

CAFÉS DE DIFERENTES LOCALIDADES NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO: CARACTERIZAÇÃO DE FOLHAS EM EXTRATOS ORGÂNICOS POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

Data de submissão: 07/03/2023

Data de aceite: 03/04/2023

Soraia Cristina Gonzaga Neves Braga

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo
Viana, ES

Filipe Leôncio Braga

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo
Cariacica, ES

RESUMO: O café é, há mais de mil anos, uma das bebidas mais apreciadas e consumidas em todo o mundo, ficando apenas atrás da água e do chá. Embora os grãos sejam bastante estudados, outras partes da planta, como as folhas, são muitas vezes negligenciadas. As folhas de café têm sido usadas em alguns países para tratamento de doenças como anemia, edemas, diarreias, controle de HIV e tratamento de enxaqueca. Neste trabalho o intuito foi verificar a utilização da espectrofotometria na região do UV-VIS juntamente com métodos quimiométricos para analisar a possibilidade de obtermos um perfil químico dos extratos das folhas de café de acordo com a região que esta planta se encontra. Para isso, acetonitrila, etanol e hexano foram utilizados para obter

os extratos de folhas de café de três locais diferentes. Após a extração obteve-se os espectros na região do UV-VIS de cada extrato. Estes espectros foram exportados e analisados através da técnica de PCA (Análise de componentes principais) utilizando o *software* Rstudio munido do pacote *mdatools*. Verificou-se que com o solvente etanol houve uma tendência na separação das amostras de acordo com a região que a planta se encontrava.

PALAVRAS-CHAVE: Folhas de café, espectroscopia UV-VIS, análise de componentes principais.

ABSTRACT: Coffee is, for more than a thousand years, one of the most appreciated and consumed beverages in the world, after water and tea. Although the grains are well studied, other parts of the plant, such as the leaves, are often neglected. Coffee leaves have been used in some countries to treat diseases such as anemia, edema, diarrhea, HIV control and migraine treatment. In this work, the aim was to verify the use of UV-VIS spectrophotometry together with chemometric methods to analyze the obtaining a chemical profile of coffee leaf extracts according to the region where this plant is located. For this, acetonitrile,

ethanol and hexane were used to obtain coffee leaf extracts from three different locations. After extraction, spectra were obtained in the UV-VIS region of each extract. These spectra were exported and analyzed using the PCA technique (Principal Component Analysis) using the Rstudio software with the mdatools package. It was verified that with the ethanol solvent there was a tendency in the separation of the samples according to the region that the plant found.

KEYWORDS: Coffee leaves, spectrometry UV-VIS, Principal component analysis.

1 | INTRODUÇÃO

O café é, há mais de mil anos, uma das bebidas mais apreciadas e consumidas em todo o mundo, ficando apenas atrás da água e do chá (CHEN *et al.*, 2018). A bebida café é um produto de complexa composição química, principalmente após sua torrefação, onde compostos originais do grão são degradados e novos compostos são formados garantindo a presença de substâncias nutritivas, bioativas e suas características de sabor e aroma. Embora os grãos sejam bastante estudados, outras partes da planta, como as folhas, são muitas vezes negligenciadas.

As folhas de café têm sido usadas em alguns países para tratamento de doenças como anemia, edemas, diarréias, controle de HIV e tratamento de enxaqueca (CHEN *et al.*, 2018). Além disso, as folhas de café secas ao sol tem sido consumidas como chá na Indonésia, Jamaica, Índia, Sumatra, Etiópia e África do sul desde os anos 1800 (CHEN *et al.*, 2018). Talamond (TALAMOND *et al.*, 2008) verificou que as folhas de café possuem efeitos anti-inflamatório, antidiabetes, anti-hiperlipidêmico, antioxidante, anti-microbial e atividade neuroprotetora, já que contém a substância mangiferin.

As pesquisas em café são focadas principalmente nos grãos, os responsáveis pelo café bebida tendo um maior número de trabalhos com as espécies Arábica e Robusta (SOUARD *et al.*, 2018).

O café arábica é o que possui maior valor comercial (RENDÓN *et al.*, 2014), e os principais fatores que afetam a qualidade do café na forma de bebida são o sabor e o aroma (RIBEIRO *et al.*, 2011), sendo estes agentes afetados por fatores genéticos, ambientais e tecnológicos (processamento) (RIBEIRO *et al.*, 2011). Sabe-se também que as características sensoriais do café bebida dependem tanto da espécie quanto do processamento que o mesmo foi submetido (COLZI *et al.*, 2017), além de depender da microbiota presente na fermentação (IAMANAKA *et al.*, 2014).

O café, embora muito explorado como bebida (advinda dos grãos) não possui amplos estudos com suas folhas, embora as mesmas sejam usadas como bebida em diversos países na África e Ásia (CHEN *et al.*, 2018; TREVISAN *et al.*, 2017). As folhas de café contém muitos polifenóis com grande capacidade antioxidante, que podem reduzir a incidência de doenças degenerativas (TREVISAN *et al.*, 2017), mas que ainda não são utilizadas com grande frequência.

Diversas aplicações na prevenção e tratamento de doenças tem sido reportadas com a folha de café: sangramento após aborto, tratamento de enxaqueca, dores de estômago (TREVISAN, *et al.* 2017), diarreia e problemas intestinais, edemas e anemias (CHEN *et al.*, 2018).

Neste trabalho, o intuito foi analisar folhas de café de diferentes regiões no estado do Espírito Santo utilizando a espectrofotometria na região do UV-VIS e avaliar os possíveis padrões desses espectros. Para isso, a PCA (análise de componentes principais- *Principal Component Analysis*) foi utilizada.

A PCA é um método de reconhecimento de padrões não supervisionado e se baseia na representação de uma matriz **X** (dados) pelo produto de outras duas matrizes menores **T** e **P**, chamadas de escores e pesos, mais a matriz de erros **E**, como ilustrado pela equação 1 (CORDELLA, 2011). Dessa forma, a PCA reduz a dimensionalidade dos dados, explicados agora pelas componentes principais e o espaço destas componentes explica a maior variância dos dados.

$$\mathbf{X}=\mathbf{TP}^t+\mathbf{E}$$

A matriz de escores (**T**) mostra a relação entre as amostras, enquanto a matriz de pesos (**P**) evidencia a relação entre as variáveis.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo caracterizar extratos orgânicos de folhas de café de diferentes localidades utilizando a espectrofotometria UV-VIS juntamente com a PCA.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de folhas de café foram obtidas de propriedades rurais nas localidades de: Amostra 1: Serra-ES; Amostra 2: Fundão-ES; Amostra 3: Ibraçu-ES. Os solventes utilizados foram Hexano, Acetonitrila e Etanol.

Para obtenção dos extratos, foram utilizadas 0,300±0,001 g de folhas de café picadas e colocadas em um tubo do tipo Falcon, juntamente com 10,00 mL de solvente. Cada tubo foi agitado por 30 segundos no vórtex e as folhas e solvente foram deixados em contato por 24h, à temperatura ambiente. Após esse período, os extratos foram recolhidos em *vials* de vidro com o auxílio de pipetas de Pasteur e a análise por espectrofotometria UV-VIS foi realizada em seguida. Foram realizadas extrações em triplicata para cada amostra em cada um dos tipos de solvente.

Para a análise espectrofotométrica, cada amostra foi colocada uma cubeta de quartzo com espessura de 1,0 cm. Os espectros foram obtidos entre os comprimentos de onda de 200 e 800 nm com uma taxa de varredura igual a 4800 nm/min, no modo duplo feixe, sendo o equipamento utilizado um espectrofotômetro Cary Eclipse (Agilent Technologies).

Os espectros obtidos foram exportados em formato .csv e as análises quimiométricas

foram realizadas no *software* Rstudio, com o pacote *mdatools*.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a obtenção e análise dos extratos, os arquivos em formato *csv* foram introduzidos dentro do *software* Rstudio. Para a análise de dados o pacote *mdatools* foi utilizado para desenvolver a PCA. Para estes extratos quatro análises de PCA foram desenvolvidas: uma contendo todos os extratos de todas as amostras em todos os solventes, a segunda contendo os extratos no solvente acetonitrila para todas as amostras, a terceira contendo os extratos no solvente etanol para todas as amostras e a quarta contendo os extratos no solvente hexano para todas as amostras. Em todas as PCAs realizadas utilizou-se os espectros completos.

Na primeira PCA, os espectros foram pré-processados utilizando o método autoescalar. Para esta análise, duas componentes principais foram selecionadas explicando 99,70% da variância dos dados, na qual a PC1 explicou 98,80% e a PC2 explicou 0,90% da variância dos dados. Na figura 1 é mostrado o gráfico de *scores* para as componentes 1 e 2. Pode-se observar a formação de 3 grupos, destacados na figura. Cada um desses grupos contém 9 amostras e representam, cada um, um dos solventes utilizados. Com isso, podemos inferir que os compostos químicos extraídos por cada um dos solventes devem possuir características químicas diferentes, assim como diferenças quantitativas destes compostos.

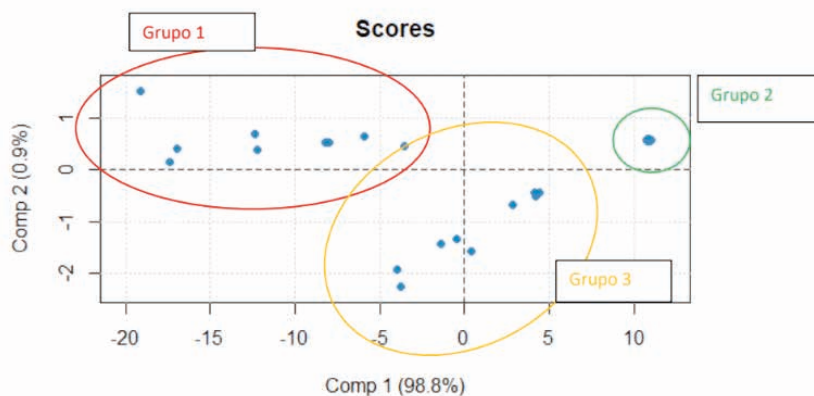


Figura 1: *Scores* da PCA realizada com todas as amostras e com os extratos dos 3 solventes: Grupo 1- acetonitrila, Grupo 2 - etanol e Grupo 3- hexano.

Além disso, podemos observar que a componente principal 1 foi a mais importante na separação dos grupos. Por isso, os *loadings* de PC1 são mostrados na figura 2.

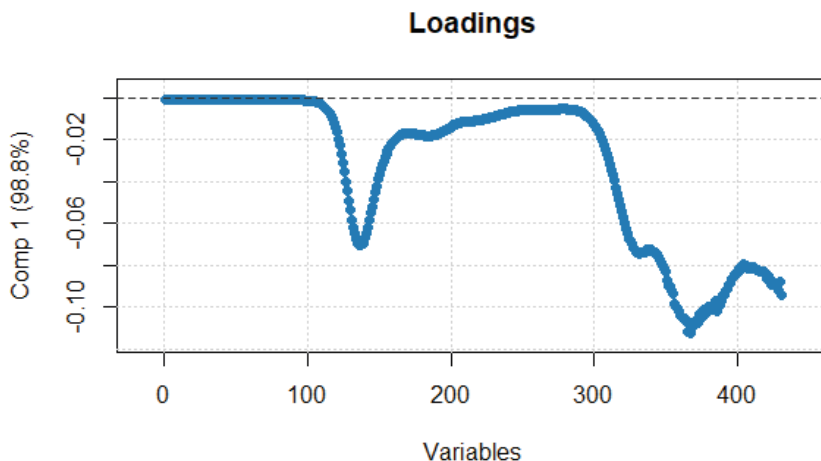


Figura 2: *Loadings* PC1 da PCA desenvolvida com todas as amostras e com os extratos dos 3 solventes: acetonitrila, etanol e hexano.

A segunda PCA, realizada com os extratos obtidos em acetonitrila, a forma de pré-processamento utilizada foi autoescalar. Duas componentes principais foram selecionadas, sendo que a PC1 explicou 98,63% da variância dos dados e a PC2, 0,75%. Dessa forma, o modelo desenvolvido explicou 99,38% da variância dos dados. Na figura 3 o gráfico de *Scores* da PC1 versus PC2 é mostrado, sendo que a amostra de cada região está em uma cor diferente.

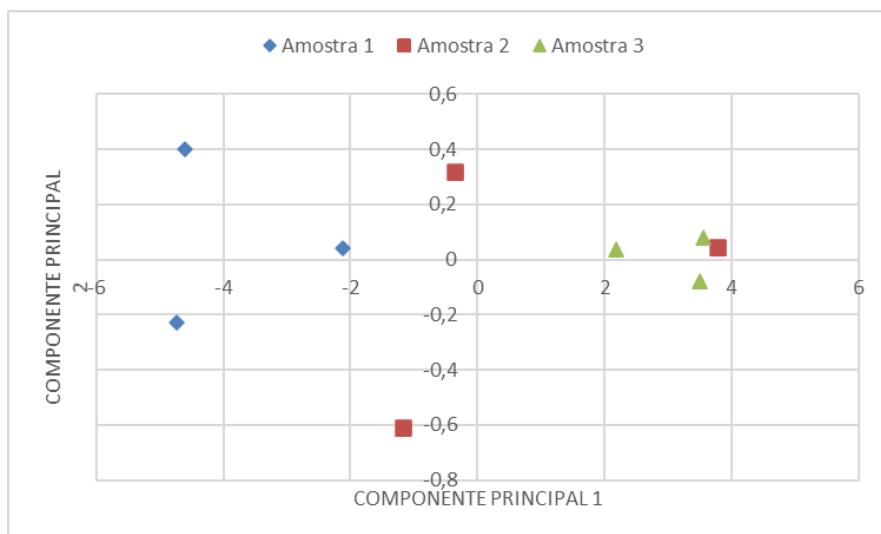


Figura 3: *Scores* da PCA realizada com todas as amostras e com os extratos obtidos com acetonitrila. Em losango azul temos a amostra 1, em quadrados vermelhos temos a amostra 2 e em triângulos verdes temos a amostra 3.

Analisando o gráfico de *Scores* para os extratos obtidos em acetonitrila, pode-se verificar que há uma tendência na separação das amostras por região de coleta e que a PC1 é a responsável por isso. Esse resultado demonstra que há a possibilidade de diferenciação dos extratos das folhas de café de acordo com a região. Mas esse resultado não é conclusivo. Na figura 4 são mostrados os *loadings* obtidos para a PC1 e para a PC2.

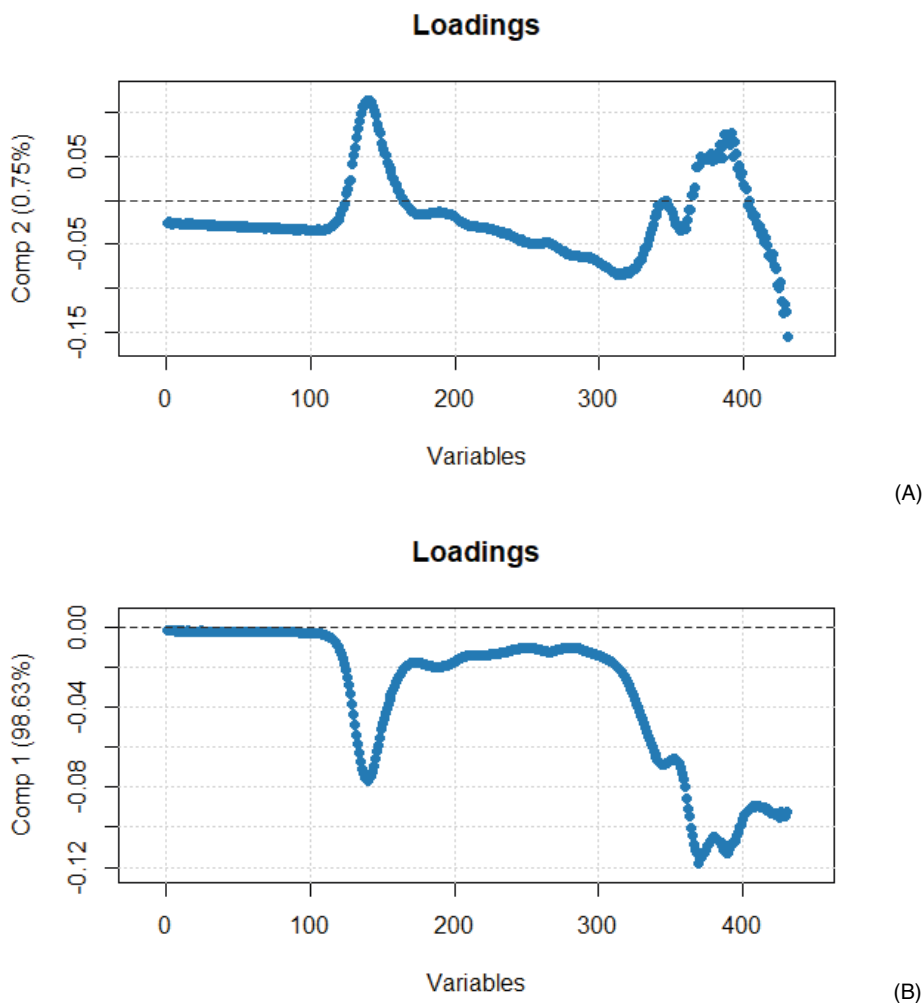


Figura 4: *Loadings* da PC1(A) e da PC2 (B) obtidos para a PCA desenvolvida com todas as amostras do extrato acetonitrila.

A terceira PCA, feita com os extratos em etanol, o pré-processamento dos espectros foi também autoescalar.. Duas componentes principais foram selecionadas, sendo que a PC1 explicou 97,62% da variância dos dados e a PC2, 1,32%. Dessa forma, o modelo desenvolvido explicou 98,94% da variância dos dados. Na figura 5 o gráfico de *Scores*

da PC1 versus PC2 é mostrado, sendo que a amostra de cada região está em uma cor diferente.

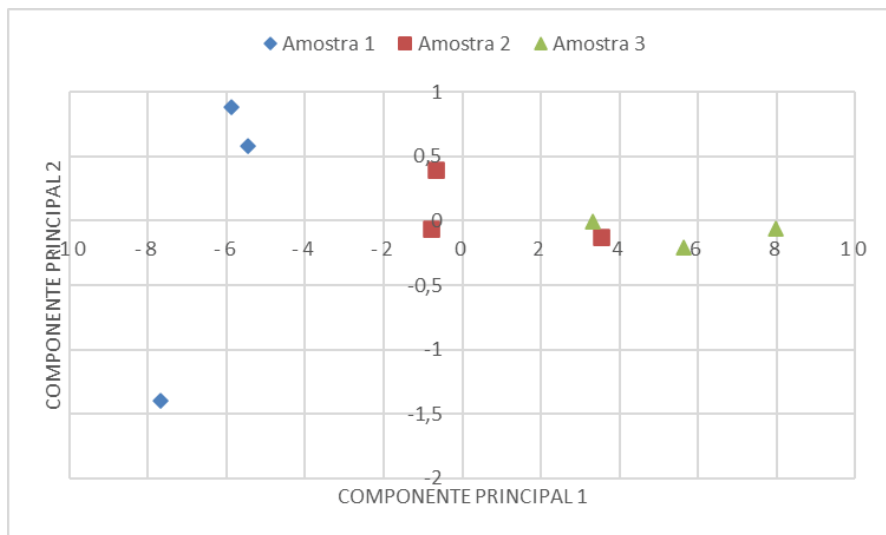


Figura 5: Scores da PCA realizada com todas as amostras e com os extratos obtidos com etanol. Em losango azul temos a amostra 1, em quadrados vermelhos temos a amostra 2 e em triângulos verdes temos a amostra 3.

Analisando o gráfico de *scores* para os extratos obtidos em etanol, observa-se uma separação entre as amostras das 3 regiões, sendo a PC1 a responsável por isto. Embora tenhamos uma amostra da região 2 dentro do grupo da região 3, a utilização de outras formas de pré-processamento dos espectros e também de métodos supervisionados de análise podem levar a um resultado mais satisfatório. Na figura 6 são mostrados os *loadings* obtidos para a componente principal 1.

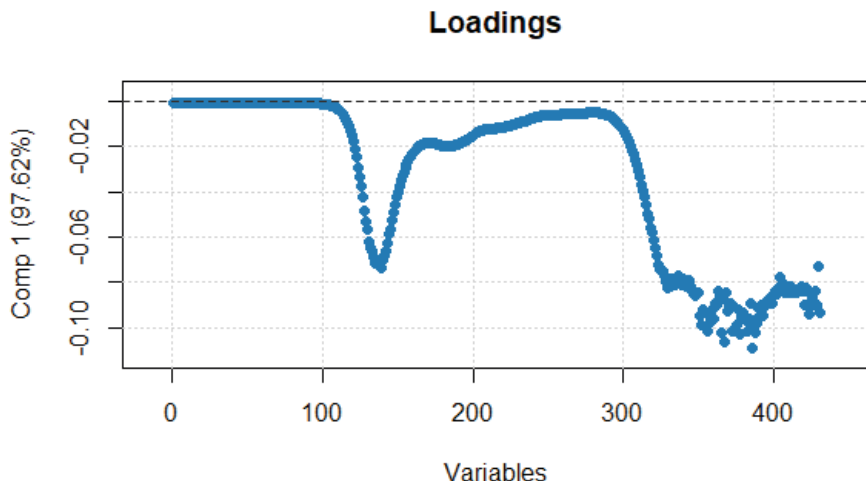


Figura 6: *Loadings* da PC1 obtidos para a PCA desenvolvida com todas as amostras em etanol.

Por último, temos a análise por PCA realizada com os extratos obtidos com o solvente hexano. A forma de pré-processamento utilizada foi autoescalar os espectros. Na PCA desenvolvida, 3 componentes principais foram utilizadas. Essas componentes explicam, respectivamente 92,41%, 3,40% e 2,12 % da variância dos dados, totalizando 97,93% da variância acumulada. Na figura 7 o gráfico de escores da PC2 versus PC3 é mostrado, no qual a amostra de cada região está em uma cor diferente.

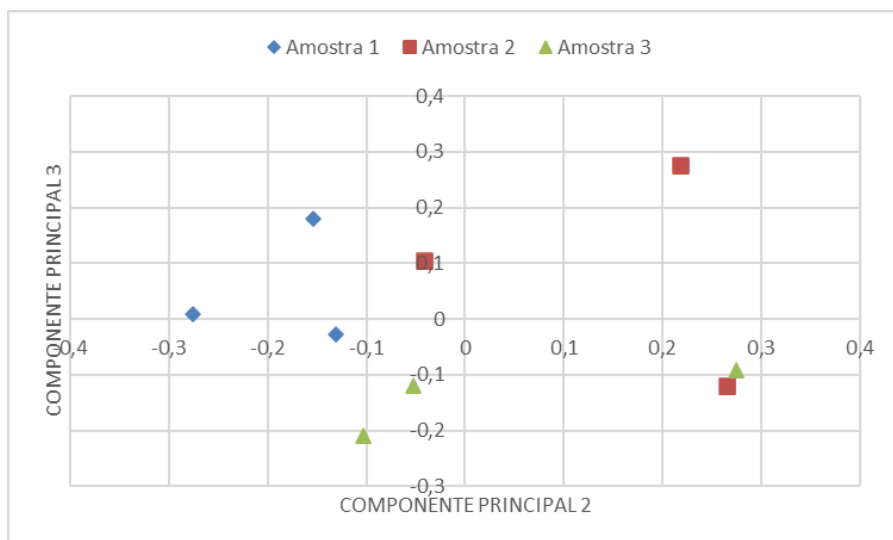
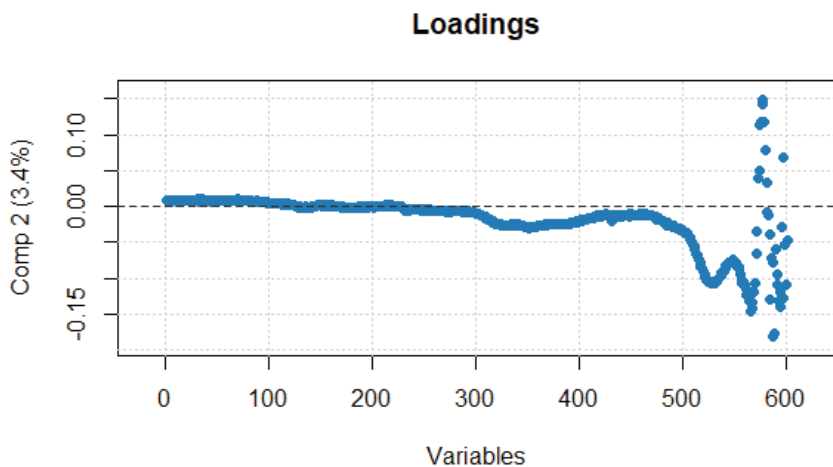
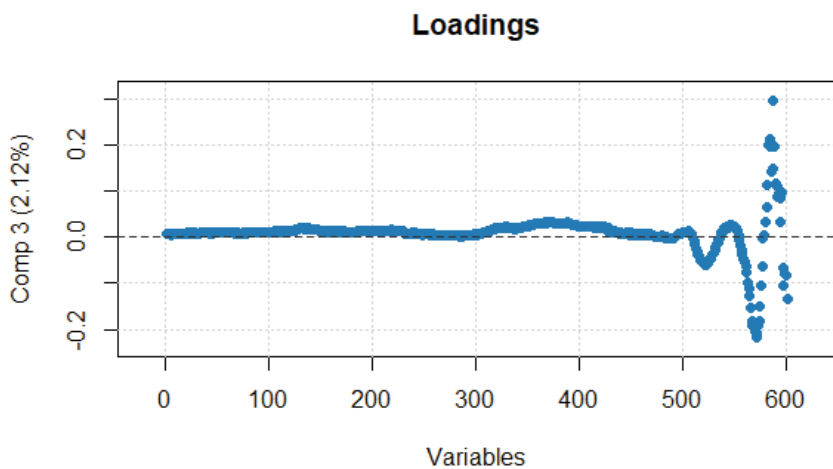


Figura 7: Scores da PCA realizada com todas as amostras e com os extratos obtidos com hexano. Em losango azul temos as amostras da 1ª região, em quadrados vermelhos temos as amostras da 2ª região e em triângulos verdes temos as amostras da 3ª região.

Observa-se no gráfico de scores uma tendência na separação das amostras por região, na qual a combinação das componentes principais 2 e 3 foram responsáveis pela separação entre as amostras das 3 regiões. Na figura 8 são mostrados os *loadings* obtidos para a componente principal 2 e 3.



(A)



(B)

Figura 8: Loadings da PC2(A) e da PC3 (B) obtidos para a PCA desenvolvida com todas as amostras em hexano.

4 | CONCLUSÕES

Os extratos de três solventes foram testados: acetonitrila, etanol e hexano. Pode-se observar que utilizando o etanol como solvente, a separação das amostras por região foi mais assertiva que aquelas feitas com acetonitrila e hexano.

Sendo assim, conclui-se que o acoplamento das análises UV-VIS com métodos quimiométricos foi satisfatória na separação de grupos por região. Esse modelo precisa ser validado com mais amostras. Por conseguinte, pretende-se obter amostras de diferentes localidades e diferentes espécies para validar esta técnica analítica.

AGRADECIMENTOS

À FAPES e CNPq pelo projeto aprovado no EDITAL CNPq/FAPES N° 22/2018 - PROGRAMA PRIMEIROS PROJETOS - PPP e ao Ifes pelo Programa Pesquisador Produtividade 2021/2023.

REFERÊNCIAS

- Chen, X. M. b, Ma, Z., Kitts, D. D., Effects of processing method and age of leaves on phytochemical profiles, and bioactivity of coffee leaves. **Food Chemistry**, v. 249, p 143-153, 2018
- Colzi, I., Taiti, C., Marone, E., Magnelli, S., Gonnelli, C, Mancuso, S., Covering the different steps of the coffee processing: Can headspace VOC emissions be exploited to successfully distinguish between Arabica and Robusta? **Food Chemistry** , v.237, p. 257–263, 2017
- CORDELLA, C. B. Y. (2012). PCA: The Basic Building Block of Chemometrics. Analytical Chemistry, Dr. Ira S. Krull (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/51429. Available from: <http://www.intechopen.com/books/analytical-chemistry/pca-the-basic-building-block-of-chemometrics>
- Iamanaka, B.T, Teixeira, A.A., Teixeira, A.R.R., Copetti, M.V., Bragagnolo, N., Taniwaki, M.H., The mycobiota of coffee beans and its influence on the coffee beverage. **Food Research International**, v. 62, p. 353–358, 2014
- Rendón, M. Y., SALVA, T. J. G., BRAGAGNOLO, N. Impact of chemical changes on the sensory characteristics of coffee beans during storage. **Food Chemistry**, v. 147, p. 279–286, 2014
- RIBEIRO, F. C., BORÉM, F. M., GIOMO, G. S., LIMA, R., R., MALTA, M. R., FIGUEIREDO, L. P., Storage of green coffee in hermetic packaging injected with CO₂. **Journal of Stored Products Research**, v.47, p. 341-348, 2011
- Souarda, F., Delporte, C., Stoffelen, P., Thévenot, E. A., Noret, N., Dauvergne, B., Kauffmann, L. M., Antwerpen, P. V., Stévig, C., Metabolomics fingerprint of coffee species determined by untargeted profiling study using LC-HRMS. **Food Chemistry** , v.245 , p 603-612, 2018
- Talamond, P., Mondolot, L., Gargadennec, A., de Kochko, A., Hamon, S., Fruchier, A., Campa, C.. First report on mangiferin (C-glucosyl-xanthone) isolated from leaves of a wild coffee plant, *Coffea pseudozanguebariae* (Rubiaceae). **Acta Botanica Gallica**, v.155, n 4, p. 513–519, 2008
- Trevisan, M. T. S., Owen, R. W., Vernich, P.C., Breuer, A., Picó, Y. ,Pesticide analysis in coffee leaves using a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe approach and liquid chromatography tandem mass spectrometry: Optimization of the clean-up step, **Journal of Chromatography A**, v.1512 , p. 98–106, 2017