

AVALIAÇÃO DA PRECISÃO E APLICAÇÃO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE IMPUREZAS DO CAFÉ TORRADO E MOÍDO¹

Julio Cesar Freitas Santos², Juarez Fabiano de Alkmim Filho³, Danillo Vicente Reis da Silva⁴, Lumena Cunha Mendes⁵, Jessica Almeida Corrêa⁶, Wagner Lutero Souza Dibai⁷

¹ Trabalho resultante da parceria Lanagro-MG/MAPA, Embrapa Café, IMA-MG e Projeto Sagres/CNPq.

² Pesquisador, Eng. Agro., Fitotecnista, D.Sc, Embrapa Café, Brasília-DF, julio.cesar@embrapa.br

³ Fiscal Federal, D.Sc, Lanagro-MG/MAPA, Pedro Leopoldo-MG, juarez.filho@agricultura.gov.br

⁴ Fiscal Assist. Agrop. Espec., IMA-MG, Lanagro-MG/MAPA, Pedro Leopoldo-MG, dvicentereis@hotmail.com

⁵ Bolsista do Projeto Sagres/CNPq, Lanagro-MG/MAPA, Pedro Leopoldo-MG, lumenacunha@yahoo.com.br

⁶ Bolsista do Projeto Sagres/CNPq, Lanagro-MG/MAPA, Pedro Leopoldo-MG, jessicalmeidacorrea@yahoo.com.br

⁷ Fiscal Agrop. Químico, M.Sc., IMA-MG, Lanagro-MG/MAPA, Pedro Leopoldo-MG, wagnerdibai@yahoo.com.br

RESUMO: A detecção de impurezas do café torrado e moído é essencial para assegurar a melhoria da qualidade da produção e do produto. O objetivo desse trabalho foi avaliar a precisão obtida com o método de microscopia em duas faixas de concentração e com a utilização de três analistas diferentes. As análises preconizadas por este estudo foram realizadas na Unidade de Microscopia do Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO-MG), situada em Pedro Leopoldo, MG. O método para detecção, identificação e quantificação das impurezas cascas e paus em café torrado e moído baseia-se no desengorduramento parcial do café com solvente orgânico, eliminação do pó fino por peneiração e determinação por catação através do uso de microscópio estereoscópico. As análises foram constituídas por 11 amostras de café torrado e moído feitas em duplicata por três analistas totalizando 66 determinações, cujos resultados foram fornecidos em porcentagens das impurezas cascas e paus. Os desvios padrão e os coeficientes de variação dos resultados analíticos do método estudado diminuíram a medida que se aumentou a concentração de cascas e paus. Na faixa de concentração acima de 2,5% o coeficiente de variação geral obtido foi 22,5% sendo plenamente aceitável. Na faixa de concentração de 0,1 a 0,5% o coeficiente de variação geral obtido foi 44,5% o que indica que, nestas concentrações, o resultado obtido não tem a mesma confiabilidade das faixas de concentração mais altas. Um estudo mais profundo avaliando-se todos os parâmetros de desempenho do método, e contando com um número maior de análises é necessário para se validar adequadamente esta metodologia.

PALAVRAS-CHAVE: café torrado e moído, microscopia do café, impurezas do café, análise do café.

EVALUATION OF THE PRECISION AND APPLICATION OF METHOD FOR DETERMINATION OF IMPURITIES OF ROASTED AND GROUND COFFEE

ABSTRACT: The detection of impurities of roasted and ground coffee is essential to secure the improvement of the quality of the production and of the product. The objective of that work was to evaluate the precision obtained with the method in two concentration strips and with the three different analysts' use. The analyses extolled by this study were accomplished in the Unit of Microscopy of the Agricultural National Laboratory (LANAGRO-MG), located in Pedro Leopoldo, MG. The method for detection, identification and quantification of the impurities husks and straws in roasted and ground coffee to be based on the partial grease extraction of the coffee with organic solvent, elimination of the fine powder for screening and determination for collection through the use of stereoscopic microscope. The analyses were constituted by 11 samples of roasted and ground coffee done in copy by three analysts totaling 66 determinations, whose results were supplied in percentages of the impurities husks and straws. The deviations pattern and the coefficients of variation of the analytical results of the studied method reduced the measure that increased the concentration of husks and straws. In the concentration strip above 2,5% the obtained coefficient of general variation was 22,5% being fully acceptable. In the strip of concentration from 0,1 to 0,5% the obtained coefficient of general variation was 44,5% what indicates that, in these concentrations, the obtained result doesn't have the same reliability of the higher concentration strips. A deeper study being evaluated all of the parameters of acting of the method, and counting with a number larger of analyses it is necessary to validate this methodology appropriately.

KEY WORDS: roasted and ground coffee, coffee microscopy, coffee impurities, coffee analyse.

INTRODUÇÃO

A fraude no café torrado e moído é um procedimento ilícito, consistindo no uso com maior frequência da adição de impurezas (cascas e paus) e matérias estranhas (milho, trigo, cevada e triguilho) antes do processo de torração (Assad et al., 2002; Lopez, 1983). O aspecto granuloso do café, textura oleosa aderente e coloração escura contribuem para que tais substâncias estranhas se tornem quase imperceptíveis, dificultando seu reconhecimento sem auxílio de aparelhos e métodos analíticos especiais (INMETRO, 1998). A detecção de impurezas e matérias estranhas no café torrado e moído é uma preocupação constante para garantia da qualidade do produto. O processo convencionalmente utilizado para detecção de adulteração no café torrado e moído consiste na preparação de lâminas microscópicas e sua análise visual com auxílio do microscópio estereoscópico. (AOAC, 1995). Com o reconhecimento internacional do Brasil como o maior produtor e exportador de grãos de café, torna-se evidente que análises relacionadas à qualidade do café, tais como a detecção de impurezas e de matérias estranhas sejam cada vez mais necessárias para a evolução da qualidade do produto oferecido aos mercados interno e externo. Para avançar no aumento do consumo interno e no mercado internacional de café torrado e moído, o setor produtivo necessita melhorar a qualidade das características físicas dos grãos e organolépticas da bebida e evitar a ocorrência de fraudes como impurezas, sedimentos e matérias estranhas, as quais são prejudiciais à qualidade do produto. Na análise da qualidade do produto, a presença das impurezas cascas e paus além do limite tolerável (1%) é um indício de ausência de boas práticas na produção e no beneficiamento, ou ainda, existência da concorrência desleal com adição intencional dessas impurezas, caracterizando fraude. A aplicação de métodos validados dentro de sistemas de qualidade e de acordo com normas internacionais faz-se necessário atender a esta importante demanda analítica. Entretanto, a ausência de metodologias oficiais validadas dificulta o monitoramento contínuo do café pelos órgãos fiscalizadores. A validação dos métodos analíticos confere confiabilidade a um método, instrumento ou equipamento e suas indicações são aceitas como corretas e confere também confiabilidade a um valor, se foi operado e analisado de modo apropriado (Leite, 1996). Ela deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas (Brasil, 2003). Como os procedimentos de ensaio para pesquisa de matérias estranhas e cascas e paus em café torrado e moído, disponíveis e utilizados há vários anos pelos laboratórios públicos e privados são métodos não normalizados, faz-se necessária a validação do ensaio visando fornecer uma evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso são atendidos e para garantia dos resultados gerados. Dentre os vários parâmetros de validação existentes destaca-se a precisão. Ela é definida como o grau de concordância entre indicações ou valores medidos, obtidos por medições repetidas, no mesmo objeto ou em objetos similares, sob condições especificadas (INMETRO, 2009). Estudos de precisão avaliam a dispersão dos resultados de ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou soluções analíticas de referência, analisadas em condições definidas. A precisão pode ser numericamente expressa em termos do desvio padrão relativo (RSD%) ou coeficiente de variação (CV). Para métodos empregados em determinações em nível de traços, valores de RSD% de até 20% são aceitáveis (Codex Alimentarius, 2005; INMETRO, 2010). O objetivo desse trabalho foi avaliar a precisão obtida com o método de microscopia em duas faixas de concentração e com a utilização de três analistas diferentes. Os resultados obtidos fazem parte de uma etapa do procedimento completo de validação do método que está em andamento e que inclui outros parâmetros tais como o limite de detecção e a incerteza de medição.

MATERIAL E MÉTODOS

As análises preconizadas por este estudo foram realizadas na Divisão Laboratorial (DLAB) na Unidade de Microscopia do LANAGRO-MG, situada em Pedro Leopoldo, MG. Os trabalhos iniciais visaram a pesquisa de cascas do cafeeiro e fragmentos de caule ou paus, cujas amostras foram colhidas aleatoriamente no mercado. Não houve qualquer adição ou fortificação das amostras sendo que inicialmente não se conhecia a concentração de impurezas das amostras. O método para detecção, identificação e quantificação das impurezas cascas e paus em café torrado e moído baseia-se no desengorduramento parcial do café com solvente orgânico, eliminação do pó fino por peneiração e determinação por catação através do uso do microscópio estereoscópico de conformidade com o tamanho, forma, cor, textura, dureza e brilho que caracterizam de maneira específica seus fragmentos (Lopez, 1974). O preparo da amostra de café torrado e moído se inicia com a abertura da embalagem de 500g desse produto através do corte com tesoura, para em seguida espalhá-lo em bandeja retangular de alumínio para a homogeneização. Essa mistura uniforme do produto é feita com o auxílio de uma espátula, realizando-se o movimento da massa no sentido da periferia para o centro da bandeja, para depois dividir a mistura em quatro partes iguais através de dois cortes perpendiculares e misturar dois a dois os quadrantes diametralmente opostos. Após juntar as duas metades e misturar novamente, deve-se transferir a amostra homogeneizada para um saco plástico identificando a amostra com etiqueta. A pesagem da massa da amostra para desengorduramento é realizada em balança analítica de precisão, em que se utiliza uma placa de Petri tarada e identificada com número da amostra para pesar 2,0000 gramas, fazendo o registro da massa total e exata da amostra (mt) em formulário de acompanhamento da análise. Em seguida fechar a placa de Petri e levar a amostra para a capela de exaustão para fazer o desengorduramento. O processo de desengorduramento do café é feito com clorofórmio p.a., cujo volume de 60 a 80 mL desse solvente orgânico é inicialmente colocado num béquer de 250 ml identificado com o número da amostra. Com a extremidade de um bastão de vidro revolver vagarosamente a massa da amostra de café da placa de Petri para o béquer. Faz-se a mistura, agitando com o bastão de vidro o conteúdo do béquer, deixando o café torrado e moído em contato com o clorofórmio durante 20 minutos. Durante este tempo deve-se agitar a solução pelo menos duas vezes. Após esse período, proceder à filtração, despejando a solução clorofórmio mais café torrado e

moído num papel de filtro etiquetado colocado num funil de vidro de 75 mm sobre um erlemeyer de 250 ml, fazendo o descanso da mistura filtrada por 10 minutos na capela de exaustão para decantação total da amostra desengordurada. Em seguida transferir o papel de filtro contendo o café desengordurado para uma placa de Petri identificada e depois levar junto o béquer e o bastão para secagem em estufa a 105 °C por 15 minutos ou a 50 °C por 30 minutos. A peneiração do pó fino da amostra é realizada pós a secagem e esfriamento do pó de café, sendo o mesmo removido com ajuda de um pincel de cerdas macias e transferido do papel de filtro para uma peneira de 80 mesh juntamente com os resíduos que estão no bastão e no béquer. Colocar a peneira sobre uma bandeja de alumínio para separação do pó que passa pelos crivos passando suavemente o pincel sobre o café a fim de evitar que as cascas, eventualmente presentes, se quebrem dificultando sua posterior identificação. Este procedimento deve prosseguir até que todo o pó fino tenha passado pela peneira. Transferir as partículas retidas na peneira para uma placa de Petri tarada e etiquetada com o número da amostra para pesagem do pó retido. Em seguida anotar no formulário de acompanhamento da análise a massa do total retido da amostra em gramas (mp). A catação das impurezas é precedida pela identificação do número da amostra em um conjunto de placas de Petri e de uma lâmina de vidro. Para a determinação quantitativa de cascas e paus, deve-se pesar numa placa de Petri identificada uma alíquota de 0,1 a 0,5 g da amostra peneirada retida e registrar no formulário a massa exata pesada para catação (ma). Com a utilização do microscópio estereoscópico com aumento de 10 a 50x e com luz refletida, transmitida e polarizada, fazer a identificação e catação de cascas e paus com o auxílio de uma agulha ou estilete, transferindo as cascas e paus presentes para uma lâmina de vidro contendo duas a três gotas de água. Frequentemente molhar a ponta da agulha a fim de se conseguir a aderência necessária das cascas e paus, revolvendo a amostra e repetir a operação quantas vezes forem necessárias até que todos os fragmentos de cascas e paus tenham sido transferidos para a lâmina. Depois da catação, fazer a secagem das impurezas em estufa por 10 minutos para evaporação de toda água contida na lâmina. Após a secagem, levar a lâmina de volta ao microscópio estereoscópico e retirar os grânulos de café que por acaso no início da catação foram arrastados pela agulha molhada. Em seguida, transferir as cascas e paus para uma placa pesa filtro tarada e seca, colocando-a numa estufa a 105 °C por uma hora, e num dessecador para resfriar e desumificar por 30 minutos. Depois pesar em balança analítica de precisão o conjunto (placa pesa filtro + impurezas) e calcular a diferença (massa do conjunto – massa da placa vazia) que será equivalente a massa das impurezas cascas e paus presente na alíquota catada (mi), anotando o valor no formulário de acompanhamento. Conforme os dados obtidos por pesagem, inicialmente faz-se o cálculo das impurezas cascas e paus na amostra peneirada (Miap) com aplicação da seguinte fórmula: $Miap = (mp \times mi) / ma$, sendo mp = massa da amostra peneirada total retida; ma = massa da alíquota para catação; mi = massa de impurezas na alíquota catada e Miap = massa das impurezas cascas e paus na amostra peneirada. Finalmente é determinada a porcentagem de cascas e paus (%CP) no café torrado e moído usando a seguinte fórmula: $\% CP = (100 \times Miap) / mt$, sendo Miap = massa das impurezas cascas e paus na amostra peneirada e mt = massa total de amostra antes do desengorduramento. Foram realizadas 66 determinações de impurezas com o intuito de se avaliar a precisão do método e comparar o desempenho dos três analistas. Os coeficientes de variação (CV) e desvios padrão dos resultados foram calculados por faixa de concentração do analito, além de por analista em cada uma das faixas de concentração. A análise de variância (ANOVA) foi realizada na tentativa de identificar diferenças significativas entre os resultados de cada analista. Para comparação das médias foi utilizado o teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 11 amostras analisadas foram divididas em duas faixas de concentração de resultados. Na primeira agrupou-se os resultados de 0,1 a 0,5% de impurezas, e na segunda faixa juntaram-se os resultados das amostras com concentrações acima de 2,5%. Esta estratificação foi necessária pois a variabilidade dos resultados diminui significativamente a medida que se aumenta a concentração de impurezas da amostra. Como o método microscópico depende muito da experiência e habilidade dos analistas é muito importante se avaliar a precisão do método com diferentes analistas e em diferentes concentrações de resultados para verificar se os desvios obtidos estão dentro de uma faixa aceitável. Conforme a Tabela-1, o CV variou de 32 a 56 % dependendo do analista avaliado. O CV global, envolvendo os três analistas juntos foi de 44,5%. Estes resultados demonstram que a repetibilidade do método varia amplamente conforme o analista. Diversos fatores podem contribuir para estes resultados sendo que o principal é o nível de treinamento e experiência dos analistas. No caso o desempenho do analista C foi o maior responsável pelo aumento da variabilidade dos resultados. O CV obtido no desempenho global encontrado (44,5%) foi considerado relativamente alto mas o valor se justifica pela baixa concentração dos analitos o que torna a identificação microscópica e a quantificação mais difíceis. Além disto, se considerarmos como aptos apenas os analistas A e B o CV cairá significativamente ficando abaixo de 40% Nestes casos há a possibilidade de novo treinamento do analista com o intuito de se melhorar a repetibilidade dos resultados ou ainda a exclusão de analistas que não atingem o CV alvo determinado pelo laboratório.

Tabela-1- Médias, Desvios padrão e Coeficiente de Variação (CV) dos desempenhos dos três analistas avaliados na faixa de concentração de resultados de 0,1 a 0,5%.

	Individual			Geral		
	Média	Desv.Pad.	CV%	Média	Desv.Pad.	CV%
A	1,07750	0,347265	32%	1,27	0,565316	44,5%
B	1,43875	0,565974	39%			
C	1,29375	0,730478	56%			

Na consolidação dos resultados da faixa de concentração de 2,5 a 4,9%, houve uma significativa redução do CV médio obtido por cada analista, variando de 18% para o analista C a 30 % para o analista B (Tabela-2). Estes valores nos permite visualizar a melhora na precisão do método quando estamos avaliando amostras com mais de 2,5 % de impurezas. O CV geral foi de 22,2 % sendo menos da metade da faixa anteriormente estudada. Estes resultados nos permitem concluir que nesta faixa (2,5 a 4,9%) a precisão do método provavelmente atende às expectativas de desempenho esperado estando muito próximo do valor alvo de 20% citado pelo INMETRO (2010) e adotado para métodos instrumentais muito mais precisos como, por exemplo, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). É importante salientar que a avaliação deste estudo é preliminar e faz parte de um estudo completo de validação da metodologia que incluirá vários parâmetros de desempenho como limite de detecção, incerteza de medição, exatidão além da precisão que é o tema deste artigo.

Tabela-2 Médias, desvios padrão e coeficiente de variação (CV) dos três analistas avaliados na faixa de concentração de resultados entre 2,5 a 4,9%.

	Individual			Geral		
	Média	Desv.Pad.	CV%	Média	Desv.Pad.	CV%
A	3,6375	0,874924	24%	3,68	0,817157	22,2%
B	3,5275	1,052533	30%			
C	3,8750	0,700690	18%			

Conforme os dados da Tabela-3 com resultados da análise de variância (ANOVA) e comparação dos resultados de cada analista, dois a dois, observa-se igualdade entre os resultados dos analistas B e C e também entre os analistas A e C. Nestes casos como o p-valor foi maior que 0,5 consideramos que não houve diferença significativa entre eles. Estes resultados permitem concluir que os analistas estão com resultados compatíveis entre si o que é extremamente desejável em um método analítico desta natureza. Significa que o método é “reprodutível” mesmo quando se troca o analista o que significa que seus resultados são coerentes mesmo quando executados por pessoas e até laboratórios diferentes. No caso da comparação entre A e B o p-valor ficou abaixo de 0,5 mostrando diferença significativa entre os resultados destes dois analistas. Este fato pode ter ocorrido em função do pequeno número de amostras avaliado e também devido ao fato de que a maioria das amostras avaliadas tinha baixas concentrações de cascas e paus. De toda forma este resultado é um alerta para a importância de reforçar treinamento e formação da equipe de analistas e também da avaliação prévia de resultados dos estudos de precisão antes de se iniciar os trabalhos de rotina no laboratório.

Tabela-3- Resultados da análise de variância (ANOVA) comparando os resultados dos três analistas entre si pelo Teste de Tukey.

Tabela da Anova					
	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Fator	2	0,528775	0,2643875	0,813902479	0,456622297
Resíduos	21	6,821625	0,324839286		
Níveis	Centro	Limite.Inferior	Limite.Superior	P-valor	
B - C	-0,145	-0,863295396	0,573295396	0,867887563	
A - B	0,36125	-1,079545396	0,357045396	0,428345219	
A - C	0,21625	-0,934545396	0,502045396	0,731704795	

A avaliação da precisão em condições de repetibilidade e entre analistas diferentes é importante para a adequada validação desta metodologia que apresenta potencial de uso para a fiscalização da qualidade do café torrado e moído, devido ser um método de baixo custo, fácil implementação e grande aceitação pelo segmento da indústria do café.

CONCLUSÕES

1. Os desvios padrão e os coeficientes de variação dos resultados analíticos do método estudado diminuem à medida que se aumenta a concentração de cascas e paus.
2. Na faixa de concentração acima de 2,5% o coeficiente de variação obtido (22,5%) foi plenamente aceitável mesmo quando comparamos a microscopia com métodos mais precisos como a cromatografia.
3. Na faixa de concentração de 0,1 a 0,5% o coeficiente de variação obtido foi considerado alto (44,5%) o que indica que, nestas concentrações, o resultado obtido não tem a mesma confiabilidade das faixas de concentração mais altas.
4. Um levantamento posterior, incluindo-se várias concentrações, é extremamente desejável para que se possa estabelecer uma faixa de trabalho onde o método possa ser aplicado sem problemas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) Official methods filth in ground coffees and coffee substitutes sub chapter 2, Beverages and Beverage Materials, 16 ed., v. 2, 1995. p. 98.
- ASSAD, E. D.; SANO, E. E.; CUNHA, S. A. R.; CORREA, T. B. S.; RODRIGUES, H. R. Identificação de impurezas e misturas em pó de café por meio de comportamento espectral e análise de imagens digitais. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, p. 211-216, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 9 de 27 de junho de 2003. Disponível em <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1398>>. Acesso em 06/05/2013.
- CODEX ALIMENTARIUS. Guidelines on good laboratory practice in residue analysis: CAC/GL 40-1993. v. 1. Roma: 2005, v.1, 36p.
- INMETRO. Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos: DOQ-CGCRE-008. 3 rev. Rio de Janeiro: Fev 2010. 20 p.
- INMETRO. VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos Fundamentais e Gerais e Termos Associados. 1 ed Brasileira. Rio de Janeiro: 2009. 78 p.
- INMETRO. Relatório- Café torrado e moído. Disponível em:<<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/cafe.asp>>. 1998. Acesso em: 10 jan. 2012.
- LEITE; F. Validação em análise química; Campinas-SP, Editora Átomo, p. 124, 1996.
- LOPEZ, F. C. Determinação quantitativa das principais substâncias utilizadas para fraudar o café torrado e moído. Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 43(1/2), p. 3-8, 1983.
- LOPEZ, F. C. Determinação do sedimento, cascas e paus no café torrado e moído. Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 34, p. 29-34, 1974.