naturalmente com *C. arabica* várias vezes, tem papel importante nos programas de melhoramento. Este híbrido interespecífico é fonte de genes responsáveis pela resistência a doenças e pragas como ferrugem e nematoides. Muitas cultivares de café arábica foram desenvolvidas com a introgressão do gene de Híbrido de Timor o que confere resistência a nematoides e ferrugem (Gonçalves & Perreira et al, 1998, Salgado et al. 2014), sem afetar a qualidade de bebida do café.

A qualidade de bebida do café é altamente influenciada por componentes bioquímicos encontrados no fruto do cafeeiro, como ácidos orgânicos, trigonelina e cafeína. A espécie *C. arabica* é a preferida por consumidores, por possuir baixo teor de cafeína e sabor mais suave, diferentemente do *C. canephora*. A importância dos ácidos orgânicos na qualidade de café foi apresentada por diferentes autores (Rodrigues et al. 2007, Duarte et al. 2010). Entre os diversos ácidos orgânicos, o ácido clorogênico é considerado de grande importância para qualidade de bebida do café. Guerrero et al. (2001) demonstraram a importância dos ácidos orgânicos como o ácido clorogênico para a qualidade de bebida e recomendaram o uso do ácido clorogênico como parâmetro de seleção para a melhoria da qualidade de bebida em café.

O banco do germoplasma da EPAMIG possui acessos de café de diferentes origens. Embora este patrimônio genético represente grande relevância para o programa do melhoramento, ainda se desconhece as características de seus acessos quanto aos ácidos orgânicos (ácido clorogênico), trigonelina e cafeína. A caracterização desses acessos encontrados no banco do germoplasma representa um importante auxílio nos programas de melhoramento para identificar os acessos de café com baixa teor de cafeína, visando sua incorporação em programas de desenvolvimento de cultivares de café arábica que atendam a demanda de mercado e consumidores.

Portanto esse trabalho foi desenvolvido com objetivo de caracterizar diferentes grupos de acessos de café encontrados no banco de germoplasma da EPAMIG de Patrocínio em relação ácidos clorogênico, trigonelina e cafeína.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Materiais genéticos

Sementes derivadas de polinização aberta dos acessos de café foram coletadas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de café da Fazenda Experimental da EPAMIG, Patrocínio/MG. Os 64 acessos de café incluindo café arábica Bourbon, Típica, Híbrido de Timor, acessos de *C. arabica* originado da Etiópia e cultivares de café arábica derivado de cruzamento entre *C. arabica* e Híbrido de Timor.

### Extração de amostras para análise

Os frutos maduros coletados foram submetidos ao beneficiamento e a seguir armazenados em geladeira de 4°C até o momento das análises. Uma grama de café foi macerado e colocado em 25ml de água aquecida a 100°C e a seguir colocado no banho-maria a 65°C por 3 minutos. O sobrenadante tirado foi transferido para tubo Falcon, filtrado em filtro millipore de 0.45mm e posteriormente armazenado em -20°C até a análise de HPLC.

### Análise de HPLC

Para análise de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico foi empregada 75% de solução de ácido fosfórico (1%) e 25% de Metanol, usado como fase de móveis com vazão de 0,8ml/min. Todos os procedimentos foram conduzidos isocriticamente. Para quantificação do ácido clorogênico, trigonelina e cafeína os padrões com concentração conhecida foram preparados e a leitura foi feita em HPLC e curva de calibração para cada um foi determinado usando modelo de regressão. A separação foi realizada a 25°C. O volume de 10µl de cada amostra e dos padrões de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico foram injetados em 2 repetições. A quantificação de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico foi realizada em comprimento de onda em absorção máximo (272 nm) obtido de detector de UV/VIS espectrofotômetro espectro usando PerkinElmer HPLC durante 20 minutos.

### Análise de dados

A análise de variância e o teste de comparação de médias dos tratamentos foram feitos no programa R utilizando o pacote Agricolae do R (Mendiburu, 2014). Para comparação de médias foi utilizado o teste de Scott-Knott a 5% probabilidade.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

A análise de variância para cafeína, trigonelina e ácido clorogênico mostrou diferença significativa entre acessos de café avaliados nesse trabalho ( $P < 0.05$ ). A análise estatística descritiva para os parâmetros estudados mostrou diferença entre valores mínimo e máximo (Tabela 1). Para cafeína, a amplitude variou de 237,15mg/L a 430 mg/L entre os acessos de café. Farah et al. (2006) mostrou resultado semelhante em café arábica. No presente trabalho o valor mínimo de cafeína ocorreu nos acessos Catiguá MG2, Caturra Amarelo x CIFIC H385/5 e Laurina, S4 Agaro x Híbrido de Timor e Angustifolia. Caturra Amarelo x H385/5 apresentou o menor teor de cafeína e diferiu estatisticamente de Laurina. Na maioria das pesquisas relacionadas o acesso Laurina é considerado como um dos acessos de café arábica com menor teor de cafeína. Alta concentração de cafeína foi observada no acesso Apoatã (*C. canephora*), inclusive com conteúdo de cafeína significativamente superior ao *C. canephora* var. Conilon. Ky et al. (2001) também relataram alto teor de cafeína para *C. canephora* em comparação com *C. arabica*. Observou-se a existência de alta variabilidade em relação a cafeína e o ácido clorogênico. Entre os acessos de café encontrados no BAG foi possível identificar acessos com baixa teor de cafeína semelhantes ou inferiores aos apresentados pela cultivar Laurina que é considerada como cultivar de baixo teor de cafeína mostrando a presença de acessos de café arábica com baixa teor de cafeína no BAG da EPAMIG Patrocínio.

A diferença na quantidade de ácido clorogênico também foi observada entre os acessos de café arábica avaliados e mostrou amplitude de 579.69 mg/L a 1250mg/L. Resultados semelhantes foram relatados por Farah et al (2006) e (Ky et al., 2001). Dentro acessos de café estudados nesse trabalho genótipo K7 x Dilla & Alghe apresentou o maior teor de ácido clorogênico e menor teor de ácido clorogênico for observado pelo genótipo Apoatã que é cultivar de *C. canephora* var robusta. Diferença sobre ácido clorogênico entre acessos de *C. arabica* e *C. canephora* foi relatado pelo Ky et al.(2001). Importância de ácido clorogênico no programa de melhoramento de café durante seleção para desenvolver cultivares com alta qualidade foi reportado por Guerrero e Suárez (2001). Esse estudo mostrou ampla variabilidade genética entre acessos de café arábicas encontradas no banco germoplasma da EPAMIG em relação de ácido clorogênico.

Na mesma maneira diferencia significativa entre acessos de banco germplasma em relação trigonelina foi observado. Dentro acessos de banco germplasma BE5 Wush-Wush x Híbrido de Timor, Apoatã e K7 x Dilla & Alghe mostraram os maiores teores de trigonelina, enquanto que os menores teores foram encontrados em Caturra Amarelo x H385/5 e Conilon. The variabilidade entre acessos de *C. arabica* e *C. canephora* em relação de trigonelina foi observado pelo Campa et al. (2004) onde alta valor foi observado para *C. arabica* em relação de *C. canephora*.

Genótipos de café arábica, muito utilizados nos programas de melhoramento do Brasil, como Tipica, Bourbon e Sumatra mostraram teores semelhantes de cafeína e trigonelina e foram intermediários em relação aos demais genótipos. Tipica e Bourbon apresentaram baixos teores de ácido clorogênico, enquanto que em Sumatra o teor foi alto. Com este trabalho foi possível demonstrar a importância de se estudar a variabilidade entre acessos do BAG em relação a cafeína, ácido clorogênico e trigonelina. A caracterização de acessos com baixa teor de cafeína pode possibilitar sua futura incorporação em programas de melhoramento do café arábica.

Tabela 1. Descrição dos acessos que se destacaram com maior e menor conteúdo de cafeína e os respectivos conteúdo de ácido clorogênico e trigonelina.

Nome do acesso	Cafeína (mg/L)	Acido clorogênico (mg/L)	Trigonelina (mg/L)
Apoatã	430.96a	579.445g	176.82b
K 7 x Dilla&Alghe UFV 324-49	376.88b	1250.045a	175.19c
Conilon	372.76b	809.175e	41.691r
Sumatra	352.19c	1121.437b	117.601j
Típica UFV 536	350.8c	782.028e	144.286f
Bourbon Vermelho	345.67c	798.401e	111.299l
Maragogipe Vermelho	345.52c	976.991c	147.324e
Glauca	342.33c	1076.808b	142.270h
BE 5 Wush-Wush x Híbrido Timor	288.88d	1015.832c	185.650a
K 7 x Híbrido Timor UFV 452-30	287.32d	1021.445c	142.466g
Caturra Vermelho x S 333	285.13d	758.964e	153.305d
Híbrido de Timor UFV 376-01	284.66d	823.900d	81.678p
Mundo Novo S <sub>H</sub> 2-S <sub>H</sub> 3	283.38d	847.404d	116.064k
Catimor MS	280.47d	720.440f	103.009m
S 4 Agaro x Híbrido Timor	262.98e	873.945d	98.421dn
Laurina R1	260.19e	781.894e	142.092i
Angustifolia	259.51e	735.468f	71.658q
CatiguaMG2	258.03e	770.311e	93.584o
Caturra Amarelo x CIFC H358/5	237.15f	703.238f	27.690s

Médias com letras diferentes diferem significativamente entre si a 5% probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

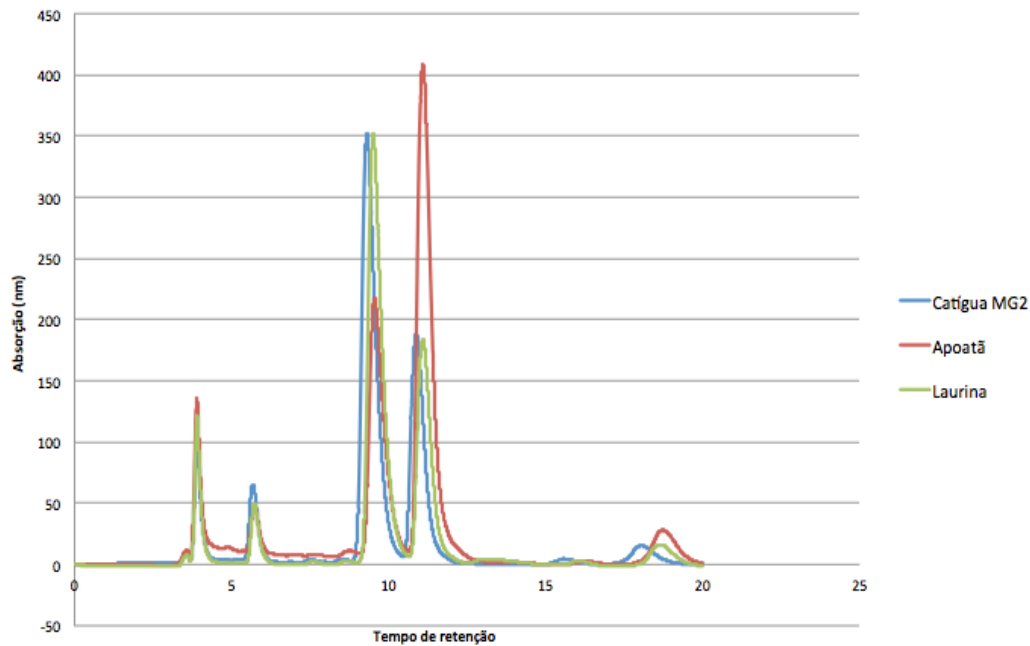


Figura 1. Perfil cromatográfico do ácido clorogênico, trigonine e cafeína dos acessos de Catigua MG2, Apatã e Laurina

## CONCLUSÕES

Esse trabalho mostrou existência de alta variabilidade genética entre acessos de café arábica encontradas no banco germplasma da EPAMIG, Patrocínio –MG e mostra potencial dos esses acessos para futuro programa de melhoramento do café no Brasil. Estudo também mostrou existência de muitos acessos com baixa teor de cafeína igual a cultivar Laurina considerado com variedade de café arábica com baixa teor de cafeína. Dentro cultivares comerciais Catigua MG 2 mostrou baixa teor de cafeína equivalente de Laurina.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

- CAMPA C, BALLESTER JF, DOULBEAU S, DUSSERT S, HAMON S, NOIROT M (2004) Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. *Food Chemistry* 88: 39–43
- GONÇALVES W, PEREIRA AA (1998) Resistencia do cafeeiro a nematóides IV- Reação de cafeeiros derivados do Híbrido de Timor a *Meloidgyne exigua*. *Nematologia Brasileira* 22(1):39-50
- DUARTE GS, PEREIRA AA, FARAH A (2010) Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry* 118(1):851-855.
- FARAH A, MONTEIRO MC, CALADO V, FRANCA AS, TRUGO LC (2006) Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry* 98 (2006) 373–380.
- GUERRERO G; SUÁREZ M; MORENO G (2001) Chlorogenic acids as a potential criterion in coffee genotype selections. *J. Agric. Food Chem.* 49:2454-2458.
- KY CL, LOUARN J, DUSSERT S, GUYOT B, HAMON S, NOIROT M (2001) Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry* 75: 223–230.
- MENDIBURU F (2014). agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.2-1. <http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>
- RODRIGUES CI, MARTA L, MIRANDA M, RIBEIRINHO M, MÁGUAS C (2007). Application of solid-phase extraction to brewed coffee caffeine and organic acid determination by UV/HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:440-448.
- SALGADO SM, REZENDE JC AND NUNES JA (2014) Selection of coffee progenies for resistance to nematode *Meloidogyne paranaensis* in infested area. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 14: 94-101.