



**JULIANA NEVES BARBOSA**

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA A  
DISCRIMINAÇÃO DA ORIGEM GEOGRÁFICA  
DE CAFÉS ESPECIAIS DA SERRA DA  
MANTIQUEIRA DE MINAS GERAIS**

**Lavras-MG**

**2012**

**JULIANA NEVES BARBOSA**

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA A  
DISCRIMINAÇÃO DA ORIGEM GEOGRÁFICA  
DE CAFÉS ESPECIAIS DA SERRA DA  
MANTIQUEIRA DE MINAS GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
graduação em Agronomia, área de concentração  
Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de  
“Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Flávio Meira Borém

LAVRAS – MG

2012

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Barbosa, Juliana Neves.

Isótopos estáveis para a discriminação da origem geográfica de cafés especiais da Serra da Mantiqueira de Minas Gerais / Juliana Neves Barbosa. – Lavras : UFLA, 2012.

66 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Flávio Meira Borém.

Bibliografia.

1. *Coffea arabica*. 2. Indicação geográfica. 3. Carbono isotópico. 4. Nitrogênio isotópico. 5. Qualidade. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.73

**JULIANA NEVES BARBOSA**

**ISÓTOPOS ESTÁVEIS PARA A  
DISCRIMINAÇÃO DA ORIGEM GEOGRÁFICA  
DE CAFÉS ESPECIAIS DA SERRA DA  
MANTIQUEIRA DE MINAS GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
graduação em Agronomia, área de concentração  
Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de  
“Doutor”.

APROVADA em 05 de novembro de 2012

Pesq<sup>a</sup>. Helena Maria Ramos Alves, PhD.....EMBRAPA CAFÉ  
Pesq<sup>a</sup>. Dra. Margarete Marin Lordelo Volpato.....EPAMIG  
Prof. Antonio Chalfun Júnior, PhD .....UFLA  
Prof. Dr. Marcelo Ângelo Cirillo.....UFLA

Prof.Dr. Flávio Meira Borém  
UFLA  
Orientador

LAVRAS - MG  
2012

*A Deus,*

*por me proporcionar o autoconhecimento e a perceber que a sabedoria  
e o fazer ciência são dons que recebemos Dele.*

**OFEREÇO**

*Aos meus pais Luiz Alves Barbosa e Heloisa Neves Barbosa*

*e às minhas irmãs Letícia e Isabel, esteios de minha vida,*

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar em tantos caminhos distintos, iluminando os meus passos e me presenteando com pessoas especiais nos momentos especiais.

A toda minha família, por ter me dado suporte para vencer as barreiras da distância e por todo amor incondicional.

A Universidade Federal de Lavras e em especial ao Setor de Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos, no Brasil e em Portugal.

A banca pelas preciosas contribuições nas correções e sugestões.

Ao professor Dr. Flávio Borém, verdadeira expressão no meio acadêmico, obrigada por me orientar, pela amizade e por compreender as razões de cada lágrima desprendida. Mostraste-me as razões humanas e a necessidade de exercermos a essencialidade da alma.

À Helena que além de ilustre pesquisadora, possui a alma de uma artista brilhante. Obrigada! Palavras não conseguem expressar o meu imenso agradecimento.

A Margarete, verdadeiro presente de Deus! Além de amiga, conselheira.

A Tatiana que pude conhecer um pouco mais durante o doutorado. Obrigada pela amizade e parceria.

Aos amigos do Laboratório de Geosolos da Epamig pela agradável companhia.

À APROCAM e em especial a Lilia que sempre esteve pronta a ajudar em situações complicadas, o mesmo digo ao Toninho, Hércio e Chico.

Aos produtores de cafés especiais da Mantiqueira de Minas que nunca deixaram de acreditar nesta pesquisa e na realização deste trabalho.

Ao Dr. Marcelo Cirillo, pela valiosa atenção, embora distante, me assegurou e me proporcionou as ferramentas necessárias para validar a essência desse trabalho por meio das “loucuras” estatísticas.

Aos Professores da UNESP-Botucatu um agradecimento particular pela “pré-defesa” em especial ao Prof. Dr. Carlos Ducatti pelo carinho, acolhimento e ajuda na compreensão da metodologia; Ao Prof. Dr. João Domingos (Mingo) pelo imenso carinho, atenção e disponibilidade e a Professora Dra. Márcia Sartori que ajudou a nortear a interpretação dos dados através das análises estatísticas.

À professora Cristina Máguas por ter me aceitado na FCUL em Portugal e ter sido o instrumento que me fez perceber “o fazer ciência em Portugal”.

À Marta amiga e pesquisadora, além de empresária e degustadora de gíngua, amiga leal que me ajudou nas estufas da FCUL e ensinou a conhecer o melhor de Portugal.

Aos amigos brasileiros que moram em Lisboa e que acolheram com muito carinho: Raquen Raíssa (formamos juntas em Belo Horizonte) foi maravilhoso re-encontrá-la em Lisboa; Daniel, Mateus, Fabricio, Ghy, Lívia.

Ao Luis Goulão, amigo e pesquisador que me proporcionou além de uma investigação “a sério”, momentos de investigação ao pôr do sol acompanhado sempre de um bom café. Obrigada pela amizade e por ter me proporcionado a oportunidade de conhecer tantas instituições de pesquisas em Portugal.

Aos colegas e amigos do IICT Oeiras-Portugal, em especial ao Edu que fez das análises de HPLC as mais prazerosas, com anedotas e muitas risadas, Izabel pela infinita ajuda com as análises nos bioclimas e a Vânia sempre com palavras de apoio e carinho.

Aos amigos de FCUL-Portugal, Márcia, Marliane (brasileiras) que em toda a oportunidade nos reuníamos para lembrarmos um cheirinho de comida brasileira.

A Prof. Dra. Cristina Cruz da FCUL-Portugal, pelos convites em assistir e debater os mais variados temas da ecofisiologia.

Aos amigos do Laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas e ao Núcleo PosCafe, obrigada pela companhia agradável durante o cafezinho do intervalo e por tanto ensinamento durante a nossa convivência.

Aos amigos de Lavras pela nobre amizade. Obrigada por tanta ajuda no decorrer do doutorado Pedro, Pam, Elias, Gi.

Aos amigos de Belo Horizonte (Pri, Rodrigo, Re, Socorro) pelo apoio, carinho, “caronas” e amizade no decorrer dessa jornada.

Aos amigos de Milho Verde que sempre torceram e acreditaram (mesmo quando eu não acreditava) nesta grande vitória.

Ao Helbert e a Livinha dois grandes amigos, outro presente de Deus na minha vida!

Aos amigos e colegas da pós-graduação em Fisiologia em especial a Meline (Mel) por ter me ajudado enquanto estava em Portugal e a Solange (Sol), Sara, Tiago, Luciano e Marcelo pelas conversas agradáveis.

Aos professores do Setor de Fisiologia Vegetal que muito contribuíram para minha formação profissional, aos técnicos dos laboratórios: “Tanham” e Tina (agora colega da Pós), aos demais servidores do Setor, em especial a Manu pela ajuda, carinho, disponibilidade e amizade, obrigada!

Um agradecimento especial ao Prof. Renato Paiva por ter me acolhido, acredito que Deus o escolheu como um instrumento, um verdadeiro “agente transformador”.

A todos os outros que, de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada.

## RESUMO GERAL

Dentre várias regiões com aptidão para a produção de cafés especiais no Brasil, o sul de Minas Gerais tem recebido destaque. Esse potencial foi reconhecido pela *Cup of Excellence* (COE) como uma das regiões mais premiadas de todos os tempos. Essa notoriedade fez com que os produtores da região solicitassem junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) o reconhecimento da origem geográfica da região na modalidade Indicação de Procedência. Considerando a evidente relação entre a qualidade do produto e o ambiente, estudos científicos tornam-se necessários para dar embasamento na discriminação da origem do produto, validando novos métodos contra possíveis fraudes. Esse estudo teve como objetivo avaliar o uso dos isótopos estáveis na discriminação de ambientes de produção de cafés especiais da Serra da Mantiqueira de Minas Gerais por meio de técnicas de análise exploratória e discriminante. As amostras de café foram colhidas manualmente, sendo compostas apenas por frutos maduros em altitudes abaixo de 1.000m, de 1.000 a 1.200m e acima de 1.200m, considerando duas faces de exposição sombreada e ensolarada. Os frutos amarelos e vermelhos foram processados por via seca e úmida com cinco repetições. Análise discriminante foi utilizada para realizar uma investigação exploratória na discriminação dos ambientes por meio dos isótopos estáveis de nitrogênio, carbono e suas respectivas porcentagens. Para a discriminação dos ambientes de produção da variedade Bourbon amarelo, isótopos de oxigênio, nitrogênio e carbono e isótopos da água meteórica foram utilizados. Para a discriminação de ambientes de produção de cafés especiais por meio de isótopos estáveis e análise exploratória e discriminante foram utilizadas 119 amostras. O modelo gerado apresentou uma taxa de acerto de 89% na discriminação dos ambientes, sendo composto pelas variáveis isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ , %C, %N,  $\delta\text{D}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  (água meteórica) e as notas da análise sensorial. Além disso, foi demonstrado que a análise da razão isotópica pôde produzir entendimento sobre como as plantas de café respondem aos fatores ambientais que influenciam na assimilação de C, N e o quanto o ambiente influencia na qualidade. Considerando que ao se estudar uma única variedade de elevado potencial sensorial, a relação da expressão da qualidade, ambiente e isótopos possa ser mais evidente, 24 amostras da variedade Bourbon amarelo foram usadas para composição de um novo modelo com uso de isótopos de  $\delta^{18}\text{O}$  (grão cru),  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ , %C, %N,  $\delta\text{D}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  (água meteórica) e as notas da análise sensorial. O modelo discriminante gerado apresentou uma taxa de acerto para a classificação dos ambientes de 91,7%, comprovando a eficácia da metodologia em uma variedade de alto potencial sensorial.

Palavras-chave: Origem geográfica. Cafés especiais. Razão isotópica. Altitude.

## SUMÁRIO

### PARTE 1 (INTRODUÇÃO GERAL)

1 INTRODUÇÃO .....	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	16
2.1 A cafeicultura e o ambiente: impactos na qualidade da bebida .....	16
2.2 Aspectos sensoriais para discriminar os cafés especiais .....	17
2.3 Indicação Geográfica como potencial para agregação de valor ao café brasileiro. ....	19
2.4 Tecnologias para discriminação da origem geográfica.....	21
2.5 O uso dos isótopos estáveis em estudos ecofisiológicos.....	24
2.5.1 Terminologia e algumas considerações.....	24
2.5.2 Fracionamento isotópico.....	26
2.6 A discriminação geográfica por meio do uso de isótopos em produtos de origem vegetal.....	27
2.7 Fundamentos da análise discriminante de Fisher e suas aplicações nos estudos em café .....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	30
3.1 Local do estudo .....	30
3.2 Preparo das amostras .....	30
3.3 Armazenamento e beneficiamento.....	31
3.4 Teor de água.....	31
3.5 Análise sensorial .....	32
3.6 Análise estatística .....	33
4 CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	34
REFERÊNCIAS.....	35

## PARTE 2 (ARTIGOS)

### ARTIGO 1

DISCRIMINAÇÃO DE AMBIENTES DE PRODUÇÃO DE CAFÉS ESPECIAIS POR MEIO DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS E MODELO DISCRIMINANTE.....	41
REFERÊNCIAS.....	59

### ARTIGO 2

ASSINATURA ISOTÓPICA DA RELAÇÃO ENTRE O AMBIENTE E A QUALIDADE DO CAFÉ BOURBON AMARELO .....	62
REFERÊNCIAS.....	79

## 1 INTRODUÇÃO

A cafeicultura é uma das atividades agrícolas mais importantes para o Brasil devido ao seu impacto socioeconômico, traduzido pela capacidade de geração de empregos e fixação de população no meio rural. O Brasil é responsável por 35% da produção mundial, sendo que o estado de Minas Gerais sozinho contribui com 48% da produção do café arábica (ABIC, 2010). Por sua extensão territorial e peculiar variação ambiental a cafeicultura mineira tem sua produção distribuída em quatro ambientes principais, constituídos pelas mesorregiões Sul de Minas (Sul/Sudoeste), Matas de Minas (Zona da Mata/Rio Doce), Cerrados de Minas (Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba) e Chapadas de Minas (Vale do Jequitinhonha/Mucuri). Essas regiões apresentam características distintas tanto em relação ao meio físico quanto às condições climáticas e socioeconômicas.

A região Sul de Minas é a maior produtora de café do estado e do Brasil. Seu parque cafeeiro abrange 37.000 propriedades em uma área cultivada estimada em 629 mil hectares, com uma produção média de 12,7 milhões de sacas de café beneficiado (CONAB, 2008). Essa região também é marcada por grandes variações edafoclimáticas, fazendo com que a qualidade do café se expresse de distintas maneiras. Nessa região, destaca-se, pela elevada qualidade sensorial dos cafés produzidos, a microrregião da Serra da Mantiqueira, considerada uma das mais importantes na produção de cafés especiais do Brasil. As características singulares dos cafés da “Serra da Mantiqueira” e a consistência apresentada nos resultados dos principais concursos de qualidade realizados no Brasil comprovam a vocação dessa região para a produção de cafés especiais. Devido a essas características, os cafés produzidos na “Serra da

Mantiqueira” vêm obtendo crescente reconhecimento pelo mercado internacional, sendo classificados entre os melhores cafés do mundo.

Reforçando a ideia de que o café é uma bebida que pode se expressar diferentemente em função do seu local de plantio, alguns autores relataram sobre a forte influência que o ambiente exerce no café (Decazy *et al.*, 2003; JOËT *et al.*, 2010). Por essa razão, fatores do clima, variedades e método de cultivo criam a identidade da bebida (AVELINO *et al.*, 2005; BARBOSA *et al.*, 2010; BARBOSA *et al.*, 2012). Os aspectos climáticos estão intimamente interligados à qualidade de bebida. Cortez (1997), estudando a aptidão climática das diversas regiões cafeeiras de Minas Gerais, verificou que as características do clima influenciam a qualidade do café, principalmente, em função do desenvolvimento dos frutos.

A atual realidade dos mercados nacional e internacional do produto cafeeiro de café aponta para a crescente demanda por cafés especiais, de sabor e aroma excepcionais e com características marcantes na doçura, acidez e corpo; e por produtos cujas qualidades ou características estejam intimamente relacionadas ao meio geográfico.

Nesse contexto, as Indicações Geográficas (IGs) constituem um instrumento de valorização de bens utilizados em todo mundo. Em oposição ao antigo processo de homogeneidade da produção e do consumo alimentar, as IGs procuram valorizar a diversidade e singularidade de produtos enraizados em territórios específicos, ressaltando o saber-fazer, a tradição, os costumes, as práticas de produção, dentre outros.

O reconhecimento de uma indicação geográfica origina-se do esforço de um grupo de produtores ou de prestadores de serviço que se organizam para defender seus produtos ou serviços, motivados por um lucro coletivo e/ou por garantia de mercado. A maior demanda por tais produtos facilitou o surgimento de falsificações, o que ocasionou, com o tempo, normas específicas para regular

a produção desses produtos e para controlar o movimento de mercadorias, com o objetivo de dar maior garantia à origem dos mesmos.

Diante de todas essas observações, muitos estudos têm sido realizados na tentativa de elucidar a relação entre o ambiente e a origem geográfica. Dentre esses estudos, a técnica dos isótopos estáveis, por meio de compostos extraídos de grãos crus de café, tem mostrado ser o mais promissor (WECKERLE *et al.*, 2002).

Várias áreas do conhecimento como a geologia, a arqueologia, a hidrologia, paleontologia, ciência forense fazem uso da técnica para compreender melhor os processos biológicos, o ambiente e a atmosfera. A técnica baseia-se na medição das razões de isótopos estáveis como  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^2\text{H}/^1\text{H}$  e  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  e podem dar informações acerca da origem geográfica e botânica de muitos gêneros alimentícios, fazendo parte das metodologias analíticas usadas na autenticidade de alimentos, na discriminação geográfica dos produtos e na adulteração de bebidas.

As análises de isótopos estáveis têm sido amplamente difundidas para a autenticação de alimentos no combate à fraude por meio da proteção da origem de produtos vegetais e animais. Como exemplo desse combate à fraude, pesquisadores investigaram a procedência da origem da carne bovina elucidando que a composição isotópica de tecidos animais dependem principalmente da alimentação, da água ingerida e dos gases inalados (DUCATTI *et al.*, 2011).

Em estudos com café, alguns autores têm mostrado que o grão possui uma composição isotópica elementar que varia em função do local de produção, como uma assinatura isotópica ou digital (KRIVAN *et al.*, 1993; SERRA *et al.*, 2005; GONZALVEZ *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2011). Esses trabalhos, contudo, têm sido empregados para a discriminação do local de origem de produção em uma escala mais global. Techer *et al.* (2011) verificaram o uso do isótopo Sr como uma ferramenta de proteção à originalidade geográfica de cafés

Bourbon cultivados em uma ilha francesa localizada no Oceano Índico. Os autores investigaram a razão isotópica das rochas, da água meteórica e das plantas de café e compararam com grãos crus e torrados. O estudo confirmou que a razão isotópica do  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  encontrados nas rochas e na água meteórica são similares às encontradas nos grãos crus e torrados, indicando a potencialidade dessa ferramenta na discriminação geográfica também em escala reduzida, por se tratar de uma ilha.

Diante do exposto espera-se que o uso dos isótopos estáveis possa discriminar os diferentes ambientes de produção de cafés especiais da região de estudo. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a abundância isotópica do carbono, nitrogênio e oxigênio em grãos crus de cafés especiais visando a discriminação dos diferentes ambientes de produção, no município de Carmo de Minas, localizados na Serra da Mantiqueira de Minas Gerais.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A cafeicultura e o ambiente: impactos na qualidade da bebida

A qualidade do café sempre é pauta de inúmeras discussões em encontros internacionais, nacionais envolvendo toda a cadeia produtiva, sempre com o foco no mercado consumidor. Autores, em muitos trabalhos, referenciam o ambiente como principal fator de influência na qualidade, em se tratando do efeito da temperatura, precipitação, a localização geográfica com latitudes altas e altitudes mais elevadas (AVELINO *et al.*, 2002; DECAZY *et al.*, 2003; AVELINO *et al.*, 2005; BERTRAND *et al.*, 2006; OBERTHÜR *et al.*, 2011; BARBOSA *et al.*, 2012). É sabido que o café expressa-se de maneiras distintas em relação ao seu ambiente de produção. Nesse contexto, os fatores que mais influenciam a qualidade do café, tornando-os especiais, são a altitude e a latitude (AVELINO *et al.*, 2005; BERTRAND *et al.*, 2006; BARBOSA *et al.*, 2012), pois esses exercem influência direta sobre a temperatura e o regime de distribuição de chuvas (OBERTHÜR *et al.*, 2011; BARBOSA *et al.*, 2010).

Em regiões mais altas há maior índice de precipitação pluviométrica e a cada 100m de aumento da altitude, a temperatura diminui cerca de 1°C, o que é favorável para a obtenção de uma maturação mais uniforme, em decorrência de vários processos fisiológicos (DECAZY *et al.*, 2003; OBERTHÜR *et al.*, 2011).

Wintgens (2004) relata sobre a importância dos meses secos na indução e fase de crescimento das gemas florais e meses chuvosos na granação dos frutos, favorecendo a formação dos melhores grãos de café. Avelino *et al.* (2005) realizaram estudos com cafés de Honduras e Costa Rica e observaram que os ambientes com maior altitude e com índices de precipitação elevados favoreciam a produção de cafés com qualidade superior.

Barbosa *et al.* (2012) estudaram a distribuição espacial da qualidade dos cafés do estado de Minas Gerais e verificaram que os cafés em destaque, no principal concurso de qualidade do Estado, ficavam restritos à região mais fria com temperaturas mais amenas e índices de precipitação anual em torno de 1.600mm. Os autores relataram também que apesar dos fatores do ambiente colaborarem com a qualidade a falta de tecnologia em determinadas regiões pode também depreciar a qualidade final do café. Alguns autores recomendam que em regiões muito úmidas o processamento seja realizado priorizando cafés descascados e desmucilado, com isso o café expressaria a qualidade que tem sem a interferência de defeitos (BORÉM *et al.*, 2008). Dessa forma, quanto mais atributos qualitativos possuir um determinado café, maior será o seu valor potencial para a comercialização (BORÉM, 2008). Além disso, alguns autores ressaltam que a expressão única do aroma de cafés especiais origina-se de um distinto microclima geográfico aliado à ética das boas práticas agrícolas (SERRA *et al.*, 2005; JOËT *et al.*, 2010).

## **2.2 Aspectos sensoriais para discriminar os cafés especiais**

O conceito de café especial está ligado ao prazer que a bebida pode proporcionar por meio de algum atributo específico, processo de produção ou serviço a ele associado. A qualidade e a complexidade da bebida são os diferenciais que um café especial podem ter, tornando-o mais valorizado a medida que for mais raro e exótico. Segundo a Associação Americana de Cafés Especiais (SCAA, 2008), esses produtos apresentam alto padrão de qualidade e elevado potencial de expressão de aroma e sabor após a torra, não apresentando qualquer tipo de defeito, associados a alguma forma de diferenciação por seu local de origem, forma de cultivo ou cultivares específicas. Considerando que o café especial pode ter um valor de venda de até 50% acima do café *commodity*,

verifica-se a importância dos especiais para a agregação de valor ao café brasileiro.

A avaliação sensorial do café é feita por meio dos órgãos dos sentidos, especialmente gosto, olfato e tato. Segundo Illy (2002), um provador de café usa sua sensibilidade olfativa e gustativa para diferenciar nuances especiais formadas na bebida do café, identificando com precisão a qualidade.

Dentre as metodologias disponíveis para análise sensorial do café, aquela adotada pela Associação Americana de Cafés Especiais (SCAA) considera como especiais os cafés com apresentação de nota final igual ou acima de 80 pontos.

A metodologia da SCAA preconiza a utilização de procedimentos padronizados (protocolos) para a realização da análise sensorial, incluindo avaliações objetivas para a percepção de uniformidade, doçura e defeitos, (ALVES, 2007; LINGLE, 1993), sendo, por isso, aceita e utilizada por muitos países produtores e consumidores de cafés especiais.

Na análise sensorial são avaliados os seguintes atributos: fragrância/aroma, acidez, corpo, sabor, sabor residual (finalização), doçura, uniformidade, xícara limpa (ausência de defeitos), equilíbrio (harmonia) e avaliação global. A avaliação global é baseada na memória sensorial que os degustadores possuem, sempre tomando por referência cafés de mesma origem e natureza. Resultados altamente positivos decorrem da percepção de um equilibrado conjunto formado por todos os atributos avaliados. Por outro lado, os defeitos da bebida implicam em resultados pouco expressivos, decorrentes de interferências desagradáveis no sabor (ILLY, 2002; LINGLE, 2001).

As análises sensoriais são realizadas por um painel de degustadores devidamente treinados e habilitados por associações ou entidades certificadoras de cafés especiais, os quais são submetidos a treinamentos específicos para a comprovação da percepção sensorial.

Para manter a acurácia das suas habilidades sensoriais, os juízes certificados participam periodicamente de calibrações, especialmente as olfativas e gustativas, com cafés das mais diferentes origens do mundo. Isso favorece uma avaliação bem mais detalhada da percepção das características sensoriais que predominam em cada café, constituindo uma excelente oportunidade para a construção de uma memória sensorial mais apurada e possibilitando a identificação de características associadas a diferentes origens, formas de preparo e cultivares.

### **2.3 Indicação Geográfica como potencial para agregação de valor ao café brasileiro.**

Ao escolher produtos de proveniência controlada e garantida, o consumidor se dispõe a pagar um valor superior ao preço médio praticado pelo mercado, tendo em vista a confiança adquirida com a manutenção e controle das características inerentes ao produto e o respeito ao consumidor.

O conceito de indicações geográficas foi desenvolvido naturalmente ao longo da história quando produtores, comerciantes e consumidores comprovaram que alguns produtos de determinados lugares apresentavam qualidades particulares, atribuíveis à sua origem geográfica (TEUBER, 2007). O marco regulador internacional *Trade-Related Aspects of Intellectual Property Rights* (TRIPs) é considerado o primeiro acordo multilateral com o termo explicitando as indicações geográficas (CALBOLI, 2006). O TRIPs define “indicação geográfica” como indicação de uma região ou uma localidade onde se tem qualidade, reputação ou boas características são atributos essenciais para a origem geográfica. O TRIPs define duas classificações a Indicação Geográfica Protegida (PGI – *Protected Geographical Indication*) e a Designação de Origem Protegida (PDO – *Protected Designations of Origin*) (CALBOLI, 2006).

A legislação brasileira (Lei n. 9.279, de 14 de maio de 1996) prevê a possibilidade de utilização de Indicação Geográfica para produtos agropecuários, estabelecendo duas modalidades: a Indicação de Procedência e a Denominação de Origem. Indicação de procedência é o nome geográfico de um país, cidade, região ou uma localidade de seu território, que se tornou conhecida como centro de produção, fabricação ou extração de determinado produto ou prestação de determinado serviço. Já a Denominação de origem é o nome geográfico de país, cidade, região ou localidade de seu território, que designe produto ou serviço cujas qualidades ou características se devam exclusiva ou essencialmente ao meio geográfico, incluídos fatores naturais e humanos (INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial<sup>1</sup>).

Países pertencentes à Comunidade Andina, como, por exemplo, Bolívia e Colômbia, distinguem as indicações de proveniência e denominação de origem como dois conceitos jurídicos, na categoria de indicações geográficas (TEUBER, 2007). Outros países, como, por exemplo, Costa Rica, Guatemala, Honduras e México, utilizam os termos de indicação geográfica ou denominação de origem. Já a Indonésia protege as indicações geográficas sob leis nacionais para marca registrada (TEUBER, 2007) de forma similar aos Estados Unidos, onde as indicações geográficas não são reconhecidas como uma classe separada da propriedade intelectual (JOSLING, 2006).

Os principais benefícios da Indicação Geográfica vislumbrados para agropecuária brasileira baseiam-se na proteção de um patrimônio nacional e econômico: das regiões, do manejo, dos produtos e proteção dos produtores e consumidores; no desenvolvimento rural por meio da manutenção da população nas zonas rurais, geração de empregos e crescimento do turismo; na promoção e facilidades de exportação a partir da garantia de produtos e notoriedade,

---

<sup>1</sup> Disponível em: <<http://www.inpi.gov.br/menu-esquerdo/indicacao/o-que-e-indicacao-geografica>>.

afirmação da imagem e o reconhecimento internacional; no desenvolvimento econômico pelo aumento do valor agregado ao produto, incremento do valor dos imóveis da região atraindo investimento na própria zona de produção despertando o desenvolvimento de outros setores (SEBRAE, 2006).

Borém e Friedlander (2009) relatam a importância da compreensão dessas características únicas dos cafés brasileiros, destacando a pluralidade de sabores e aromas, que refletem toda a diversidade da cultura do país e sua natureza. Nesse contexto, a realidade da cafeicultura brasileira, por estar difundida em todos os biomas no país, uma vez que o café se expressa conforme o ambiente onde está inserido, possui uma vasta potencialidade na criação de IPs e DOs. Entretanto, são necessários maiores estudos que relacionem o ambiente e a expressão da qualidade dessas vastas regiões em potencial, criando um protocolo que identifique as futuras IGs para os cafés do Brasil, perante a realidade dos mercados nacional e internacional.

#### **2.4 Tecnologias para discriminação da origem geográfica**

A determinação da autenticidade é uma importante questão no controle de qualidade e segurança alimentar. Os últimos surtos de doenças provocadas por contaminantes de alimentos, principalmente os de origem animal, têm provocado uma consciência mundial sobre a importância da qualidade e segurança alimentar. Assim, o mercado consumidor torna-se cada vez mais exigente e valoriza os produtos com origem geográfica e informações a respeito das práticas agrícolas. Nesse contexto, o potencial de várias tecnologias para a confirmação da autenticidade e a qualidade dos alimentos têm sido o tema de muitos trabalhos (REID *et al.*, 2006).

Técnicas diversas são testadas na busca pela certificação de produtos, principalmente os de origem vegetal, que avaliam a influência do ambiente na expressão única de produtos como o vinho e mais recentemente o café

(ALMEIDA; VASCONCELOS, 2001; BERTRAND *et al.*, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2009). Os métodos analíticos como análise de espectrofotometria de infravermelho próximo (NIRS), baseia-se nos princípios de absorção e reflexão da luz, por meio da densidade óptica (DO), usando um espectrofotômetro infravermelho. A luz refletida é convertida para valores de DO. Valores menores de DO indicam uma maior absorção da luz infravermelha que, por sua vez, indica a quantidade de compostos no produto a ser avaliado. A análise de uma amostra de alimento utilizando um espectro de 14.000 para 4.000cmK1 revela informações sobre o complexo estrutural que relaciona o comportamento vibratório das combinações de ligações moleculares demonstrando assim detalhes dos tipos de moléculas presentes no alimento. Essa técnica é muito difundida para a investigação da origem geográfica de produtos de origem vegetal (REID *et al.*, 2006; BERTRAND *et al.*, 2005). Outra técnica citada em estudos com certificação de produtos é a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR). O princípio da NMR baseia-se em núcleos com número ímpar de prótons, nêutrons ou ambos que terão um spin nuclear intrínseco. Quando um núcleo com um spin nuclear diferente de zero é colocado no campo magnético, o spin nuclear pode alinhar-se na mesma direção ou em direção oposta ao campo. Um núcleo que possui seu spin alinhado com o campo terá uma energia mais baixa que quando seu spin estiver alinhado em direção oposta ao campo. A energia de uma transição NMR depende da força do campo magnético, um fator de proporcionalidade para cada núcleo chamado relação *magnetogyric*. Essa dependência da energia de transição na posição de um átomo, em particular em uma molécula, faz com que a espectroscopia NMR seja de muita utilidade para determinar a estrutura de moléculas. Os elementos mais usuais em pesquisas sobre a origem geográfica de alimentos são  $^1\text{H}$  e o  $^{13}\text{C}$ , sendo mais usual para a determinação de produtos de origem vegetal como sucos (GONZÁLVEZ *et al.*, 2001; CONSONNI *et al.*, 2012).

A determinação de compostos orgânicos também como uma tentativa de identificar marcadores para discriminar a origem geográfica dos produtos é citada em muitas publicações, destacando-se os ácidos clorogênicos (BICCHI *et al.*, 1997) e o perfil de ácidos graxos (MARTÍN *et al.*, 2001), tocoferóis e triglicérides (GONZÁLEZ *et al.*, 2001).

Outra técnica utilizada para identificar a origem dos alimentos é a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). O principal propósito da PCR é fazer um número imenso de cópias de um determinado fragmento gênico, ao qual o tamanho pode variar de poucos *pb* (pares de bases) até milhares de *pb*. A técnica explora função natural da enzima chamada de *taq* – polimerase, extraída da bactéria *Thermus aquaticus*, essa enzima é semelhante à enzima DNA – polimerase que é capaz de sintetizar DNA a partir de seus precursores no sentido  $5' \Rightarrow 3'$ . Para catalisar essa síntese, os precursores de DNA devem estar presentes sob a forma de desoxirribonucleotídeos trifosfatos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP). O PCR é muito difundido em estudos de produtos de origem animal (BRODMANN *et al.*, 2003; GIL, 2007; LÓPEZ-CALLEJA *et al.*, 2007).

Mais recentemente, a análise de isótopos estáveis pelo espectrômetro de massa de razão isotópica (IRMS), tem sido utilizada na discriminação da origem geográfica de produtos agropecuários, mostrando ser uma metodologia eficaz na detecção de parâmetros ambientais de interesse e auxiliar no combate à fraude de produtos de origem vegetal ou animal. O IRMS determina a razão isotópica das amostras. Essas são submetidas à alta temperatura em tubo de combustão e em presença de oxigênio e de óxido de cobre são transformadas em compostos de carbono e nitrogênio ( $\text{CO}_2$  e  $\text{NO}_x$ ), sendo que o  $\text{NO}_x$  é reduzido a  $\text{N}_2$  na presença de cobre. Os materiais contendo enxofre são convertidos em sulfatos e transformados quantitativamente em  $\text{SO}_2$ . Esses gases puros são separados em uma coluna cromatográfica gasosa e analisados no espectrômetro de massa onde a composição isotópica da amostra é comparada com um padrão conhecido.

Essa metodologia também tem sido utilizada para o café, mostrando resultados promissores por meio da assinatura isotópica dos grãos (WECKERLE *et al.*, 2002; SERRA *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2011). Contudo, no caso do café, a grande maioria dos trabalhos publicados abrange uma escala mundial, não havendo na literatura, trabalhos em escala mais detalhada, que avaliem o efeito do *terroir* no cafeeiro, à semelhança do que já foi estudado para a uva e para o vinho.

## **2.5 O uso dos isótopos estáveis em estudos ecofisiológicos**

### **2.5.1 Terminologia e algumas considerações**

A palavra “isótopo” é derivada do grego “*isos*” que significa “igual” e “*topos*” que significa “lugar”, a qual se refere a um local comum de um elemento específico na tabela periódica. Os isótopos estáveis dos elementos discutidos neste estudo são formados por pelo menos dois tipos de isótopos abundantes e um ou dois isótopos relativamente menos abundantes. Na Tabela 1 estão descritos alguns exemplos para a abundância, razão isotópica e os padrões aceitos internacionalmente.

Tabela 1 – Abundância, razão isotópica e padrão aceito internacionalmente para os principais isótopos usados em estudos ecofisiológicos.

Elemento	Isótopo	Abundância (%)	Razão	Padrão
Hidrogênio	<sup>1</sup> H	99,985	<sup>2</sup> H/ <sup>1</sup> H	SMOW <sup>a</sup>
	<sup>2</sup> H (D)	0,015		
Carbono	<sup>12</sup> C	98,98	<sup>13</sup> C/ <sup>12</sup> C	PDB <sup>b</sup>
	<sup>13</sup> C	1,11		
Nitrogênio	<sup>14</sup> N	99,63	<sup>15</sup> N/ <sup>14</sup> N	N <sub>2</sub> - atm <sup>c</sup>
	<sup>15</sup> N	0,37		
Oxigênio	<sup>16</sup> O	99,759	<sup>18</sup> O/ <sup>16</sup> O	SMOW, PDB
	<sup>18</sup> O	0,204		

<sup>a</sup> O padrão para o hidrogênio com massa dois (<sup>2</sup>H), conhecido como deuterium (D), é a *Standard Mean Ocean Water* (SMOW); <sup>b</sup> para o carbono o padrão é a rocha do fóssil *Belemnitella americana* da formação PeeDee (PDB) da Carolina do Sul, EUA; <sup>c</sup> o nitrogênio tem como padrão gás N<sub>2</sub> atmosférico.

Fonte: Adaptado de DAWSON *et al.*, 2007.

Segundo Dawson e Siegwolf (2007) para a composição isotópica do elemento costuma-se determinar a razão entre as abundâncias do isótopo mais raro e do mais abundante, relativa a um padrão de referência (eq. 1), sendo os resultados apresentados em partes por mil (‰):

Equação 1

$$\delta^X = [(R_A - R_P) / -1] \times 10^3,$$

em que, R<sub>A</sub> e R<sub>P</sub> são as razões do elemento da amostra e do padrão respectivamente. Assim, os valores δ correspondem à razão entre isótopos pesados e leves na amostra, por exemplo, <sup>13</sup>C e <sup>12</sup>C, respectivamente.

Um valor positivo de δ indica que a amostra tem razão isotópica maior que o padrão, por outro lado, valores negativos indicam que amostra tem uma razão isotópica menor que aquela do padrão (PEREIRA; BENEDITO, 2007).

### 2.5.2 Fracionamento isotópico

Como base fundamental para a interpretação de pesquisas que utilizam isótopos estáveis, o fracionamento isotópico ou discriminação isotópica, se referem ao enriquecimento ou empobrecimento de um isótopo em relação a outro. Uma melhor definição é dada onde a variação na proporção entre os isótopos estáveis de um determinado composto ocorre ao passar por um processo físico-químico e biológico. O fracionamento pode estar associado a um efeito termodinâmico ou cinético (MARTINELLI *et al.*, 2009). Esse efeito se refere ao fracionamento que ocorre em situações de equilíbrio químico, como, por exemplo, a troca de CO<sub>2</sub> atmosférico e de HCO<sub>3</sub> na interface ar-água. Esse equilíbrio varia em função da temperatura. Já o efeito cinético geralmente se relaciona às reações biológicas e aos processos físicos como o da difusão de um gás (MARTINELLI *et al.*, 2009).

O fracionamento causado pela fotossíntese se dá em duas etapas principais: na preferencial absorção de <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> e na conversão CO<sub>2</sub> rico em <sup>12</sup>C em ácido fosfoglicerato, sendo o primeiro composto orgânico formado (PARK; EPSTEIN, 1960). O grau de fracionamento dependerá, entre outra coisa, da composição isotópica da fonte de carbono e da sua disponibilidade no ambiente onde o organismo se desenvolve (O'NEIL, 1986).

Outro exemplo de fracionamento é a linha meteórica da água, utilizada para inferir sobre as variações climáticas. A principal causa do fracionamento da água ( $\delta D$  e  $\delta^{18}O$ ) está relacionada com a mudança de seu estado físico por meio da evaporação e condensação (efeito cinético). O isótopo mais pesado é dificilmente extraído da fase líquida à fase gasosa, por outro lado, os equilíbrios das fases são influenciados fortemente pela temperatura (GAT, 1996). O fracionamento do nitrogênio ocorre de forma ascendente conforme a cadeia trófica, por meio dos seres autótrofos fixadores de N<sub>2</sub> aos consumidores. À

medida que sobe o nível trófico maior será o enriquecimento do  $\delta^{15}\text{N}$ . No caso do nitrogênio, há também o fracionamento por meio das práticas agrícolas. Com o uso de fertilizantes artificiais produzidos pelo  $\text{N}_2$  atmosférico (amônio, nitrato de amônio, nitrato de potássio e ureia) ocorre um empobrecimento do  $\delta^{15}\text{N}$  variando de  $-0,2\text{‰}$  a  $+2\text{‰}$ . Entretanto se houver a presença de insumos animais ocorrerá um enriquecimento podendo o  $\delta^{15}\text{N}$  variar de  $+5\text{‰}$  a  $+8\text{‰}$  (DUCATTI *et al.*, 2011; FENILLI *et al.*, 2007).

## **2.6 A discriminação geográfica através do uso de isótopos em produtos de origem vegetal.**

Estudos têm sido desenvolvidos com intuito de preservar e garantir, com uma maior segurança, a autenticidade de produtos de origem vegetal de grande prestígio como vinho e o café. Concentrações de elementos “tracer” em vinhos dependem da origem geográfica. Uma vez que os elementos são captados por plantas com as mesmas proporções de isótopos em que ocorrem nos solos e na precipitação. Portanto, a abundante razão de isótopos são excelentes indicadores de procedência ou de traçadores na biosfera (ALMEIDA; VASCONCELOS, 2001).

A composição isotópica elementar, no caso do café, varia em função de sua origem geográfica (GONZALVEZ *et al.*, 2009). Nesse contexto, SERRA *et al.* (2005) determinaram a composição isotópica de carbono, nitrogênio e boro em cafés de 19 países diferentes, mostrando que a composição isotópica desses três elementos é um bom indicador geográfico e portanto, uma ferramenta útil para inferir a região de produção do café. Rodrigues *et al.* (2011) determinaram as taxas de isótopos de oxigênio e estrôncio de grãos de café de diferentes regiões de países distintos, procurando relacionar a razão isotópica com os fatores ambientais de cada região com o intuito de observar uma assinatura isotópica. Os autores realizaram uma Análise de Componentes Principais (PCA)

e obtiveram uma correlação entre o  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  do solo com o  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  dos grãos de café e a correlação entre o  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  proveniente da água meteórica com os  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  e concluíram que a combinação desses dois isótopos são eficientes na autenticidade da origem de cafés. Weckerle *et al.* (2002) também estudaram a assinatura isotópica numa escala mais global e conseguiram discriminar os diferentes países por meio dos isótopos estáveis da cafeína. Tais estudos são importantes para a compreensão de como o grão se integra no fracionamento de isótopos, que ocorre durante o seu desenvolvimento, associado ao clima local e ao meio físico, e que pode possibilitar a discriminação de cafés produzidos em diferentes regiões.

Não obstante o potencial dessa metodologia para distinguir cafés provenientes de diferentes regiões numa escala global, a sua aplicabilidade em uma região de menor abrangência geográfica ainda não foi testada.

## **2.7 Fundamentos da análise discriminante de Fisher e suas aplicações nos estudos em café**

De acordo com Johnson e Wichern (2007), as técnicas de análise discriminante são utilizadas para classificar indivíduos em um, dois ou mais grupos alternativos (ou populações), como base de um conjunto de variáveis explicativas. Utilizando a previsão e a descrição, as técnicas de análise discriminante identificam quais variáveis contribuem para que se classifiquem esses indivíduos. O desafio dessa técnica é encontrar as variáveis discriminantes que podem ser usadas em uma equação para realizar a melhor classificação possível de indivíduos em um determinado grupo. A análise discriminante permite descobrir as ligações que existem entre um caráter qualitativo a ser explicado e um conjunto de caracteres quantitativos explicativos. Também permite prever, por meio de um modelo, os valores da variável que derivam dos valores tomados pelas variáveis explicativas. Bertrand *et al.* (2008) avaliaram a

origem geográfica de algumas variedades de café por meio de estudos quimiométricos e de análise discriminante. Os autores realizaram a análise discriminante para as localidades baseando-se nos resultados dos compostos químicos e obtiveram uma excelente classificação para as 30 amostras estudadas com 100% de acerto na classificação. Anderson e Smith (2002) realizaram o perfil químico de cafés de oito diferentes origens geográficas por meio do uso de modelos estatísticos mediante análise discriminante e obtiveram um ajuste do modelo de 72% (função linear) e 80% (função quadrática). Segundo os autores esses resultados mostraram-se adequados para discriminar as diferentes origens geográficas. Todos os modelos testados para os diferentes estudos em diferentes regiões geográficas perfazem uma abrangência global, sendo que ainda não foi observada sua aplicabilidade em escala regional ou municipal.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local do estudo**

A área estudada selecionada como representativa da região da Serra da Mantiqueira de Minas Gerais, compreende o município de Carmo de Minas, delimitado pelas coordenadas geográficas 22°07'21" de latitude sul e 45°07'45" de longitude oeste (IBGE, 2009), na Zona Fisiográfica Sul, microrregião 198, conhecida como Planalto Mineiro, pertencente à Bacia do Rio Grande, fazendo limite com os municípios de Olimpio Noronha, Jesuânia, Conceição do Rio Verde, Soledade de Minas, São Lourenço, São Sebastião do Rio Verde, Dom Viçoso e Cristina (IBGE, 2009).

#### **3.2 Preparo das amostras**

A colheita foi realizada manual e seletivamente coletando-se somente os frutos maduros. Em seguida, os frutos foram separados por diferença de densidade, aproveitando-se somente aqueles mais densos. Após a separação hidráulica, nova seleção manual foi realizada para se garantir que as amostras fossem constituídas somente por frutos maduros. Cerca de 14 litros de frutos selecionados foram dispostos em telas para secagem ao sol, obtendo-se assim as amostras de café natural. Para a obtenção do café cereja desmucilado, cerca de 20 litros de frutos maduros, previamente selecionados, foram descascados e desmucilados mecanicamente, representando o processamento via úmida. Em seguida, cerca de 7 litros de café desmucilado foram dispostos em telas para secagem ao sol. A secagem foi iniciada imediatamente após o processamento. As amostras foram secadas em peneiras de 1m<sup>2</sup>, com moldura de madeira e tela com malha de 2,00 x 1,00mm, fabricadas em fios de polietileno, dispostas sobre terreiro suspenso. As amostras de café foram distribuídas uniformemente, respeitando-se os limites de 14 litros m<sup>-2</sup> para o café natural e 7 litros m<sup>-2</sup> para o

café desmucilado. Todas as amostras foram revolvidas 20 vezes por dia. A secagem ocorreu em camadas finas até que o café atingisse a meia-seca. Em seguida, aumentou-se progressivamente a espessura da camada até o café atingir teor de água final de 11% (b.u). Eventualmente, quando as condições climáticas não permitiam a secagem ao sol, as amostras foram transferidas para secadores em camadas fixas, com ar aquecido entre 35 e 40°C, garantindo assim a continuidade segura do processo de secagem. Nesse caso, as amostras foram revolvidas a cada 30 minutos. Todos os procedimentos de colheita e processamento foram realizados segundo Borém (2008).

### **3.3 Armazenamento e beneficiamento**

Após a secagem, as amostras foram embaladas em sacos de papel e revestidas com sacos de plástico, identificadas e armazenadas no Laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas (UFLA), em câmara com temperatura controlada a 10°C e umidade relativa de 60%, por um período de 30 dias. Em seguida, as amostras foram beneficiadas separando-se os grãos quanto à forma e tamanho. Foram utilizados somente os grãos chatos das peneiras 16 a 18/64 avos de polegada, eliminando-se os grãos chatos retidos na peneira 19/64 avos de polegada e os grãos moça retidos na peneira com crivo oblongo de 11 x ¾ de polegada. Todos os defeitos foram retirados, visando à uniformização e, sobretudo, à minimização de interferências que não fossem relacionadas ao material genético ou ao ambiente de cultivo.

### **3.4 Teor de água**

O teor de água dos grãos crus de café foi determinado pelo método de estufa, a 105±1°C, por 16 horas±0,5 h, conforme o padrão internacional da ISSO 6673 (*International Organization for Standardization – ISSO, 1999*). Os resultados foram expressos em porcentagem em base úmida (% b.u).

### 3.5 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada por provadores treinados e qualificados como juízes certificados de cafés especiais, utilizando-se a metodologia proposta pela Associação Americana de Cafés Especiais (SCAA) (LINGLE, 2001). Nessa avaliação foram atribuídas notas, no intervalo de 0 a 10 pontos, para cada um dos seguintes atributos: fragrância/aroma, uniformidade, ausência de defeitos, doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio e impressão global. A torra do café foi leve a moderadamente leve, de acordo com o protocolo de análise sensorial da SCAA, cuja coloração deve corresponder a 58 pontos da escala Agtron, para o grão inteiro, e 63 pontos, para o grão moído, com tolerância de  $\pm 1$  ponto. Foram torrados 100g de grãos de cada amostra, sendo a torração realizada dentro do prazo máximo de 24 horas antes da degustação e o ponto de torra determinado visualmente, utilizando um sistema de classificação de cor por meio de discos padronizados (*SCAA/Agtron Roast Color Classification System*). Durante a torração, fatores que afetam o ponto de torra, como temperatura e tempo, foram monitorados por termômetros e cronômetros, respectivamente, respeitando-se a faixa de tempo entre 8 minutos e 12 minutos. Após a torração, as amostras foram novamente selecionadas, eliminando-se todos os grãos inteiros com coloração amarelada, que destoassem da coloração padrão da amostra.

Em cada avaliação, foram degustadas cinco xícaras de café representativas das interações entre genótipo e ambiente, realizando-se uma sessão de análise sensorial para cada repetição, totalizando cinco repetições. Cada processamento foi avaliado separadamente e os resultados da avaliação sensorial foram estabelecidos a partir de uma escala que representa os níveis de qualidade com intervalos de 0,25 pontos. Para caracterização do perfil sensorial das amostras de café, além da pontuação dos atributos de acordo com o protocolo usado e obtenção da nota final, realizou-se também a descrição

qualitativa da bebida. Foi solicitado aos degustadores a indicação do sabor predominante (cítrico, frutado, floral, baunilha ou chocolate), do tipo de corpo (cremoso ou oleoso) e do tipo de acidez (cítrica ou málica). Também foi solicitada a descrição da intensidade da doçura, da acidez e do corpo em uma das três categorias: baixa, média ou alta. Para esse estudo foi considerada apenas a nota final da análise sensorial.

### **3.6 Análise estatística**

A análise discriminante de Fisher é uma técnica que procura realizar combinações lineares das variáveis observadas que melhor separem os subgrupos de indivíduos indicados. Utilizando a previsão e a descrição, as técnicas de análise discriminante identificam quais variáveis contribuem para que se classifiquem esses indivíduos. O desafio dessa técnica é encontrar as variáveis discriminantes que podem ser usadas em uma equação para realizar a melhor classificação possível de indivíduos de determinado grupo. A análise discriminante permite descobrir as ligações que existem entre um caráter qualitativo a ser explicado e um conjunto de caracteres quantitativos explicativos. Também permite prever, por meio de um modelo, os valores da variável que derivam dos valores tomados pelas variáveis explicativas. O resultado se dá por uma expressão em taxa de acerto das combinações ou classificação perante o modelo classificatório gerado.

#### **4 CONSIDERAÇÕES**

Uma vez que a demanda do mercado internacional exige padrões de excelência de qualidade, valorizando produtos com selos de origem geográfica, vê-se a necessidade da criação e aplicação de metodologias que agregam valor aos produtos finos como os cafés da Mantiqueira de Minas, proporcionando assim uma visibilidade positiva dos cafés produzidos no Brasil.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C. M e M.; VASCONCELOS, T. S. D. ICP-MS determination of strontium isotope ratio in wine in order to be use as a fingerprint of its regional origin. **Journal of analytical atomic spectrometry**, n. 16, p. 607-611, 2001.

ALVES, M. Metodologia tradicional de avaliação de qualidade de café vs. métodos eletrônicos alternativos. *In*: SALVA, T de. J. G.; GUERREIRO FILHO, O.; THOMAZIELLO, R. A.; FAZUOLI, L. C. (Ed.). **Cafés de qualidade: aspectos tecnológicos, científicos e comerciais**. Campinas: Instituto Agrônômico, p.389-410, 2007.

ANDERSON, K. A.; SMITH, B. W. Chemical profiling to differentiate geographic growing origins of coffee. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, p.2068-2075, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE CAFÉ. **O café brasileiro na atualidade**. 2010. Disponível em: <[http://www.abic.com.br/scafe\\_historia.html#topo](http://www.abic.com.br/scafe_historia.html#topo)>. Acesso em: 15 abr. 2011.

AVELINO, J.; BARBOZA, B.; ARAYA, J. C.; FONSECA, C.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; CILAS, C. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.85, p.1869-1876, 2005.

AVELINO, J.; PERRIOT, J. J.; GUYOT, B.; PINEDA, C.; DECAZY, F.; CILAS, C. **Ver une identification de cafés-terroir au Honduras**. Plantations, recherche, developpement, 11p. 2002.

BARBOSA, J. N.; BORÉM, F. M.; ALVES, H. M. R.; VOLPATO, M. L. M.; VIEIRA, T. G. C.; SOUZA, V. C. O. de. Spatial distribution of coffees from Minas Gerais state and their relation with quality. **Coffee Science**, v. 5, n. 3, p.237-250, 2010.

BARBOSA, J. N.; BORÉM, F. M.; CIRILLO, M. A.; MALTA, M. R.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, H. M. R. Coffee quality and its interactions with environment factors in Minas Gerais, Brazil. **Journal of agricultural science**, v. 4, n. 5, p. 181-190, 2012.

BERTRAND, B., VILLARREAL, D., LAFFARGUE, A., POSADA, H., LASHERMES, P., DUSSERT, S. Comparison of the effectiveness of fatty acids,

chlorogenic acids, and elements for the chemometric discrimination of coffee (*Coffea arabica* L.) varieties and growing origins. **Journal Agricultural and food chemistry**, v. 56, p. 2273-2280, 2008.

BERTRAND, B.; VAAST, P.; ALPIZAR, E.; ETIENNE, H.; DAVRIEUX, F.;CHARMENTANT, P. Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of Arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. **Tree Physiology**, 26, 1239-1248. 2006.

BICCHI, C. P.; PANERO, O. M.; PELLEGRINO, G. M.; VANNI, A. C. Characterization of roasted coffee and coffee beverages by solid phase microextraction-gas chromatography and principal component analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 4680-4686, 1997.

BORÉM, F. M.; FRIEDLANDER, D. **Navigating origins**. Roast, set./out. 2009.

BORÉM, F.M. Processamento do café. *In*: BORÉM, F.M. (Ed.). **Pós-Colheita do Café**. Lavras: Editora UFLA, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 8, de 11 de junho de 2003**. Disponível em: <[http://www.pr.gov.br/claspar/pdf/cafebenef008\\_03.pdf](http://www.pr.gov.br/claspar/pdf/cafebenef008_03.pdf)>. Acesso em: 14 fev. 2009.

BRODMANN, P. D.; MOOR, D. Sensitive and semi-quantitative TaqMan™ real-time polymerase chain reaction systems for the detection of beef (*Bos taurus*) and the detection of the family Mammalia in food and feed. **Meat Science**, v. 65, p. 599-607, 2003. CALBOLI, I. **Expanding the Protection of Geographical Indications of Origin under TRIPS: Old Debate or New Opportunity?** Marquette University Law School Legal Studies Research Paper Series. Wisconsin: Marquette University Law School, v. 65, p. 599-607, 2003.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Central de informações agropecuárias**. Disponível em:<<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 12 out. 2008.

CONSONNI, R.; CAGLIANI, L. R.; COGLIATI, C. NMR based geographical characterization of roasted coffee. **Talanta**, v. 88, p. 420-426, 2012.

CORTEZ, J.G. Aptidão climática para qualidade da bebida nas principais regiões cafeeiras de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 18, p. 27-31, 1997.

DAVIRON, B.; PONTE, S. The Coffee Paradox – Global Markets, Commodity Trade and the Elusive Promise of Development. **Zed Books**, London and New York; 2005.

DAWSON, T. E.; SIEGWOLF, R. T. W. **Stable isotopes as indicators of ecological change**, v. 1, Elsevier, p. 436, 2007.

DECAZY, F.; AVELINO, B.; GUYOT, J. J.; PERRIOT, C.; PINEDA AND C. CILAS. Quality of different Honduran coffees in relation to several environments. **Journal Food Sciences**, n. 68, p. 2356-2361, 2003.

DUCATTI, C.; MARTINS, L. C.; ARRIGONI, M. de B.; MARTINS, M. B.; VIERA-JUNIOR, L. C.; DENADAI, J. C. Utilização de isótopos estáveis em ruminantes. **Revista brasileira de zootecnia**, v. 40, p. 68-75, 2011.

FENILLI, T. A. B.; REICHARDT, K.; BACCHI, O. O. S.; TRIVELIN, P. C. O.; DOURADO-NETO, D. The <sup>15</sup>N isotope to evaluate fertilizer nitrogen absorption efficiency by the coffee plant. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 79, p. 767-776, 2007.

GAT, J. R. Oxygen and Hydrogen isotopes in the hydrologic cycle. **Annual review earth planet science**, v. 24, p. 225-262, 1996.

GIL, L. A. PCR-based methods for fish and fishery products authentication. **Trends in food science and technology**, n. 18, p. 558-566, 2007.

GONZÁLEZ, A. G.; PABLOS, F.; MATÍN, M. J.; LEÓN-CAMACHO, M.; VALDENEBRO, M. S. HPLC analysis of tocopherols and triglycerides in coffee and then use as authentication parameters. **Food Chemistry**, v. 73, p.93-101, 2001.

GONZALVEZ, A.; ARMENTA, S.; GUARDIA, M. de la. Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with protected designation of origin. **Trends in analytical chemistry**, v. 28, n. 11, p. 1295-1311, 2009.

ILLY, E.A. A saborosa complexidade do café. **Scientific American**, New York, v. 286, n. 6, p. 48-53, jun. 2002.

JOËT, T.; LAFFARGUE, A.; DESCROIX, F.; DOULBEAU, S.; BERTRAND, B.; KOCHKO, A. de; DUSSERT, STÉPHANE. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of Green Arabica coffee beans. **Food Chemistry**, v. 118, p. 693-701, 2010.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, W. D. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. 6th Edition, Pearson, p. 800, 2007.

JOSLING, T., The War on Terroir. **Journal of Agricultural Economics**, n. 57, v. 3, p. 337-363, 2006.

KRIVAN, V.; BARTH, P.; MORALES, A. F. Multielement analysis of green coffee and its possible use for the determination of origin. **Mikrochimica acta**, n. 110, p. 217-236, 1993.

LINGLE, T. R. **The basic of cupping coffee**. Long Beach: Specialty Coffee Association of America, 1993. 43p.

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook**: systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor. 3ed. Long Beach: Specialty Coffee Association of America, 2001. 47p.

LÓPEZ-CALLEJA, I.; GONZÁLEZ, I.; FAJARDO, V.; MARTÍN, I.; HERNÁNDEZ, P. E.; GARCÍA, T.; MARTÍN, R. Real-time taqman PCR for quantitative detection of cows' milk in ewes' milk mixtures. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 729-736, 2007.

MARTÍN, M. J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A. G.; VALDENEBRO, M. S.; LEÓN-CAMACHO, M. Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffee varieties differentiation. **Talanta**, v. 54, p. 291-297, 2001.

MARTINELLI, L. A.; OMETTO, J. P. H. B.; FERRAZ, E. S.; VICTORIA, R. L.; CAMARGO, P. B. de.; MOREIRA, M. Z. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. Oficina de Textos. São Paulo, p. 144, 2009.

O'NEILL, J. R. Stable isotopes in high temperature processes. *In*: VALLEY, J.; TAYLOR, H.; O'NEILL JR (Eds.). **Reviews in Mineralogy**. American Mineralogical Society , Chapter 1, p. 189, 1986.

OBERTHÜR, T.; LÄDERACH, P.; POSADA, H.; FISHER, M. J.; SAMPER, L. F.; ILLERA, J.; COLLET, L.; MORENO, E.; ALARCÓN, R.; VILLEGAS, A.; USMA, H.; PEREZ, C.; JARVIS, A. Regional relationships between inherent

coffee quality and growing environment for denomination of origin labels in Nariño and Cauca, Colombia. **Food Policy**, v. 36, p.783-794, 2011.

PARK, R.; EPSTEIN. S. Carbon isotope fractionation during photosynthesis. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Oxon, v. 21, p. 110-126, 1960.

PEREIRA, A. L.; BENEDITO, E. Isótopos estáveis em estudos ecológicos: métodos, aplicações e perspectivas. **Revista biociência**, v. 13, n. 12, p.16-27, 2007.

REID, L. M.; O'DONNELL, C. P.; DOWNEY, G. Recent technological advances for the determination of food authenticity. **Trends Food Science Technology**, v. 17, p. 344-353, 2006.

RODRIGUES, C. I.; MAIA R.; MIRANDA M.; RIBEIRINHO M.; NOGUEIRA, J. M. F.; MAGUAS, C. Stable isotope analysis for green coffee bean: A possible method for geographic origin discrimination. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 5, p. 463-471, 2009.

RODRIGUES, C.; MÁGUAS, C.; PROHASKA, T. Strontium and oxygen isotope fingerprinting of green coffee beans and its potential to proof authenticity of coffee. **European Food Research and Technology**, v. 232, p. 361-373, 2011.

SERRA, F.; GUILLOU, C. G.; RENIERO, F.; BALLARIN, L.; CANTAGALLO, M. I.; WIESER, M.; IYER, S. S.; HÉBERGER, K.; VANHAECKE, F. Determination of the geographical origin of green coffee by principal component analysis of carbon, nitrogen and boron stable isotope ratios. **Rapid communications in mass spectrometry**, v. 19, p. 2111-2115, 2005.

SERVIÇO DE APOIO A MICRO E PEQUENAS EMPRESAS – SEBRAE. **Valorização de produtos com diferencial de qualidade e identidade: Indicações geográficas e certificações para competitividade nos negócios**. 2. ed. Brasília/DF, p. 271, 2006.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. **Backgrounder: What's Special About Specialty Coffee?** Disponível em: <<http://scaa.org/pdfs/Press-What-is-Specialty-Coffee.pdf>>. Acesso em: 23 jul. 2008.

TECHER, I.; LANCELOT, J.; DESCROIX, F.; GUYOT, B. About Sr isotopes in coffee “Bourbon Pointu” of the Réunion Island. **Food chemistry**, n. 126, p. 718-724, 2011.

TEUBER, R. Geographical indications of origin as a tool of product differentiation: The case of coffee. **Seminar international marketing and international trade of quality food products**, Bologna, Italy, March 8-10, 2007.

WECKERLE, B.; RICHLING, E.; HEIRINCH, S.; SCHREIER, P. Origin assessment of green coffee (*Coffea arabica*) by multi-element stable isotope analysis of caffeine. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, p.886-890, 2002.

WINTGENS, J. N. The Coffee Plant. *In*: WINTGENS, J. N. (Ed.). **Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production**. Wiley-VCH, Weinheim, 2004.

## DISCRIMINAÇÃO DE AMBIENTES DE PRODUÇÃO DE CAFÉS ESPECIAIS POR MEIO DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS E MODELO DISCRIMINANTE

Revista: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (IF: 2,823)

AUTORES

### RESUMO

Dentre várias regiões com aptidão para a produção de cafés especiais, o sul de Minas Gerais tem recebido destaque. Esse potencial foi reconhecido pela *Cup of Excellence* (COE) como uma das regiões brasileiras mais premiadas nos últimos tempos. Tendo em vista a evidente relação entre a qualidade do produto e o ambiente, estudos científicos tornam-se necessários para dar embasamento na discriminação da origem do produto, criando novos métodos contra possíveis fraudes. Este estudo teve como objetivo avaliar o uso dos isótopos de carbono e de nitrogênio na discriminação de ambientes de produção de cafés especiais da Serra da Mantiqueira de Minas Gerais por meio de modelo discriminante. As amostras de café foram compostas de frutos amarelos e vermelhos colhidos manualmente, sendo apenas frutos maduros em altitudes abaixo de 1.000m, de 1.000 a 1.200m e acima de 1.200m. Os frutos amarelos e vermelhos foram processados por via seca e úmida com cinco repetições. Para a discriminação de ambientes de produção de cafés especiais por meio de isótopos estáveis e modelagem estatística foram usadas 119 amostras. O modelo gerado apresentou uma taxa de acerto de 89% na discriminação dos ambientes, sendo composto pelas variáveis isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ , %C, %N,  $\delta\text{D}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  (água meteórica) e as notas da análise sensorial. Além disso, pela primeira vez, a discriminação de ambientes em escala geográfica local, dentro de uma única municipalidade, foi proposta e concluída com sucesso. Isso demonstra que a análise isotópica é um método eficaz na obtenção da origem geográfica para cafés especiais.

Palavras-chave: Originalidade geográfica. Cafés especiais. Altitude. Isótopos.

## INTRODUÇÃO

O café é um produto popular que movimentava a economia mundial. Os mercados nacional e internacional cada vez mais exigentes têm despertado o interesse dos grandes países produtores pelo uso da indicação geográfica para agregação de valor ao produto. As características singulares dos cafés especiais do Brasil vêm obtendo crescente reconhecimento pelo mercado internacional, sendo classificados, na atualidade, entre os melhores cafés do mundo (COE, 2012). Estudos têm sido desenvolvidos com intuito de preservar e garantir maior segurança quanto a autenticidade de produtos de origem vegetal de grande prestígio como, por exemplo, o vinho, o café, entre outros. Concentrações de elementos marcadores “tracers” em café dependem, entre outros fatores, da origem geográfica (RODRIGUES *et al.*, 2009). Elementos são captados por plantas com as mesmas proporções de isótopos em que ocorrem nos solos e na precipitação (RODRIGUES *et al.*, 2011). Portanto, a composição isotópica é um excelente indicador de procedência ou de traçadores na biosfera (ALMEIDA; VASCONCELOS, 2001). A composição isotópica elementar do tecido ou órgão vegetal varia em função de sua origem geográfica (GONZALVEZ *et al.*, 2009). Nesse contexto, muitos autores têm utilizado diferentes isótopos e correlacionando-os com os aspectos do ambiente, na tentativa de obter uma assinatura isotópica para as mais diferentes origens de produção de cafés, em escala geográfica mais global (SERRA *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2011; WECKERLE *et al.*, 2002). Assim sendo, é fundamental que se compreenda os processos que irão influenciar na composição isotópica elementar dos grãos de café. Durante o processo da fotossíntese e também da respiração ocorre o fracionamento do  $\delta^{13}\text{C}$ . Em se tratando do  $\delta\text{D}$  e do  $\delta^{18}\text{O}$  esses são fortemente influenciáveis pelo ciclo da água meteórica. Durante as fases de evaporação e de condensação sofrem a influência

da temperatura e também em relação à latitude que ao se aproximar dos polos tornam-se mais empobrecidos em relação à abundância do  $\delta D$  e do  $\delta^{18}O$  na água meteórica (GAT, 1996). Em relação à composição isotópica do nitrogênio, o fracionamento é resultado, além da interação de plantas fixadoras, das práticas agrícolas desenvolvidas nas regiões produtoras (GONZALVEZ *et al.*, 2009). Poucos estudos tem se referido ao fracionamento de isótopos em sementes. Entretanto, sabe-se que todos os compostos oriundos dos processos metabólicos das plantas são parcionadas e redistribuída para os órgãos em desenvolvimento conhecido como “drenos”. Tais estudos são importantes para uma melhor compreensão de como esse fracionamento isotópico ocorre, alterando ou formando, a composição elementar de isótopos nos grãos de café. Esses estudos estão associados aos fatores do clima e do meio físico, sendo que uma interpretação mais apurada em torno dessa metodologia possibilitará na discriminação de ambientes de produção de cafés especiais.

Não obstante o potencial dessa metodologia para distinguir cafés provenientes de diferentes regiões numa escala continental, a sua aplicabilidade em uma região de menor abrangência geográfica e a sua relação com a qualidade ainda não foram testadas. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar o uso dos isótopos estáveis  $\delta^{15}N$  e  $\delta^{13}C$  e porcentagens de carbono/nitrogênio e notas sensoriais, combinado com modelo discriminação de microambientes de uma região única de produção de cafés do Brasil, possibilitando a identificação de seus *terroirs*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

***Amostras e o clima.*** Os grãos de cafés estudados são oriundos do município de Carmo de Minas que está inserido na região da Serra da Mantiqueira de Minas, sendo a segunda indicação geográfica para o café no Brasil. Essa região de

acordo com o *Cup of Excellence* vem ganhando destaque mundial como produtora de cafés de alta qualidade (OIC, 2009) o que justifica a escolha desta região como local para o desenvolvimento dese trabalho. A área de estudo está delimitada pelas coordenadas geográficas 22°07'21" de latitude sul e 45°07'45" de longitude oeste (IBGE, 2009). A variação da altitude compreende mínimas de 864m com altitudes máximas de 1.634m. A temperatura média anual é de 19,1°C e o índice pluviométrico médio anual é de 1.568mm (IBGE, 2009).

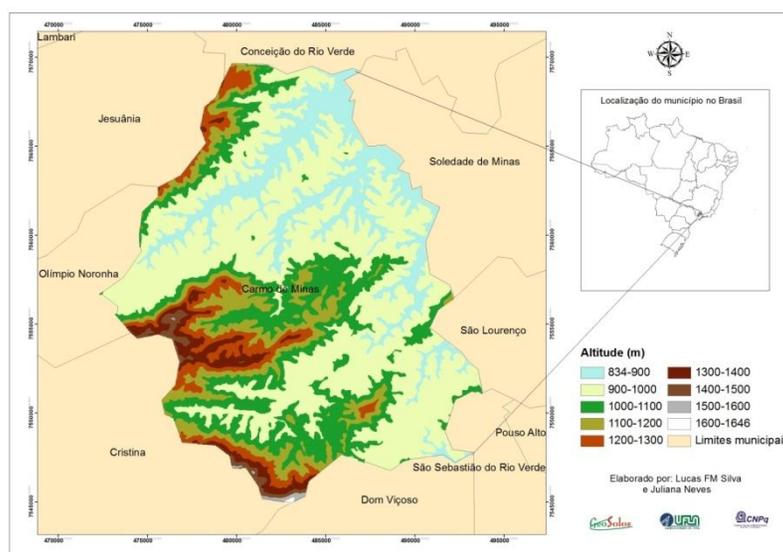


Figura 1 – Mapa da área de amostragem – Região da segunda indicação geográfica de café do Brasil.

***Delineamento experimental e Controle de Qualidade.*** Para o delineamento experimental foi considerado o processamento natural e descascado/desmucilado, as cores vermelho e amarelo dos frutos e as três faixas de altitude variando abaixo de 1.000m, 1.000 a 1.200m e acima de 1.200m. Para a garantia e confiabilidade das amostras cada lote representativo continha 5 repetições biológicas. As amostras eram provenientes da safra 2009/2010. Todas as amostras foram georeferenciadas (latitude, longitude e altitude) e colhidas

manualmente no estadio cereja “maduro”, seguidamente processadas e beneficiadas, mantendo a mais alta qualidade com o intuito de verificar a real influência do ambiente.

***Controle de qualidade das análises.***

***SENSORIAL.*** As análises sensoriais foram realizadas apenas por juízes certificados de cafés especiais, utilizando-se a metodologia proposta pela Associação Americana de Cafés Especiais (SCAA) (LINGLE, 2001). Para a torra do café foi utilizado o protocolo de análise sensorial da SCAA, cuja coloração deve corresponder a 58 pontos da escala Agtron, para o grão inteiro e 63 pontos para o grão moído, com tolerância de  $\pm 1$  ponto. Em cada avaliação, foram degustadas cinco xícaras de café representativas das interações entre genótipo e ambiente, realizando-se uma sessão de análise sensorial para cada repetição, totalizando cinco repetições. Cada processamento foi avaliado separadamente. Para esse estudo foi considerado apenas a nota final dos atributos pontuados.

***IRMS.*** Os grãos de café crus foram moídos num moinho Retsch por 5 min. Esse proceso foi repetido 3 vezes para atingir um tamanho de uma partícula inferior a 1mm. Após a moagem, as amostras foram secas por um período de 12h a 60°C e colocadas em cápsulas estanho, dobrada e novamente pesada O peso da cápsula dobrada foi registrada e utilizada para o cálculo percentual de C e N. A análise elementar foi realizada em triplicatas e a média e o desvio padrão foi calculado. O material de referência certificado (CRM) para a validação do método foi Farinha de Trigo padrão OAS.

***Espectrômetro de massa de razão isotópica – Modo de combustão (EA-C)*** Os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio foram determinados por um Isoprime sendo que o espectrômetro de massa de razão isotópica foi acoplado a um

analisador elementar EuroEA. A proporção de isótopo das amostras foi corrigida de acordo com normas internacionais (IAEA CH6 e IAEA CH7 para a razão isotópica do carbono e a IAEA N1 para a razão isotópica do nitrogênio). A eficiência do método foi verificada por meio da inserção de padrões de laboratório entre as amostras para verificar a estabilidade e para permitir a correção do “drift” (desvio) quando necessário. A precisão foi de 0,06% para a determinação da razão isotópica de carbono e 0,08% para a razão isotópica de nitrogênio.

**Estatística dos dados.** Foram realizados modelos por meio da análise discriminante de Fisher, mencionada por Johnson e Wichern (2007) para a discriminação dos locais geográficos amostrados. A função discriminante é responsável por explicar as diferenças entre as variáveis classificadoras (altitude, processamento e cor). A classificação determina as funções das variáveis observadas que permite classificar novos objetos em uma das “g” populações. Os modelos criados seguem o delineamento amostral proposto. Os fatores preditivos testados em todos os modelos foram: a nota final da análise sensorial das amostras de café, delta de nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ), carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ), oxigênio ( $\delta^{18}\text{O}$ ), deutério ( $\delta\text{D}$ ), percentagens de carbono (%C) e nitrogênio (%N).

**Classificação dos modelos.** Após a obtenção dos modelos discriminantes para validação dos mesmos procedeu-se com obtenção de uma tabela de frequência, conforme descrição da tabela 1 em que cada célula representou o número total de observações classificadas dentro das seguintes situações:  $n_{(1,1)}$  igual ao número de observações pertencentes a  $\pi_1$  que foram classificadas em  $\pi_1$ ;  $n_{(1,2)}$  igual ao número de observações pertencentes a  $\pi_1$  que foram classificadas em  $\pi_2$ ;  $n_{(2,1)}$  igual ao número de observações pertencentes a  $\pi_2$  que foram classificadas

em  $\pi_1$  e, por fim,  $n_{(2,2)}$  representou o número de observações pertencentes a  $\pi_2$  que foram classificadas em  $\pi_2$ .

Tabela 1 – Resumo das observações multivariadas classificadas segundo o modelo linear discriminante.

Classificação Verdadeira	Classificação prevista	
	$\pi_1$	$\pi_2$
$\pi_1$	$n_{(1,1)}$	$n_{(1,2)}$
$\pi_2$	$n_{(2,1)}$	$n_{(2,2)}$
Total	N = número total de observações	

Em função dos resultados obtidos por meio da construção da tabela 1, tornou-se possível computar a taxa de acerto, sendo essa utilizada para avaliar a qualidade de classificação resultante da função linear discriminante de Fisher. Dessa forma, esta taxa foi obtida conforme a equação 1:

$$T = \frac{n_{(1,1)} + n_{(2,2)}}{N} \quad \text{Eq. (1)}$$

Em se tratando das situações que envolviam mais do que duas variáveis classificadoras, sendo o caso da classificação por faixas de altitude procedeu-se de forma similar, fazendo as devidas adaptações na análise discriminante para que a função discriminante de Fisher e a estimativa do ponto de corte estivessem adaptadas para três classificações.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram testados três modelos classificatórios denominados de modelo 1 (para a variável discriminatória processamento), modelo 2 (para a variável discriminatória cor) e modelo 3 (para a variável discriminatória altitude).

**Modelo 1.** O modelo gerado por meio do método linear de resposta conseguiu classificar 72 amostras das 119 estudadas, uma taxa de acerto de 60%. Entretanto, poucos estudos relacionam a forma de processamento do café com a

abundância isotópica dos elementos. As relações entre as variáveis classificatórias e o FITS1 (FITS reclassifica os dados mediante a razão entre a soma dos quadrados dentro e entre os grupos) estão representadas na Figura 2.

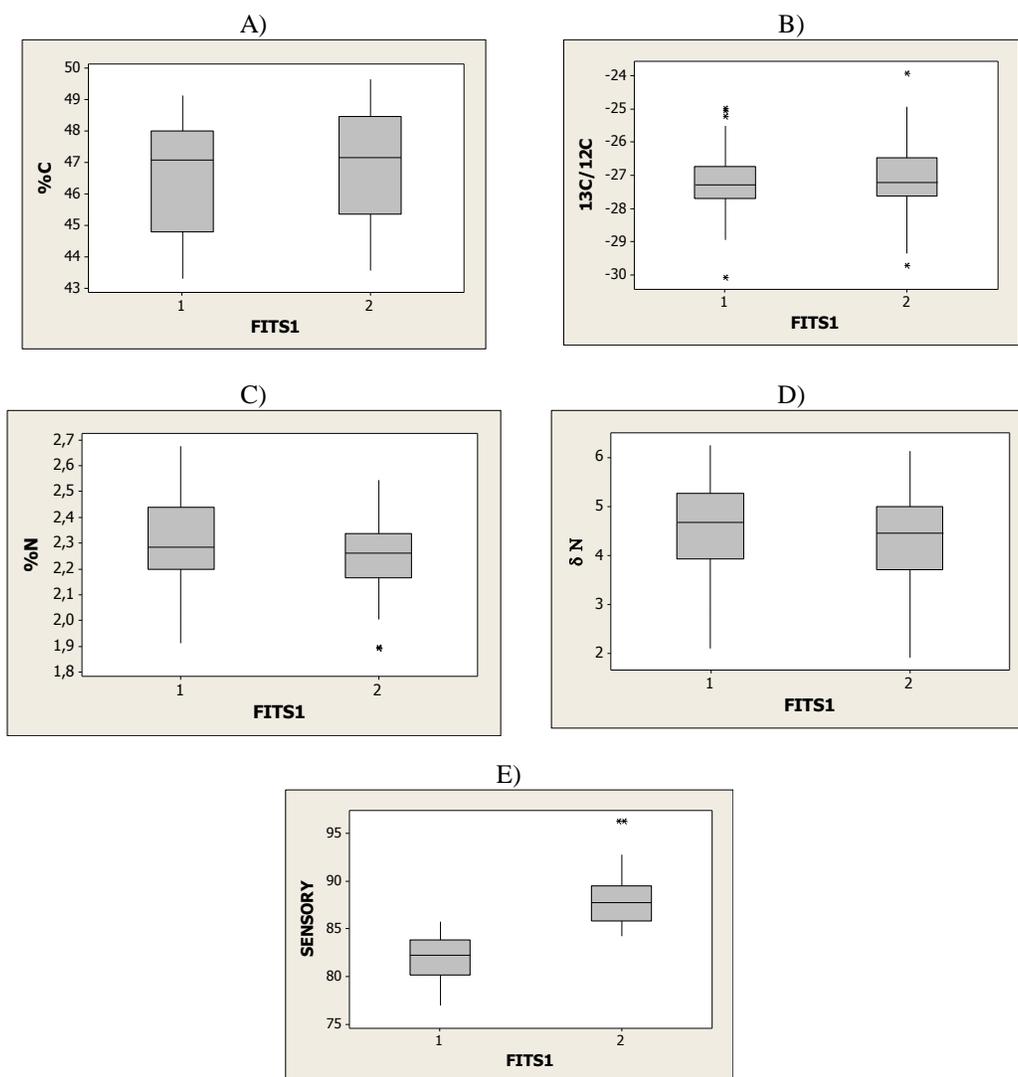


Figura 2 – Boxplot das variáveis classificadoras (A=C%; B= $\delta^{13}\text{C}$ ; C=N%; D=  $\delta \text{N}$  e E= nota final sensorial) do modelo *Processamento* agrupadas pela função FIT. 1. Os números 1 e 2 correspondem aos processamentos via seca (natural) e via úmida (desmucilado) respectivamente.

Na literatura há relatos sobre a influência do processamento em relação à qualidade no café, sendo considerado um dos fatores mais importantes, que contribui fortemente na formação de um café especial (BORÉM *et al.*, 2008; JOËT *et al.*, 2010). Segundo Bytof *et al.* (2005), o processamento por via úmida e via seca influenciam na composição química do grão, principalmente, nos aminoácidos, ácidos orgânicos e carboidratos, sendo essas de fundamental importância para a qualidade final da bebida. Barbosa *et al.* (2010) estudaram a distribuição espacial da qualidade para o Estado de Minas/Brasil e relataram uma diferença considerável entre a forma de processamento, a qualidade e a influência do ambiente. Segundo os autores, a forma de processamento pode aumentar ou prejudicar a qualidade do café em decorrência do ambiente de produção. Selmar *et al.* (2002) relataram que o processamento via seca é geralmente caracterizado por um café mais encorpado, enquanto que para a maioria dos *terroirs*, o processamento via úmida acentua mais o aroma. Na Figura 2-E, observa-se a existência da relação entre a forma de processamento e a qualidade, estando o processamento 1 (via seca ou natural) com notas variando de  $77 \pm 96$  pontos, mas, no entanto, a maioria das amostras com 80 a 85 pontos. Por outro lado, o processamento 2 (via úmida ou desmucilado) apresentou notas com variação de  $79 \pm 92$  e a maioria das amostras com 85 a 90 pontos. Esses dados podem ser visualizados na Tabela 2.

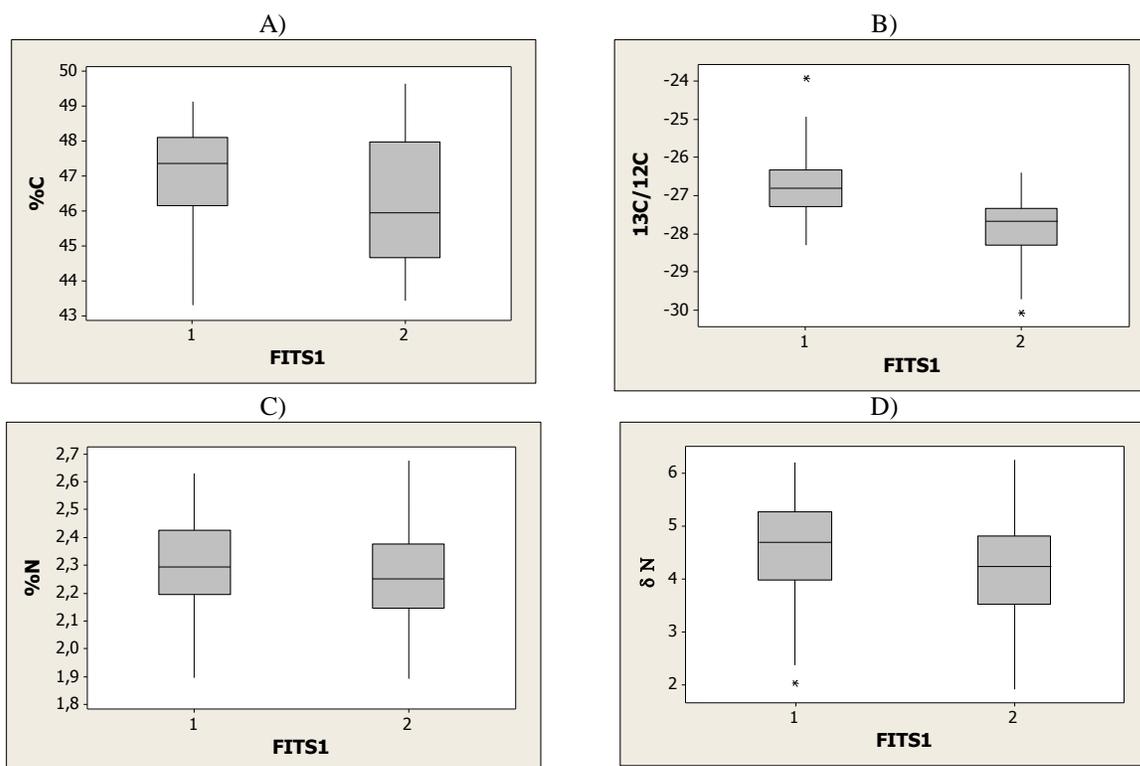
Tabela 2 – Médias, desvio padrão e faixas de valores de C%, N% e  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  e nota final da análise sensorial dos grãos crus para as três classes de altitude (<1000; 1000 a 1200; >1200m).

ALTITUDES	$\delta^{13}\text{C}$ – NATURAL			$\delta^{13}\text{C}$ – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	-27,08	0,67	-25,8 a -28,2	-27,83	1,11	-26,41 a -30,05
1000-1200	-27	1,02	-25 a -28,64	-27	0,48	-26 a -28
1200	-27	0,66	-26 a -28	-27	1,10	-25 a -29
ALTITUDES	%C – NATURAL			%C – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	46,36	1,85	43 a 48	47,31	2,01	43,80 a 49,64
1000-1200	45,7	1,76	43 a 48	45,9	1,98	43 a 48
1200	47	1,45	44 a 48	47,2	1,11	45 a 48
ALTITUDES	$\delta^{15}\text{N}$ – NATURAL			$\delta^{15}\text{N}$ – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	4,8	0,95	4,52 a 6,05	4,86	0,63	3,79 a 5,99
1000-1200	4,05	1,10	2,78 a 5,25	4,49	0,94	3,72 a 5,90
1200	3,96	0,94	2 a 5	3,81	1,14	1,9 a 5
ALTITUDES	%N – NATURAL			%N – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	2,36	0,09	2,2 a 2,5	2,31	0,13	2,18 a 2,52
1000-1200	2,32	0,18	2,12 a 2,63	2,28	0,11	2 a 2,39
1200	2,16	0,16	1,9 a 2,4	2,19	0,15	1,8 a 2,3
ALTITUDES	Sensorial – NATURAL			Sensorial – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	83,57	3,92	77 a 92	82,43	2,70	79 a 86
1000-1200	84,2	2,89	78 a 88	84,5	2,57	80 a 89
1200	90,6	3,4	88 a 96	89,2	2,88	88 a 92

Entretanto, pela primeira vez, foi possível demonstrar a existência da relação entre a forma de processamento, qualidade e razão de isótopos estáveis pelo modelo proposto com índice de acerto de 60%. Ainda que diversos autores tenham relacionado a forma de processamento com a qualidade (BYTOF *et al.*, 2005; BORÉM *et al.*, 2008; JOËT *et al.*, 2010), maiores estudos à luz da fisiologia do cafeeiro são necessários para que se compreenda o processo de distribuição dos isótopos nos grãos de café. Levando em consideração que a composição química elementar é influenciada por diversos fatores, dentre eles, a fotossíntese, e que os compostos gerados são depois relocados para as diferentes

partes da planta, esses eventos metabólicos podem ajudar na interpretação dos resultados obtidos neste estudo.

**Modelo 2.** O modelo gerado por meio do método linear de resposta conseguiu classificar 82 amostras das 119 estudadas com uma taxa de acerto de 68,9. As relações entre as variáveis classificatórias e o FITS1 estão representadas na Figura 3.



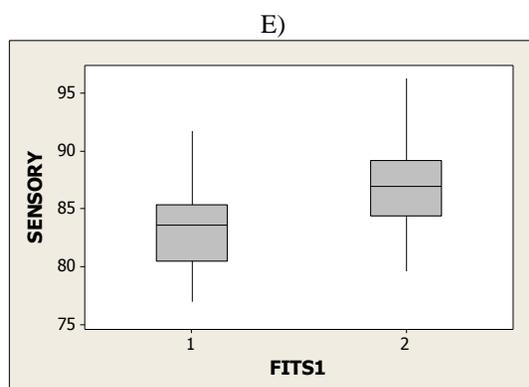


Figura 3 – Boxplot das variáveis classificadoras (A=C%; B= $\delta^{13}\text{C}$ ; C=N%; D=  $\delta^{15}\text{N}$  e E= nota final sensorial) do modelo *Cor* agrupadas pela função FIT1. Os números 1 e 2 correspondem às cores vermelho e amarelo respectivamente. Esse modelo obteve uma taxa de acerto de 68,9% em consonância com a análise discriminante linear.

Foram observadas relações entre os vermelhos e os amarelos tanto para as abundâncias isotópicas e suas respectivas percentagens quanto para a análise sensorial. A cor vermelha apresenta as maiores taxas em relação à cor amarela para as taxas de nitrogênio, carbono, ocorrendo também uma tendência de enriquecimento na razão isotópica do carbono  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  e nitrogênio  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ . Entretanto esses resultados indicam que pode ocorrer uma diferença na forma de fracionar esses dois elementos em decorrência da variedade representada pela cor. Alguns autores relatam que durante o amadurecimento do fruto ocorrem algumas transformações metabólicas em decorrência da síntese de etileno, como: acúmulo de açúcares, antocianinas e carotenóides, estes últimos responsáveis pela pigmentação do fruto (RIBAS *et al.*, 2006). As diferenças encontradas podem estar relacionadas ao desempenho fisiológico e metabólico de cada variedade representada. Taveira *et al.* (2011) realizaram estudos quanto à fisiologia de sementes de café das variedades Acaia vermelho e Bourbon amarelo e observou que o Bourbon amarelo obteve melhor desempenho fisiológico do que o Acaia. Segundo os mesmos autores, os resultados apresentaram a mesma relação quanto à bebida, a variedade Bourbon amarelo

obteve as maiores notas sensoriais quando comparadas ao Acaiá. Assim sendo, pela primeira vez foi possível demonstrar a existência da relação entre a cor, a qualidade e a razão de isótopos estáveis pelo modelo proposto com índice de acerto de 68,9%. No entanto, novos estudos se faz necessário acerca do metabolismo do cafeeiro para esclarecer tais eventos que podem no futuro desmistificar os segredos dos tão apreciados cafés especiais.

**Modelo 3.** O modelo gerado por meio do método linear de resposta conseguiu classificar 106 amostras das 119 estudadas, com uma taxa de acerto de 89%. As relações entre as variáveis classificatórias e o FITS1 estão representadas na Figura 4.

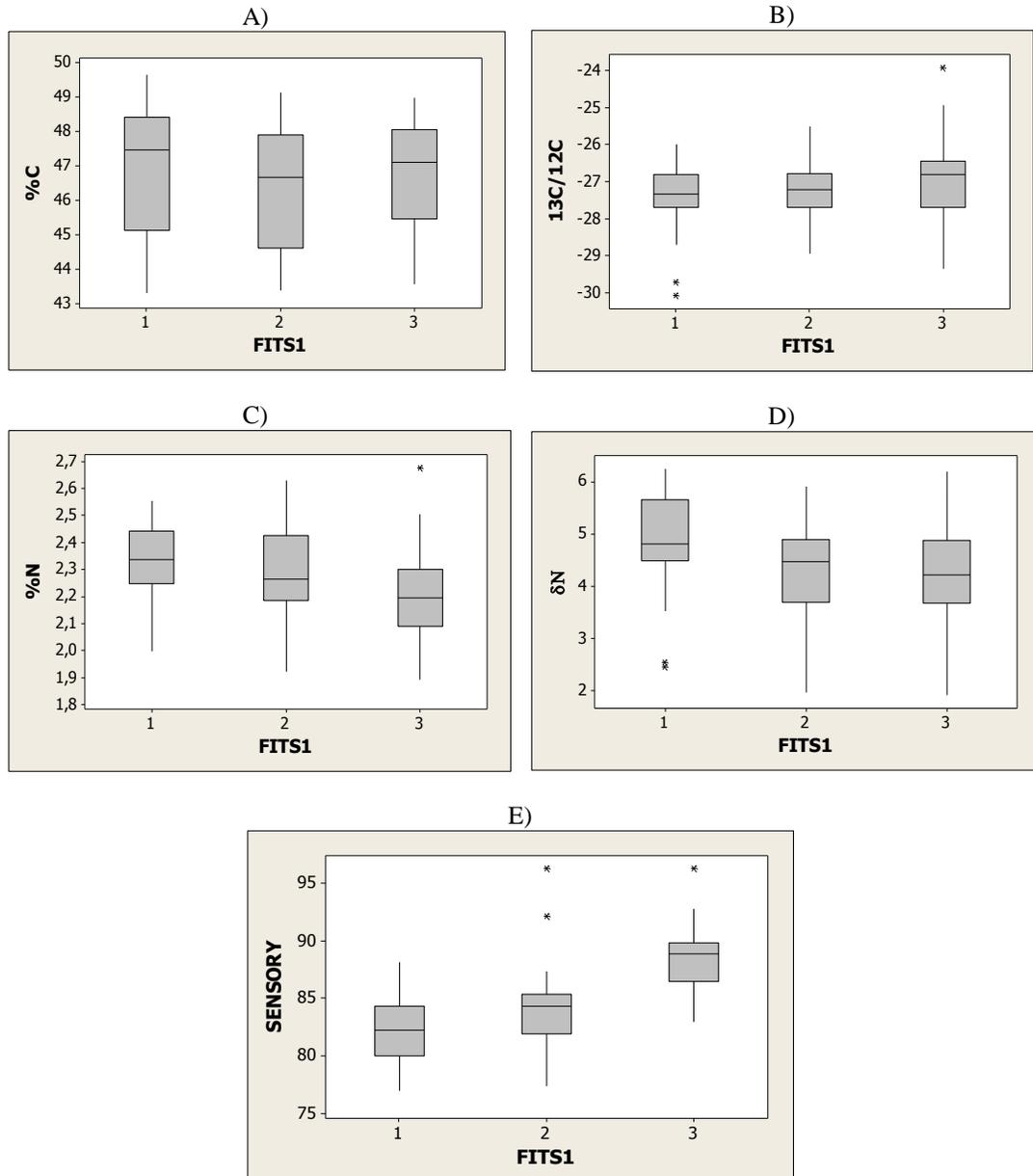


Figura 4 – Boxplot das variáveis classificadoras (A=C%; B= $\delta^{13}\text{C}$ ; C=N%; D=  $\delta^{15}\text{N}$ , E= nota final sensorial) do modelo *Altitude* agrupadas pela função FIT1. Os números 1, 2 e 3 correspondem às faixas de altitude (abaixo de 1000m, 1000-1200 e acima de 1200m) respectivamente.

As altitudes abaixo de 1000m apresentaram valores, conforme apresentados na Tabela 2, superiores aos encontrados nas altitudes mais elevadas ( $\delta^{15}\text{N}$ :  $4,8 \pm 2\%$ ) uma faixa de aproximadamente 2,8‰. Isso indica que em altitudes mais elevadas existe uma tendência a ter uma menor abundância isotópica do  $\delta^{15}\text{N}$  (Figura 4-D), ou seja, o ambiente de produção em elevadas altitudes é mais empobrecido na razão isotópica do  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  ( $3,9 \pm 1,8\%$ ). Serra *et al.* (2005) realizaram estudos da razão isotópica de nitrogênio, carbono e boro pelo método de componentes principais (PCA) para discriminar a origem geográfica de cafés. Os autores obtiveram faixas  $\pm 4,88 \%$  de  $\delta^{15}\text{N}$  (variando de 6,08 a 1,20‰). Eles concluíram que a razão isotópica de carbono, nitrogênio e boro, mostraram ser bons indicadores de parâmetros geográficos, validando essa metodologia para o uso em grãos de café. Gonzalez *et al.* (2009) realizaram estudos sobre a composição de elemento marcado e razão de isótopos estáveis para produtos alimentares com Denominação de Origem Protegida (PDO) e relatou diferenças encontradas em  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  que estão relacionadas às práticas agrícolas. Martinelli *et al.* (1999) verificaram que a precipitação e as diferenças no tipo de solo, entre os tipos florestais, contribuem para variações nos padrões de ciclismo de nitrogênio e, portanto, também na razão isotópica de nitrogênio na planta ( $\delta^{15}\text{N}$ ). Tais estudos são importantes, pois podem sugerir uma melhor interpretação do fracionamento isotópico do  $\delta^{15}\text{N}$  pela influência da altitude. Como apresentado na Figura 4-E pode ser observado um aumento das notas sensoriais com a elevação da altitude. Esse efeito é antagônico à razão de nitrogênio  $^{15}\text{N}/\delta^{14}\text{N}$  que apresenta uma tendência ao empobrecimento da abundância do isótopo  $\delta^{15}\text{N}$  com o aumento da altitude (Figura 4-D). Avelino *et al.* (2005) realizaram estudos sobre a qualidade dos cafés da Costa Rica e observaram uma relação positiva do efeito da altitude com a qualidade. Esse fenômeno, embora não muito compreendido, também foi relatado por Barbosa *et al.* (2012). Segundo os autores que realizaram estudos com os cafés do Brasil;

além da relação qualidade *vs* altitude há também uma relação com a latitude em decorrência da distribuição das chuvas e a temperatura. Rodrigues *et al.* (2009) estudaram a origem geográfica de diferentes cafés do mundo por meio de metodologia dos isótopos estáveis em razão da abundância isotópica do  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ . Dos cafés estudados pelos autores alguns eram brasileiros e as taxas encontradas por eles no que se refere o  $\delta^{15}\text{N}$  foram de  $0,9\text{‰} \pm 2,8\text{‰}$  para diferentes regiões brasileiras. Entretanto Rodrigues *et al.* (2009) ao relatarem valores encontrados para  $\delta^{15}\text{N}$  quando compara as origens dos cafés faz inferência para uma escala global ao comparar diferentes países, sendo, portanto, apresentado valores bem distintos dos amostrados neste estudo. Mais uma vez, os resultados apresentados neste estudo, pela primeira vez, relacionam razões de isótopos com a qualidade e o ambiente em uma escala geográfica de baixa abrangência o que demonstrou a eficácia do modelo proposto. Os valores para os diferentes ambientes em cada classe de altitude de  $2,2\text{‰}$  a  $6,05\text{‰}$ , segundo alguns autores, são considerados representativos para discriminação geográfica (SERRA *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2011). As notas sensoriais apresentadas demonstraram a excelência da qualidade dos cafés estudados, estando em concordância com os últimos resultados apresentados pela *Cup of Excellence* (COE, 2012). Alguns trabalhos relatam que as razões isotópicas do carbono e do nitrogênio estão relacionadas com as condições climáticas de crescimento das plantas e, principalmente, em relação à disponibilidade de água e de nutrientes, além da intensidade de luz e da temperatura, sendo esses indicativos fundamentais para origem geográfica (SHIBUYA *et al.*, 2007). Muitos estudos científicos que abordam questões acerca da origem geográfica de cafés e relatam que todas as técnicas usadas a que mais tem alcançado maior precisão em estudos com produtos de origem vegetal são os isótopos estáveis (WECKERLE, *et al.*, 2002; REID *et al.*, 2006; GONZALVEZ *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*,

2011; TECHER *et al.*, 2011). A eficácia da metodologia empregada para a discriminação da origem geográfica de cafés especiais pôde ser comprovada pelos resultados apresentados, demonstrando, pela primeira vez, a relação da qualidade, do ambiente e da abundância isotópica para uma área geográfica com abrangência pequena quando comparada aos demais estudos citados na literatura.

## **CONCLUSÃO**

Embora o uso desta metodologia geralmente utilizada numa abrangência geográfica continental, este estudo demonstrou de forma inédita sua aplicabilidade em escala de baixa abrangência geográfica.

Uma vez que a demanda do mercado internacional exige padrões de excelência de qualidade, valorizando produtos com selos de origem geográfica, vê-se a necessidade da criação e aplicação de metodologias que agregam valor aos produtos finos como os cafés da Mantiqueira de Minas, proporcionando assim uma visibilidade positiva dos cafés produzidos no Brasil.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a CAPES, FAPEMIG, CNPq, INCT-CAFÉ pelo financiamento desse projeto e a FCUL – Portugal, UNESP-Botucatu, pelo apoio técnico.

**REFERÊNCIAS**

AVELINO, J.; BARBOZA, B.; ARAYA, J. C.; FONSECA, C.; AVRIEUX, F.; GUYOT, B.; CILAS, C. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p. 1869-1876, 2005.

BARBOSA, J. N.; BORÉM, F. M.; ALVES, H. M. R.; VOLPATO, M. L. M.; VIEIRA, T. G. C.; SOUZA, V. C. O. de. Spatial distribution of coffees from Minas Gerais state and their relation with quality. **Coffee Science**, v. 5, n. 3, p. 237-250, 2010.

BARBOSA, J. N.; BORÉM, F. M.; CIRILLO, M. A.; MALTA, M. R.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, H. M. R. Coffee quality and its interactions with environment factors in Minas Gerais, Brazil. **Journal of agricultural science**, v. 4, n.5, p. 181-190, 2012.

BORÉM, F. M. Processamento do café. *In*: BORÉM, F.M. (Ed.). **Pós-Colheita do Café**. Lavras: Editora UFLA, 2008.

BYTOF, G; KNOPP, S. E.; SCHIEBERLE, P.; TEUTSCH, I.; SELMAR D. Influence of processing on the generation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in green coffee beans. **Eur Food Res Technol**, 2005.

CUP OF EXCELLENCE-COE. **Relação dos vencedores do ano de 2012**. 2012. Disponível em: <<http://www.cupofexcellence.org>>. Acesso em: 25 jan. 2012.

GONZALVEZ, A.; ARMENTA, S.; GUARDIA, M. de la. Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with protected designation of origin. **Trends in analytical chemistry**, v. 28, n. 11, p. 1295-1311, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Cidades**. Rio de Janeiro, 2009a. Disponível em: <<ftp://geofp.ibge.gov.br/MME2007/MG/CARMO%20DE%20MINAS.pdf>> Acesso em: 10 jul. 2009.

JOËT, T.; LAFFARGUE, A.; DESCROIX, F.; DOULBEAU, S.; BERTRAND, B.; KOCHKO, A. de; DUSSERT, STÉPHANE. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of Green Arabica coffee beans. **Food Chemistry**. v. 118 p. 693-701, 2010.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, W. D. **Applied Multivariate Statistical Analysis**, 6th Edition, Pearson, p. 800. 2007.

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook**: systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor. 3. ed. Long Beach: Specialty Coffee Association of America, 2001. 47p.

MARTINELLI, L. A.; PICCOLO, M. C.; TOWNSEND, A. R.; VITOUSEK, P. M.; CUEVAS, E.; McDOWELL, W.; ROBERTSON, G. P.; SANTOS, O. C.; TRESEDER, K. Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. **Biogeochemistry**, n. 46, p. 45-65, 1999.

ORGANIZACION INTERNACIONAL DEL CAFÉ. **Participação dos mercados e seus coeficientes de ponderação no cálculo dos preços indicativos dos grupos e composto a partir de 1º de outubro de 2009**. Anexo 1, 2009.

REID, L. M.; O'DONNELL, C. P.; DOWNEY, G. Recent technological advances for the determination of food authenticity. **Trends Food Science Technology**, v. 17, p. 344-353, 2006.

RIBAS, A. F.; PEREIRA, L. F. P.; VIEIRA, L. G. E. Genetic transformation of coffee. **Brazilian journal plant physiology**, v. 18, n. 1, p. 83-94, 2006.

RODRIGUES, C. I.; MAIA, R.; MIRANDA, M.; RIBEIRINHO, M.; NOGUEIRA, J. M. F.; MAGUAS, C. Stable isotope analysis for green coffee bean: A possible method for geographic origin discrimination. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 5, p. 463-471, 2009.

RODRIGUES, C.; MÁGUAS, C.; PROHASKA, T., Strontium and oxygen isotope fingerprinting of green coffee beans and its potential to proof authenticity of coffee. **European Food Research and Technology**, v. 232, p. 361-373, 2011.

SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S. New aspects of coffee processing: The relation between seed germination and coffee quality. *In: Proceedings of the international congress of ASIC*, p. 19, 2002.

SERRA, F.; GUILLOU, C. G.; RENIERO, F.; BALLARIN, L.; CANTAGALLO, M. I.; WIESER, M.; IYER, S. S.; HÉBERGER, K.; VANHAECKE, F. Determination of the geographical origin of green coffee by principal component analysis of carbon, nitrogen and boron stable isotope ratios. **Rapid communications in mass spectrometry**, v. 19, p. 2111-2115, 2005.

SHIBUYA, E. K.; SARKIS, J. E. S.; NEGRINI-NETO, O.; MARTINELLI, L. A. Carbon and nitrogen stable isotopes as indicative of geographical origin of marijuana samples seized in the city of São Paulo (Brazil). **Forensic science international**, n. 167, p. 8-15, 2007.

TAVEIRA, J. H. S da.; BOREM, F. M.; ROSA, S. D. V. F da.; RIBEIRO, D. E.; CHAVES, A. R. C. S. da.; FERREIRA, D. A de.; FERREIRA, I. T.; RIBEIRO, R. C. Aspectos fisiológicos de grãos de café produzidos em ambientes variados da micro região da Serra da Mantiqueira. *Anais...In: VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, Araxá/MG, p. 22, 2011.

TECHER, I.; LANCELOT, J.; DESCROIX, F.; GUYOT, B. About Sr isotopes in coffee “Bourbon Pointu” of the Réunion Island. **Food chemistry**, n. 126, p. 718-724, 2011.

WECKERLE, B.; RICHLING, E.; HEIRINCH, S.; SCHREIER, P. Origin assessment of green coffee (*Coffea arabica*) by multi-element stable isotope analysis of caffeine. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, p.886-890, 2002.

*Versão preliminar de artigo – Sujeito a alterações pelo corpo editorial da revista.*

## ASSINATURA ISOTÓPICA DA RELAÇÃO ENTRE O AMBIENTE E A QUALIDADE DO CAFÉ BOURBON AMARELO

Revista: *Food Chemistry* (IF: 3,658)

AUTORES

### RESUMO

A qualidade intrínseca do bourbon é mundialmente conhecida, apresentando elevada doçura, aroma intenso e agradável acidez, sendo cultivada em diversas regiões do mundo. Dentre essas regiões com aptidão para a produção de cafés especiais, o sul de Minas Gerais/Brasil, tem recebido destaque, sendo reconhecida pela *Cup of Excellence* (COE) como uma das regiões mais premiadas. Tendo em vista a evidente relação entre a qualidade do produto e o ambiente, estudos científicos tornam-se necessários para dar embasamento na discriminação da origem do produto. Nesse contexto, esse estudo teve como objetivo avaliar o uso dos isótopos estáveis na discriminação de ambientes de produção de cafés bourbons amarelos da Serra da Mantiqueira de Minas Gerais por meio de modelagem estatística. No entanto, acredita-se que ao se estudar uma única variedade de elevado potencial sensorial, a relação da expressão da qualidade, ambiente e isótopos possa ser mais evidente. Assim, 24 amostras da variedade bourbon amarelo foram usadas para composição de um modelo pelo uso de isótopos de  $\delta^{18}\text{O}$  (grão cru),  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\%C$ ,  $\%N$ ,  $\delta D$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  (água meteórica) e as notas da análise sensorial. O modelo gerado apresentou taxa de acerto para a classificação dos ambientes de 91,7%, demonstrando de forma inédita que o uso de isótopos pode auxiliar na compreensão de como a variedade bourbon responde aos fatores ambientais que influenciam no fracionamento isotópico de C, N, O e o quanto o ambiente corrobora para a produção desses *terroirs*.

Palavras-chave: Assinatura isotópica. Bourbon. Qualidade. Origem geográfica.

## INTRODUÇÃO

A qualidade intrínseca do bourbon é mundialmente conhecida, apresentando elevada doçura, aroma intenso e agradável acidez, sendo cultivada em diversas regiões do mundo. Dentre essas regiões com aptidão para a produção de cafés especiais, o sul de Minas Gerais/Brasil, tem recebido destaque, sendo reconhecida pela *Cup of Excellence* (COE) como uma das regiões mais premiadas nos últimos anos. Parte desse sucesso se dá pela retomada da inserção da cultivar bourbon amarelo pelos produtores da região. Como um dos propósitos em atender a demanda do mercado, deixando de ser a cultivar de produtividade para ser a variedade representativa da qualidade, pode-se observar o ressurgimento do bourbon amarelo na produção dos cafés especiais brasileiros. A cultivar apresenta uma precocidade de maturação, favorecendo seu cultivo em locais de elevadas altitudes, tendo como consequência a produção de compostos químicos que proporcionam a qualidade sensorial, resultando na produção de uma bebida fina com nuances agradáveis ao paladar. Essa notável qualidade é mundialmente reconhecida, tendo como El Salvador um dos principais países produtores. Esse país é internacionalmente reconhecido como grande produtor de café especial, sendo que a variedade bourbon ocupa cerca de 70% da área cultivada (SALVADORAN COFFEE COUNCIL, 2009). Nesse contexto, a denominação de origem que é considerada uma maneira de proteger o local de produção e os seus produtos, além de agregar valor, tornou-se uma exigência do mercado internacional que consequentemente possibilitou uma maior visibilidade ao produto. Contudo, por meio da medição das razões de isótopos estáveis como  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ , pode-se obter informações acerca da origem geográfica e botânica de muitos gêneros alimentícios, o que faz dessa metodologia uma das mais usadas na autenticidade de alimento e na discriminação da origem geográfica (WECKELER *et al.*, 2002). A composição

isotópica ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) do cafeeiro é fortemente influenciável pelas condições ambientais do local de produção. A precipitação, a temperatura e a umidade relativa são fatores característicos indicativos de uma assinatura isotópica (SHIBUYA *et al.*, 2007). Em estudos com café, alguns autores têm mostrado que o grão possui uma composição isotópica elementar que varia em função do local de produção, como uma assinatura isotópica ou digital (KRIVAN *et al.*, 1993; SERRA *et al.*, 2005; GONZALVEZ *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2011). Isso se explica, em razão do fracionamento isotópico, que é fortemente influenciável pelo clima. Assim, o fracionamento da água meteórica, bem como o fracionamento do carbono e do nitrogênio são fortemente influenciáveis pela temperatura e pela altitude/latitude (BOWEN *et al.*, 2003), por processos fotossintéticos e respiratórios além da forte contribuição das trocas gasosas na variação de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  (EHLERINGER *et al.*, 2002) e pelo uso da terra e práticas agrícolas (DUCATTI *et al.*, 2011) respectivamente. Todos os trabalhos que citam o uso dos isótopos como uma ferramenta para a denominação de origem protegida para cafés referem-se a uma escala geográfica continental. Um recente estudo realizado na Ilha de Reunião da França (TECHER *et al.*, 2011), ainda que trate de uma escala menor, não chega a tratar de uma escala regional como a proposta neste estudo. Os autores fizeram uso do isótopo Sr como uma ferramenta de proteção à origem geográfica de cafés bourbon cultivados na região da Ilha de Reunião, relacionaram com a composição isotópica das rochas, da água meteórica, das plantas de café e compararam com grãos crus e torrados. Techer *et al.* (2011) confirmaram que a razão isotópica do  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  encontrados nas rochas e na água meteórica são similares às encontradas nos grãos crus e torrados, indicando a potencialidade dessa ferramenta na discriminação geográfica.

Entretanto, diante do exposto, acredita-se que ao se estudar uma única variedade de elevado potencial para a qualidade, a relação da expressão da qualidade,

ambiente e isótopos possa ser mais evidente. Assim sendo, este estudo teve como objetivo a criação de uma metodologia para identificar diferentes ambientes de produção de bourbons amarelos oriundos do município de Carmo de Minas, região situada no sudeste brasileiro.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

*Amostras e o clima.* Os grãos de cafés estudados são oriundos do município de Carmo de Minas que está inserido na região da Serra da Mantiqueira de Minas, sendo a segunda indicação geográfica para o café no Brasil. Essa região de acordo com o *Cup of Excellence* vem ganhando destaque mundial como produtora de cafés de alta qualidade (OIC, 2009) o que justifica a escolha desse o local para o desenvolvimento do trabalho. A área de estudo está delimitada pelas coordenadas geográficas 22°07'21" de latitude sul e 45°07'45" de longitude oeste (IBGE, 2009). A variação da altitude compreende mínimas de 864m com altitudes máximas de 1.634m. A temperatura média anual é de 19,1°C e o índice pluviométrico médio anual é de 1.568mm (IBGE, 2009).

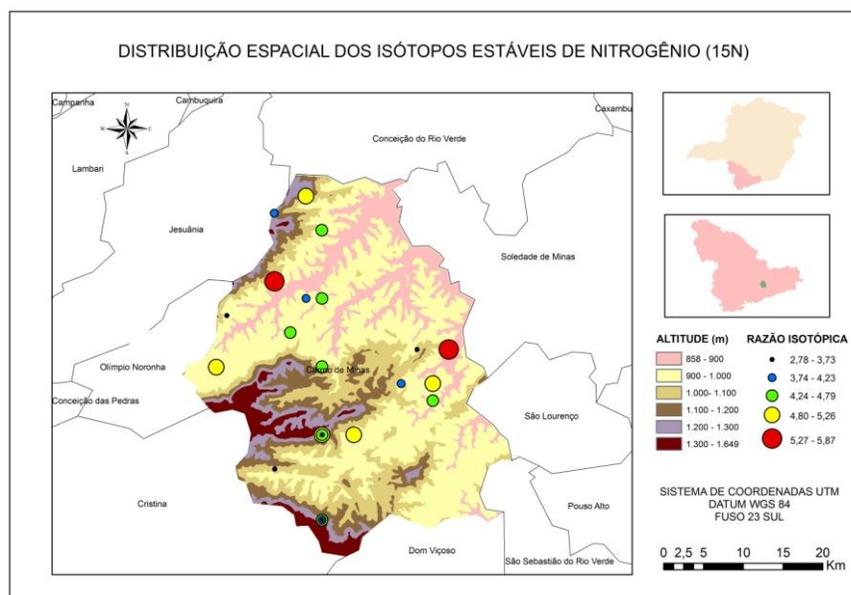


Figura 1 – Mapa da área de amostragem – Região da segunda indicação geográfica de café do Brasil. Representação da distribuição espacial da abundância isotópica do nitrogênio em grãos coletados nas fazendas.

***Delinemaneto e Controle de Qualidade.*** Para o delineamento experimental foi considerado o processamento natural e descascado/desmucilado, apenas frutos da variedade Bourbon amarelo, as três faixas de altitude variando abaixo de 1.000m, 1.000 a 1.200m e acima de 1.200m. Para a garantia e confiabilidade das amostras cada lote representativo continha 3 repetições biológicas. Todas as amostras foram georeferenciadas (latitude, longitude e altitude) e colhidas manualmente no estadio cereja “maduro”. Foram processadas e beneficiadas mantendo a mais alta qualidade com o intuito de verificar a real influência do ambiente.

***Controle de qualidade das análises.***

***SENSORIAL.*** As análises sensoriais foram realizadas apenas por juízes certificados de cafés especiais, utilizando-se a metodologia proposta pela

Associação Americana de Cafés Especiais (SCAA) (LINGLE, 2001). Para a torra do café foi utilizado o protocolo de análise sensorial da SCAA, cuja coloração deve corresponder a 58 pontos da escala Agtron, para o grão inteiro e 63 pontos para o grão moído, com tolerância de  $\pm 1$  ponto. Em cada avaliação, foram degustadas cinco xícaras de café representativas das interações entre genótipo e ambiente, realizando-se uma sessão de análise sensorial para cada repetição, totalizando três repetições. Cada processamento foi avaliado separadamente. Para este estudo foi considerado apenas a nota final dos atributos pontuados.

*IRMS.* Os grãos de café verde foram moídos num moinho Retsch por 5 min. Esse foi repetido 3 vezes para atingir um tamanho de partícula inferior a 1mm. Após a moagem, as amostras foram secas por um período de 12h a 60°C, colocadas em cápsulas estanho, dobradas e novamente pesadas. O peso da cápsula foi dobrada registrada e utilizada para C e N cálculo percentual. A análise elementar foi realizada em triplicatas e a média e o desvio padrão foi calculado. O material de referência certificado (CRM) para a validação do método foi Farinha de Trigo padrão OAS. Os valores certificados para C e N do CRM foram determinados com um analisador elementar calibrado para acetanilida 141 d do *National Instituto de Padrões e Tecnologia* (NIST), Maryland, EUA.

***Espectrômetro de massa de razão isotópica – Modo de combustão (EA-C)*** Os isótopos estáveis de carbono foi determinado por um Sira II (VG ISOGAS, UK) espectrômetro de massa de razão isotópica acoplado a um EuroEA analisador elementar (EuroVector, Itália) preparação da amostra para combustão-redução. A razão isotópica do nitrogênio foi determinada em um Isoprime (Micromass, Reino Unido), o espectrômetro de massa de razão isotópica foi acoplado a um analisador elementar EuroEA (Euro-Vector, Itália). O acoplamento dos

analísadores elementares e do espectrômetro de massa de razão isotópica é via *open-split*. A proporção de isótopo das amostras foi corrigida de acordo com normas internacionais (IAEA CH6 e IAEA CH7 para a razão isotópica do carbono e a IAEA N1 para a razão isotópica do nitrogênio). A eficiência do método foi verificada por meio da inserção de padrões de laboratório entre as amostras para verificar a estabilidade e para permitir a correção do “drift” quando necessário. A precisão foi de 0,06% para a determinação da razão isotópica de carbono e 0,08% para a razão isotópica de nitrogênio.

**Modo de pirólise (EA-P).** A razão isotópica do oxigênio foi determinada por um Isoprime (Micromassa, UK), espectrômetro de massa de razão isotópica acoplado a um “EuroEA” analisador elementar (EuroVector, Itália), para a pirólise. A pirólise ocorreu em 1.300°C em um reator de carbono vítreo com *chips* de carbono vítreo e niquelado de carbono como catalisadores, montado coaxialmente sobre um tubo cerâmico. O acoplamento do analisador elementar ao espectrômetro de massa de razão isotópica é por via *open-split*. A razão isotópica das amostras foi corrigida por padrões internacionais (IAEA 601 e IAEA 602). O desempenho analítico foi verificado por meio da inserção de padrões laboratoriais entre amostras para verificar a estabilidade e para permitir a correção do desvio, quando necessário. A precisão foi de 0,14%.

**Estatística dos dados.** Foram realizados modelos por meio da análise discriminante de Fisher, mencionada por Johnson e Wichern (2007) para a discriminação dos locais geográficos amostrados. A função discriminante é responsável por explicar as diferenças entre as variáveis classificadoras (altitude). A classificação determina as funções das variáveis observadas que permite classificar novos objetos em uma das “g” populações. O modelo criado segue o delineamento amostral proposto. Os fatores preditivos testados para o

modelo foram: a nota final da análise sensorial das amostras de café, delta de nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ), carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ), oxigênio ( $\delta^{18}\text{O}$ ) do grão, oxigênio ( $\delta^{18}\text{O}$ ), deutério ( $\delta\text{D}$ ), percentagens de carbono (%C) e nitrogênio (%N).

**Classificação do modelo.** Após a obtenção do modelo discriminante e para validação do mesmo procedeu-se com obtenção de uma tabela de frequência, conforme descrição da tabela 1 em que cada célula representou o número total de observações classificadas dentro das seguintes situações:  $n_{(1,1)}$  igual ao número de observações pertencentes a  $\pi_1$  que foram classificadas em  $\pi_1$ ;  $n_{(1,2)}$  igual ao número de observações pertencentes a  $\pi_1$  que foram classificadas em  $\pi_2$ ;  $n_{(2,1)}$  igual ao número de observações pertencentes a  $\pi_2$  que foram classificadas em  $\pi_1$  e por fim  $n_{(2,2)}$  representou o número de observações pertencentes a  $\pi_2$  que foram classificadas em  $\pi_2$ .

Tabela 1 – Resumo das observações multivariadas classificadas segundo o modelo linear discriminante.

	Classificação prevista	
	$\pi_1$	$\pi_2$
Classificação Verdadeira	$\pi_1$	$\pi_2$
	$n_{(1,1)}$	$n_{(1,2)}$
	$\pi_2$	
	$n_{(2,1)}$	$n_{(2,2)}$
Total	N = número total de observações	

Em função dos resultados obtidos por meio da construção da tabela 1, tornou-se possível computar a taxa de acerto, sendo essa utilizada para avaliar a qualidade de classificação resultante da função linear discriminante de Fisher. Dessa forma, esta taxa foi obtida conforme a expressão (4):

$$T = \frac{n_{(1,1)} + n_{(2,2)}}{N} \quad (4)$$

Em se tratando das situações que envolviam mais do que duas variáveis classificadoras, sendo o caso da classificação por faixas de altitude procedeu-se

de forma similar, fazendo as devidas adaptações na análise discriminante para que a função discriminante de Fisher e a estimativa do ponto de corte sejam adaptadas para três classificações.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

***Modelo classificatório – Altitude.*** O modelo gerado por meio do método linear de resposta conseguiu classificar 22 amostras das 24 estudadas com uma taxa de acerto de 91,7%. As relações entre as variáveis classificatórias e o FITS1 estão representadas na Figura 2.

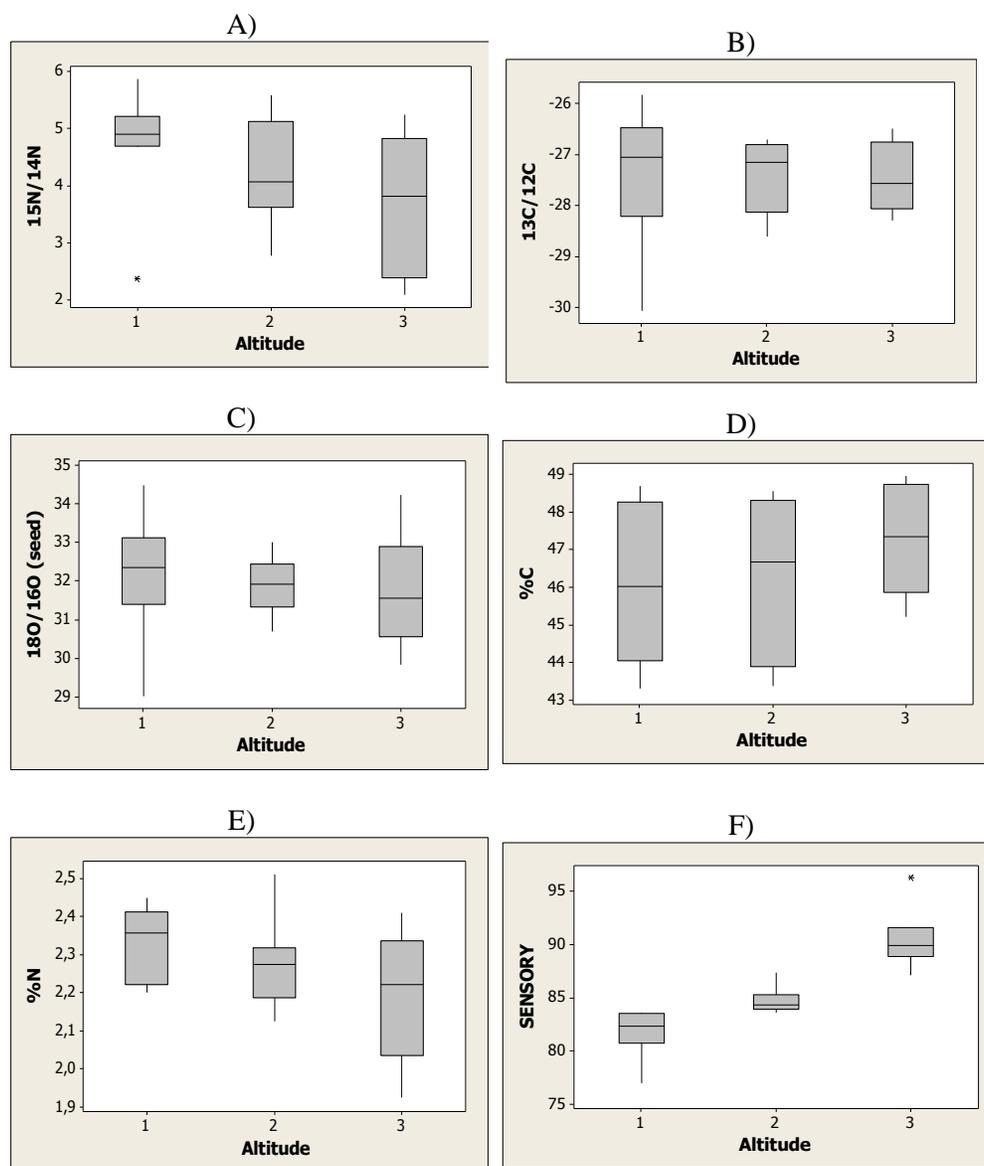


Figura 2 – Boxplot das variáveis classificadoras (A=  $\delta^{15}\text{N}$ ; B=  $\delta^{13}\text{C}$ ; C=  $\delta^{18}\text{O}$ ; D=%C, E=%N F= nota final sensorial) do modelo *Altitude*. Os números 1, 2 e 3 correspondem às faixas de altitude (abaixo de 1000m, 1000-1200 e acima de 1200m) respectivamente.

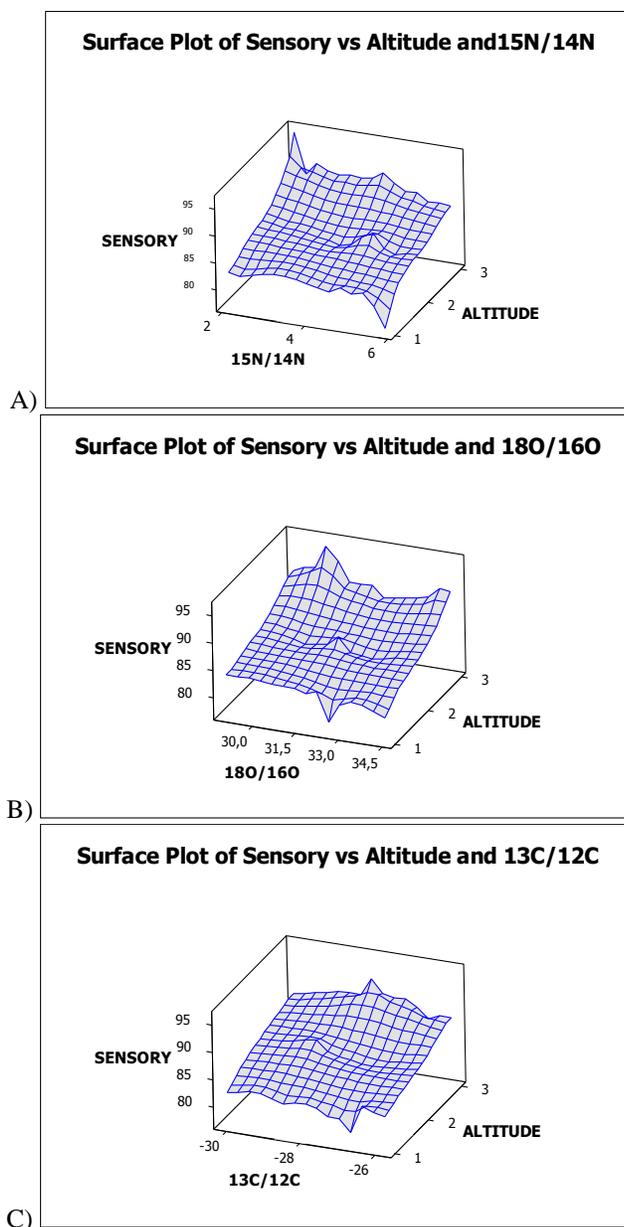
A relação entre a altitude e o  $\delta^{15}\text{N}$  está representada na Figura 2-A. Como pode ser observado, ocorre um declínio na concentração dos isótopos com o aumento da altitude. Essa mesma observação pode ser feita para o  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  e para a %N (Figura 2-C e Figura 2-E, respectivamente), entretanto, com uma menor evidência dessa relação com a altitude. Diferentemente do que foi observado para o  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  e %N, a nota sensorial e a percentagem de carbono (Figura 2-F e Figura 2-D) apresentaram uma tendência em aumentar as taxas e valores em decorrência da elevação da altitude.

Tabela 2 – Médias, desvio padrão e faixas de valores de C%, N%,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  (seed) e nota final da análise sensorial dos grãos crus para as três classes de altitude (<1000; 1000 a 1200; >1200m).

ALTITUDES	$\delta^{18}\text{O}$ – NATURAL (seed)			$\delta^{18}\text{O}$ – DESMUCILADO (seed)		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	33,12	1,19	32,2 – 34,5	31,61	1,63	29,0 – 33,3
1000-1200	31,47	0,65	30,7 – 32,2	32,31	0,57	31,7 – 33
1200	31,54	1,38	29,8 – 33,2	31,94	1,65	30,3 – 34,2
ALTITUDES	%C – NATURAL			%C – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	45,90	2,48	43,80 – 48,64	46,15	2,11	43,30 – 48,69
1000-1200	45,80	2,22	43,78 – 48,56	46,59	2,26	43,37 – 48,50
1200	47,58	1,5	45,47 – 48,83	47,09	1,53	45,21 – 48,96
ALTITUDES	$\delta^{15}\text{N}$ – NATURAL			$\delta^{15}\text{N}$ – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	4,9	0,25	4,68 – 5,18	4,6	1,32	2,38 – 5,86
1000-1200	4,2	0,9	3,58 – 5,59	4,18	1,07	2,78 – 5,25
1200	3,5	1,28	2,3 – 4,99	3,7	1,3	2,09 – 5,24
ALTITUDES	%N – NATURAL			%N – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	2,27	0,12	2,20 – 2,41	2,37	0,06	2,28 – 2,44
1000-1200	2,26	0,07	2,16 – 2,31	2,29	0,15	2,12 – 2,51
1200	2,18	0,12	2,01 – 2,29	2,19	0,22	1,92 – 2,41
ALTITUDES	$\delta^{13}\text{C}$ – NATURAL			$\delta^{13}\text{C}$ – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	-28,63	1,37	-27,31 a -30,05	-26,58	0,52	-25,82 a -27,27
1000-1200	-27,22	0,58	-26,69 a -27,96	-27,61	0,91	-26,82 a -28,60
1200	-27,65	0,72	-26,73 a -28,29	-27,18	0,64	-26,47 a -27,78
ALTITUDES	Sensorial – NATURAL			Sensorial – DESMUCILADO		
	Media	Desvpad	Faixas	Media	desvpad	Faixas
1000	81,45	0,97	80,37 – 82,25	81,97	2,82	77 – 83,62
1000-1200	84,37	0,27	84,12 – 84,75	85,09	1,73	83,62 – 87,37
1200	89,78	1,23	88,87 – 91,5	91,25	3,8	87,12 – 96,25

As altitudes abaixo de 1000m apresentaram valores ‰ para o  $\delta^{15}\text{N}$  (conforme apresentados na Tabela 2) superiores aos encontrados nas altitudes mais elevadas ( $5,86 \pm 3\%$ ). Esses dados demonstram uma tendência a ter menor abundância isotópica do  $\delta^{15}\text{N}$  em ambientes de produção com elevadas altitudes. A mesma observação pode ser feita para o  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  ( $29,0 \pm 34,5\%$ ) em relação às classes de altitudes. Uma suposição que possa explicar o resultado apresentado para o  $\delta^{15}\text{N}$  é o fracionamento isotópico do nitrogênio que é fortemente influenciável pela ciclagem de  $\text{N}_2$ . Alguns autores relacionam esse fenômeno às influências de práticas agrícolas ou mesmo em decorrência da lixiviação provocada pelo excesso de precipitação (BORBEMISZA, 1982). Entretanto, maiores estudos são necessários para afirmar a causa desse declínio nos valores encontrados para os grãos, uma vez que não há relatos sobre esse fracionamento em sementes ou em grãos (no caso do café). Com o mesmo propósito, para uma escala de maior abrangência geográfica, alguns autores estudaram sobre a composição de elemento marcado e razão de isótopos estáveis para produtos alimentares de alguns países europeus (GONZALVEZ *et al.*, 2009). Gonzalez *et al.* (2009) observaram que diferenças encontradas em  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  estão relacionadas às práticas agrícolas. Outros fatores como a precipitação, diferenças no tipo de solo, são relatados como forte influência nas variações dos padrões de ciclismo de nitrogênio e, portanto, na composição isotópica de nitrogênio nas plantas (MARTINELLI *et al.*, 1999). Em si tratando do  $\delta^{18}\text{O}$  os valores encontrados variaram para altitude <1000m de ( $32 \pm 34,5\%$ ) e para altitudes >1200m de ( $29 \pm 33\%$ ). Embora pouco evidente a diferença entre os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  em relação às classes de altitudes. É prudente ressaltar que os dados apresentados aqui são relatados pela primeira vez em uma escala geográfica de pequena abrangência. Para tanto, valores isotópicos encontrados não podem ser comparados aos encontrados na literatura referentes a uma escala geográfica global. No entanto, vale ressaltar alguns resultados de estudos realizados em

áreas geográficas similares como o trabalho realizado por Rodrigues *et al.* (2011). Os autores estudaram cafés de diferentes ilhas no Haváí e conseguiram discriminar os diferentes ambientes por meio da assinatura isotópica do oxigênio  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ . Eles observaram que a razão isotópica do  $\delta^{18}\text{O}$  decresce com o aumento da altitude, ocorrendo um empobrecimento desse elemento na composição química do grão. Essas observações realizadas por esses autores comprovam o que foi analisado neste estudo para os valores de  $\delta^{18}\text{O}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ . No entanto, pode ser constatado que quando se relaciona a variedade Bourbon amarelo, de elevado potencial sensorial, fica mais evidente a relação da expressão da qualidade, ambiente e isótopos como apresentado nas Figuras: 3-A, 3-B e 3-C.



Figuras 3: (A) Gráfico de superfície em 3D composto pelas variáveis: isótopo estável de nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ), nota sensorial final (Sensory) e as classes de altitude (1 = <1000, 2 = 1000-1200 e 3 = >1200m) representadas respectivamente pelos eixos X, Y e Z; (B) Gráfico de superfície em 3D composto pelas variáveis: isótopo estável de oxigênio ( $\delta^{18}\text{O}$ ), nota sensorial final (Sensory) e as classes de altitude; e (C) Gráfico de superfície em 3D composto pelas variáveis: isótopo estável de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ), nota sensorial final (Sensory) e as classes de altitude.

Quando comparado com a nota sensorial pode-se observar um comportamento antagônico dos isótopos de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{18}\text{O}$  em relação à qualidade. Ou seja, nesse gráfico é possível visualizar que com o aumento das classes de altitude há um aumento da nota sensorial e um declínio dos respectivos isótopos. Avelino *et al.* (2005) realizaram estudos sobre a qualidade dos cafés na Costa Rica e observaram uma relação positiva do efeito da altitude com a qualidade. Esse fenômeno embora não muito compreendido, também foi relatado por Barbosa *et al.* (2012). Segundo os autores que realizaram estudos com os cafés do Brasil além da relação qualidade *vs* altitude há também uma relação com a latitude em decorrência da distribuição das chuvas e a temperatura. Segundo Rodrigues *et al.* (2011) uma interpretação mais apurada da abundância isotópica do grão de café torna-se complicada pela combinação dos diversos processos ambientais, climáticos e fisiológicos. Diante dessas influências do ambiente, tem sido relatado na literatura, que o fracionamento isotópico do oxigênio ocorre nas folhas das plantas (YAKIR; STERNBERG, 2000), entretanto, não há relatos em relação ao fracionamento em sementes. Levando em consideração que os produtos formados pela fotossíntese são parcionados para os locais de maior demanda na planta (LARCHER, 2006) e considerando que esses produtos serão depositados e formados durante a granação e maturação dos frutos de café, esses eventos contribuem para a distribuição dos isótopos estudados em grãos. Em relação aos isótopos contidos na água meteórica que precipita no solo, autores relatam que ela pode traduzir a mesma abundância isotópica encontrada na chuva (YAKIR; STERNBERG, 2000). Outra consideração que pode ser levada em conta é a relação do balanço hídrico, que por meio da transpiração, as plantas absorvem a água contida no solo pelas raízes e a transporta para as superfícies transpirantes (LARCHER, 2006). Assim sendo, os compostos orgânicos recém-sintetizados pela planta poderão conter  $\delta^{18}\text{O}$ , mas pode estar dependente do fracionamento e também dos processos enzimáticos, de regulação e de síntese.

Barbour *et al.* (2000) relatam que a composição isotópica da matéria orgânica de plantas é conhecida por refletir a água absorvida em condições de evapotranspiração no momento em que a matéria orgânica é formada. Com essa inferência é plausível relatar que a composição isotópica do  $\delta^{18}\text{O}$  encontrada nos grãos de café irá refletir no desempenho fisiológico do cafeeiro.

## **CONCLUSÕES**

Os resultados apresentados comprovam que quando se relaciona uma única variedade, de elevado potencial sensorial, fica mais evidente a relação da expressão da qualidade, do ambiente e dos isótopos. Haja vista o ineditismo do trabalho em uma escala geográfica de abrangência tão pequena, maiores informações referente ao assunto são necessárias para esclarecer tais eventos que mistificam os valiosos “terroirs”.

Uma vez que a demanda do mercado internacional exige padrões de excelência de qualidade, valorizando produtos com selos de origem geográfica, vê-se a necessidade da criação e aplicação de metodologias que agregam valor aos produtos finos, como, por exemplo, os cafés da Mantiqueira de Minas, proporcionando, assim, uma visibilidade positiva dos cafés produzidos no Brasil.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a CAPES, FAPEMIG, CNPq, INCT-CAFÉ pelo financiamento desse projeto e a FCUL – Portugal, UNESP-Botucatu, pelo apoio técnico.

## REFERÊNCIAS

AVELINO, J.; BARBOZA, B.; ARAYA, J. C.; FONSECA, C.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; CILAS, C. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.85, p. 1869-1876, 2005.

BARBOSA, J. N.; BORÉM, F. M.; CIRILLO, M. A.; MALTA, M. R.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, H. M. R. Coffee quality and its interactions with environment factors in Minas Gerais, Brazil. **Journal of agricultural science**, v. 4, n. 5, p. 181-190, 2012.

BARBOUR, M. M.; SCHURR, U.; HENRY, K. B.; WONG, S. C.; FARQUHAR, G. D. Variation in the oxygen isotope ratio of phloem sap sucrose from Castor bean. Evidence in support of the pécelet effect. **Plant Physiology**, v. 123, p. 671-679, 2000.

BORÉM, F.M. Processamento do café. *In*: BORÉM, F. M. (Ed.). **Pós-Colheita do Café**. Lavras: Editora UFLA, 2008.

BORNEMISZA, E. Nitrogen cycling in coffee plantations. **Plant and soil**, n. 67, p. 241-246, 1982.

BOWEN, G. J.; REVENAUGH, J. Interpolating the isotopic composition of modern meteoric precipitation. **Water resources research**, v. 39, n. 10, p. 1286-1299, 2003.

BYTOF, G.; KNOPP, S. E.; SCHIEBERLE, P.; TEUTSCH, I.; SELMAR D. Influence of processing on the generation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in green coffee beans. **Eur Food Res Technol**, p. 220:245-250, 2005.

DUCATTI, C.; MARTINS, L. C.; ARRIGONI, M. de B.; MARTINS, M. B.; VIERA-JUNIOR, L. C.; DENADAI, J. C. Utilização de isótopos estáveis em ruminantes. **Revista brasileira de zootecnia**, v. 40, p. 68-75, 2011.

EHLERINGER, J. R.; BOWLING, D. R.; FLANAGAN, L. B.; FESSEDEN, J.; HELLIKER, B.; MARTINELLI, L. A.; OMETTO. Stable isotopes and carbon cycle processes in forests and grasslands. **Plant biology**, n. 4, p. 181-189, 2002.

GONZALVEZ, A.; ARMENTA, S.; GUARDIA, M. de la. Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with protected designation of origin. **Trends in analytical chemistry**, v. 28, n. 11, p. 1295-1311, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Cidades**. Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: <<http://geoftp.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 jul. 2009.

JOËT, T.; LAFFARGUE, A.; DESCROIX, F.; DOULBEAU, S.; BERTRAND, B.; KOCHKO, A. de; DUSSERT, STÉPHANE. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of Green Arabica coffee beans. **Food Chemistry**, v. 118, p. 693-701, 2010.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, W. D. **Applied Multivariate Statistical Analysis**, 6th Edition, Pearson, p. 800, 2007.

KRIVAN, V.; BARTH, P.; MORALES, A. F. Multielement analysis of green coffee and its possible use for the determination of origin. **Mikrochimica acta**, n. 110, p. 217-236, 1993.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2006. 531p.

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook**: systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor. 3ed. Long Beach: Specialty Coffee Association of America, 2001. 47p.

MARTINELLI, L. A.; PICCOLO, M. C.; TOWNSEND, A. R.; VITOUSEK, P. M.; CUEVAS, E.; McDOWELL, W.; ROBERTSON, G. P.; SANTOS, O. C.;

TRESEDER, K. Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. **Biogeochemistry**, n. 46, p. 45-65, 1999.

ORGANIZACION INTERNACIONAL DEL CAFÉ. **Participação dos mercados e seus coeficientes de ponderação no cálculo dos preços indicativos dos grupos e composto a partir de 1º de outubro de 2009**. Anexo 1, 2009.

RODRIGUES, C. I.; MAIA, R.; MIRANDA, M.; RIBEIRINHO, M.; NOGUEIRA, J. M. F.; MAGUAS, C. Stable isotope analysis for green coffee bean: A possible method for geographic origin discrimination. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 5, p. 463-471, 2009.

RODRIGUES, C.; MÁGUAS, C.; PROHASKA, T. Strontium and oxygen isotope fingerprinting of green coffee beans and its potential to proof authenticity of coffee. **European Food Research and Technology**, v. 232, p. 361-373, 2011.

SALVADORAN COFFEE COUNCIL. Exploring distinctive characteristics & virtues of coffee varieties: the bourbon & pacamara case, 2009. Disponível em: <<http://www.atlascoffee.com/pacamara.pdf>>. Acesso em: 19 abr. 2009.

SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S. New aspects of coffee processing: The relation between seed germination and coffee quality. *In: Proceedings of the international congress of ASIC*, p. 19, 2002.

SERRA, F.; GUILLOU, C. G.; RENIERO, F.; BALLARIN, L.; CANTAGALLO, M. I.; WIESER, M.; IYER, S. S.; HÉBERGER, K.; VANHAECKE, F. Determination of the geographical origin of green coffee by principal component analysis of carbon, nitrogen and boron stable isotope ratios. **Rapid communications in mass spectrometry**, v. 19, p. 2111-2115, 2005.

SHIBUYA, E. K.; SARKIS, J. E. S.; NEGRINI-NETO, O.; MARTINELLI, L. A. Carbon and nitrogen stable isotopes as indicative of geographical origin of marijuana samples seized in the city of São Paulo (Brazil). **Forensic science international**, n. 167, p. 8-15, 2007.

TECHER, I.; LANCELOT, J.; DESCROIX, F.; GUYOT, B. About Sr isotopes in coffee “Bourbon Pointu” of the Réunion Island. **Food chemistry**, n. 126, p. 718-724, 2011.

WECKERLE, B.; RICHLING, E.; HEIRINCH, S.; SCHREIER, P. Origin assessment of green coffee (*Coffea arabica*) by multi-element stable isotope analysis of caffeine. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, p.886-890, 2002.

YAKIR, D.; STERNBERG, L. S. da. L. The use of stable isotopes to study ecosystem gas exchange. **Oecologia**, n. 123, p. 297-311, 2000.

*Versão preliminar de artigo – Sujeito a alterações pelo corpo editorial da revista.*