Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Comparação das espécies químicas não volatéis entre cafés especiais e tradicionais

Gabriela Maria Rodrigues do Nascimento de Alcantara

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2019

Gabriela Maria Rodrigues do Nascimento de Alcantara
Bacharel em Ciências dos Alimentos

Comparação das espécies químicas não voláteis entre cafés especiais e tradicionais

Orientadora:
Profa. Dra. **WANESSA MELCHERT MATTOS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Alcantara, Gabriela Maria Rodrigues do Nascimento de

Comparação das espécies químicas não voláteis entre cafés especiais e tradicionais / Gabriela Maria Rodrigues do Nascimento de Alcantara. - - Piracicaba, 2019.

73 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Cafés 2. Cafés especiais 3. Compostos não voláteis 4. Perfil cromatográfico I. Título

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais Simone e Marcos, que sempre estiveram ao meu lado motivando esse sonho e não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Às minhas irmãs Isabela e Manoela sempre companheiras.

À pessoa que amo e partilho a vida, meu esposo Nilson Diego, companheiro de todas as horas, que contribuiu decisivamente para que essa dissertação pudesse ser concluída; sendo sempre paciente e carinhoso, me trouxe paz em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

“Em tudo dai graças” 1Ts 5,18

Agradeço primeiramente a Deus por todas graças concedidas ao longo dessa jornada, fostes sempre minha fortaleza. Agradeço aos meus familiares e grandes amigos por todo incentivo, apoio, companheirismo e compreensão. Em especial agradeço ao meu esposo que esteve sempre ao meu lado me motivando e com paciência e companheirismo acompanhou as longas análises e finais de semana de escrita e esteve sempre ao meu lado me auxiliando de todas as formas. Obrigada família por jamais me deixarem desistir desse sonho.

Agradeço à minha orientadora Profa. Dra. Wanessa Mattos pela acolhida, suporte, correções e incentivos. Agradeço por ter confiado em mim e ter sempre me motivado a ir além, seus ensinamentos foram além da academia, são ensinamentos para vida. Você é parte da pesquisadora que me tornei!

A todos os membros do Grupo de Estudo em Química Analítica Verde, agradeço pela amizade construída, pelas rotinas juntos, pelos momentos bons e ruins compartilhados, pelo apoio nas dificuldades e desânimos. Com vocês aprendi muito sobre trabalho em equipe, solidariedade, colocar-se a serviço do próximo e, sobretudo, sobre respeitar as diferenças.

Agradeço à Universidade de São Paulo e à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram todo o trabalho desenvolvido para a obtenção desse título. Em especial agradeço a todos os docentes e funcionários do Departamento de Ciências Exatas (Química). À Rita de Castro, por toda amizade construída, conversas, ajuda e organização que fizeram a diferença nas rotinas no laboratório. À Profa. Simone Possedente de Lira por ceder o HPLC para o desenvolvimento das análises. Aos técnicos de laboratório Felipe Andrino e Luiz Humberto (Beto) pelo aprendizado e acima de tudo pela paciência e socorros com uso do HPLC.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

À banca examinadora pelo tempo dispendido na leitura e contribuições no trabalho desenvolvido.

A Associação dos Produtores de Cafés Especiais da Alta Mogiana, por toda atenção e amostras cedidas para o desenvolvimento do trabalho.

A todos que fizeram direta ou indiretamente parte da minha formação, o meu muito obrigada.

Todos foram fundamentais para essa conquista!

EPÍGRAFE

“Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
no mínimo que fazes”

Fernando Pessoa

SUMÁRIO

RESUMO 7
ABSTRACT 8
LISTA DE FIGURAS 9
LISTA DE TABELAS 10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS 11
1. INTRODUÇÃO 13
2. OBJETIVOS 15
2.1. Objetivos específicos 15
3. REVISÃO DE LITERATURA 17
3.1. Café 17
3.2. Cafés especiais 18
3.3. Qualidade 19
3.4. Composição Química 20
3.4.1. Compostos não voláteis 21
3.4.2. Antioxidantes 24
4. MATERIAL E MÉTODOS 29
4.1. Equipamentos e acessórios 29
4.2. Amostras de café e preparo da bebida 29
4.2.1. Amostras de café 29
4.2.2. Preparo da bebida 29
4.3. Avaliação da atividade antioxidante pelo método radical DPPH 30
4.4. Avaliação da atividade antioxidante pelo método radical ABTS 30
4.5. Determinação dos compostos fenólicos totais – Método de Folin-Ciocalteau 31
4.6. Determinação dos compostos fenólicos 31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 33
5.1. Avaliação da atividade antioxidante e determinação dos fenólicos totais 34
5.2. Identificação dos compostos 37
5.2.1. Soluções padrão 37
5.2.2. Escolha do método de extração 38
5.2.3. Amostras 39
5.3. Quantificação do teor dos compostos identificados 59
5.4. Análises de componentes principais (PCA) 62
6. CONCLUSÃO 65
REFERÊNCIAS 67

RESUMO

Comparação das espécies químicas não volatéis entre cafés especiais e tradicionais

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo e de alto valor econômico. As duas espécies mais comercializadas são *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, sendo que a primeira tem maior valor comercial e qualidade sensorial. O segmento de mercado para cafés vem se expandido. Os cafés especiais referem-se aos cafés de mais alta qualidade que apresentam, após a torra, atributos especiais na prova da xícara e altas pontuações. O grão de café apresenta na constituição diferentes compostos voláteis e não voláteis que são os responsáveis pelos atributos de sabor e aroma; o consumo da bebida também está associado a uma série de benefícios para saúde, como a atividade antioxidante. O objetivo do trabalho foi avaliar a composição química das espécies não voláteis de cafés especiais e tradicionais e correlacionar a qualidade da bebida com os parâmetros sensoriais. Foram analisadas 17 amostras, sendo 8 de cafés especiais da região Alta Mogiana da espécie *Coffea arabica* e 9 de cafés tradicionais adquiridos no comércio local. Determinação da atividade antioxidante para as amostras foram realizadas pelos métodos DPPH e ABTS e os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteau. A composição química dos compostos não voláteis foi avaliada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Os compostos identificados foram cafeína, ácido clorogênico, ácido cafeico e ácido nicotínico para as amostras de cafés especiais e tradicionais e o composto 5-hidroximetilfurfural identificado somente para cafés especiais. Os cafés especiais apresentaram níveis maiores para ácido clorogênico, ácido cafeico e 5-hidroximetilfurfural, sendo compostos associados aos atributos de aroma e sabor do café, contribuindo para as características únicas de cada amostra assim classificada. A ausência dos compostos 5-hidroximetilfurfural e os baixos teores de ácido clorogênico e ácido cafeico nos cafés tradicionais sugerem que esses cafés sofreram torrefação acentuada, o que contribuiu para a degradação dos compostos e também para a perda de características sensoriais. O alto teor de cafeína para esses cafés indica formulação de *blends* em maior parte constituída por café robusta, espécie essa de menor qualidade em relação à arábica. Com as análises dos componentes principais foi possível estabelecer relação entre os teores dos compostos quantificados com a classificação em especial e tradicional, com as notas sensoriais para o café especial e a relação entre a atividade antioxidante e as concentrações dos compostos fenólicos.

Palavras-chave: Cafés, Cafés especiais, Compostos não voláteis, Perfil cromatográfico

ABSTRACT

Comparison of non-volatile chemical species between special and traditional coffees

Coffee is one of the most consumed drinks in the world, besides having a high economic value. The most sold species are *Coffea arabica* and *Coffea canephora*, and the former has a higher commercial value and sensory quality. The market segment for coffees is expanding. The special coffees concern products that present a higher quality after roasting, special attributes when tasting, and high scores. The coffee bean presents different volatile and non-volatile compounds in its formation, which are responsible for flavor and aroma attributes, and its consumption is also associated with a lot of health benefits, such as antioxidant activity. The aim of this study was to evaluate the chemical composition of non-volatile species of special and traditional coffees and correlate their quality according to sensorial parameters. 17 samples were analyzed: 8 special coffees from the region of Alta Mogiana, the *Coffea arabica* species, and 9 traditional coffees acquired at the local market. Determinations of the antioxidant activity were carried out through the DPPH and ABTS methods and total phenolic compounds were determined through the Folin-Ciocalteau method. The chemical composition of the non-volatile compounds was studied by high performance liquid chromatography. The identified compounds were caffeine, chlorogenic acid, caffeic acid and nicotinic acid for special and traditional coffee samples, and the 5-hydroxymethylfurfural compound was identified only in special coffees. The special coffees presented higher levels of chlorogenic acid, caffeic acid, and 5-hydroxymethylfurfural, which are associated with coffee flavor and aroma attributes contributing for unique characteristics of each classified sample. The absence of 5-hydroxymethylfurfural compounds and the low level of chlorogenic acid and caffeic acid in traditional coffees suggest that these coffees went through steep roasting, which contributes for the compounds degradation and also for the loss of sensorial characteristics. The high level of caffeine for these coffees indicates formulation of blends and, mostly, it is formed by the robust coffee, which is a species that shows lower quality compared to the arabic one. By analyzing the main compounds, it was possible to correlate the levels of the quantified compounds and classification as special or traditional; a link between the levels of the quantified species and sensorial notes for the special coffee; and a link between the antioxidant activity and the concentrations of phenolic compounds.

Keywords: Coffes, Special coffees, Non-volatile compounds, Chromatographic profile

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural da cafeína. 23
Figura 2. Estrutura química do ácido clorogênico. 23
Figura 3. Reação de captura do DPPH$^{\bullet}$. 26
Figura 4. Estabilização do radical ABTS$^{\cdot+}$ por antioxidante na presença de persulfato de potássio. 27
Figura 5. Reação do ácido gálico com reagente de Folin-Ciocalteau. 27
Figura 6. Cromatograma em triplicata da amostra C1. 42
Figura 7. Cromatograma em triplicata da amostra C2. 43
Figura 8. Cromatograma em triplicata da amostra C3. 44
Figura 9. Cromatograma em triplicata da amostra C4. 45
Figura 10. Cromatograma em triplicata da amostra C5. 46
Figura 11. Cromatograma em triplicata da amostra C6. 47
Figura 12. Cromatograma em triplicata da amostra C7. 48
Figura 13. Cromatograma em triplicata da amostra C8. 49
Figura 14. Cromatograma em triplicata da amostra C9. 50
Figura 15. Cromatograma em triplicata da amostra C10. 51
Figura 16. Cromatograma em triplicata da amostra C11. 52
Figura 17. Cromatograma em triplicata da amostra C12. 53
Figura 18. Cromatograma em triplicata da amostra C13. 54
Figura 19. Cromatograma em triplicata da amostra C14. 55
Figura 20. Cromatograma em triplicata da amostra C15. 56
Figura 21. Cromatograma em triplicata da amostra C16. 57
Figura 22. Cromatograma em triplicata da amostra C17. 58
Figura 23. PCA 1 62
Figura 24. PCA 2 63
Figura 25. PCA 3 64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Teores de alguns constituintes de grãos crus e torrados da espécie *Coffea arabica*. 21

Tabela 2. Conteúdo de compostos fenólicos em diferentes tipos de café arábica. 24

Tabela 3. Metodologias de extração avaliadas nas análises cromatográficas. 30

Tabela 4. Curvas de calibração dos compostos identificados nas amostras de cafés. 32

Tabela 5. Parâmetros sensoriais das amostras de cafés especiais. 33

Tabela 6. Valor comercial dos cafés tradicionais analisados. Comprados em 18/07/2019. .. 34

Tabela 7. Atividade antioxidante para as amostras de cafés pelos métodos DPPH e ABTS. 35

Tabela 8. Compostos fenólicos totais para as amostras de cafés determinados pelo método de Folin-Ciocalteau. 37

Tabela 9. Descrição das soluções padrão avaliadas por cromatografia e empregadas para a identificação dos compostos nas amostras de cafés. 38

Tabela 10. Perfis cromatográficos para os extratos obtidos por infusão. A: cafeína; B: ácido clorogênico e C: ácido cafeico. Para os picos B e C são apresentados o valor da resolução (Rs). 40

Tabela 11. Compostos identificados para as amostras de cafés. 41

Tabela 12. Teores de cafeína, CGA, ácido cafeico, HMF e ácido nicotínico em amostras de cafés especiais e tradicionais. 59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3-CQA – ácido 3-cafeoilquínico

5-CQA – ácido 5-cafeoilquínico

5-*p*-CoQA – ácido *p*-coumaroilquínico

ABTS – 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

ACAF – Ácido Cafeico

AN – Ácido Nicotínico

CGA – Ácido Clorogênico

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

CQA – Ácido Cafeolquínico

diCQA – Ácido Dicafeolquínico

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

EAG – Ácido gálico

FQA – Ácido Feruloliquínico

FRAP – Poder Antioxidante Redutor Férrico

HMF – 5-hidroximetilfurfural

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

PCA – Análises de Componentes Principais

PTFE – Membrana politetrafluoretileno

Rs – Resolução

SCAA – *Specialty Coffee Association of America*

TEAC – Capacidade Antioxidante Equivalente de Trolox

Tr – Tempo de retenção

TROLOX – ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico

UV – Ultravioleta

Vis – Vísivel

1. INTRODUÇÃO

O café representa produto alimentar de significativa importância econômica global, além de ser ícone de crescente movimento cultural. A qualidade do café é resultante de grande número de fatores determinantes, como o sistema de produção, os aspectos e a composição química dos grãos verdes ou torrados, o processo de torrefação e preparação (CRAIG *et al.*, 2018).

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo (BELGUIDOUM *et al.*, 2014). O Brasil é o maior produtor e exportador de café do mundo e o segundo maior consumidor de café. As projeções para 2019, divulgadas no levantamento de maio sobre a safra Brasileira de Café, realizada pela Companhia Nacional de Abastecimento, prevêm produção de 50,92 milhões de sacas beneficiadas (BRASIL, 2019).

Entre as principais regiões produtoras de café no país estão: Mogiana Paulista; Sul, Cerrado e Matas de Minas; Bahia; Paraná; Espírito Santo e Rondônia; nas regiões do Sul e Cerrado de Minas e Mogiana Paulista concentra a produção dos cafés de melhor qualidade. Em especial a Mogiana Paulista, que está localizada no interior do Estado de São Paulo divisa com o Estado de Minas Gerais, compreende região tradicional do cultivo de café arábica, em solo arenoso com altitude entre 900 a 1000 m, conhecida pelos cafés com bastante corpo e aroma de doçura natural (MARQUES, 2005).

Novas formas de consumir o café deram início a novo segmento de mercado, o de cafés especiais, marcado pelo consumo com o foco na qualidade, diferenciação e características especiais do café que agregam valor ao produto (SEPÚLVEDA *et al.*, 2016).

Os cafés que apresentam diversidade de sabores e atributos são classificados como cafés de alta qualidade sensorial. A altitude e o período de exposição à luminosidade são os aspectos edafoclimáticos que mais influenciam a qualidade sensorial do café (ZAIDAN *et al.*, 2017). Em regiões com temperaturas mais amenas e em maiores altitudes, o tempo requerido na formação de frutos é maior, contribuindo para o maior acúmulo de constituintes químicos que estão relacionados com a melhor qualidade da bebida do café (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2009; ZAIDAN *et al.*, 2017).

Além dos fatores de produção e processamento do café, os compostos químicos nos grãos de café são resultado de atributos que juntos conferem ao café sabor e aromas peculiares (MALTA *et al.*, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2009). A combinação dos componentes químicos do grão de café define a qualidade da bebida tanto do ponto de vista sensorial quanto da saúde do consumidor. Entre os principais componentes químicos encontrados no grão cru do café e responsáveis pelas características sensoriais, destacam, cafeína, açúcares (glicose, frutose e sacarose), trigonelina, proteínas e fenóis, a fração lipídica e os

ácidos orgânicos e inorgânicos como ácidos clorogênico, cítrico, acético, quínico e fosfórico (SALVA; LIMA, 2007).

A qualidade do café é avaliada pela prova da xícara, determinada por atributos sensoriais avaliados pelos provadores treinados, sendo a classificação *"Specialty Coffee Association of America"* (SCAA) considerada hoje a mais adequada. Painéis de provadores de café treinados são usados pela indústria para descrever e avaliar a qualidade da bebida, porém essas avaliações podem ser subjetivas e demandar muito tempo (BELCHIOR *et al.*, 2019).

Apesar da confiabilidade da prova da xícara para a avaliação da qualidade da bebida para fins comerciais, novas ferramentas, simples, rápidas e objetivas para análises rotineiras de bebidas de café são de interesse científico e tecnológico (RIBEIRO; FERREIRA; SALVA, 2011).

Trabalhos reportados na literatura uitlizam a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção no ultravioleta (UV) para a identificação e quantificação de compostos não voláteis em cafés (BELGUIDOUM *et al.*, 2014). A maior parte dos trabalhos investiga a composição dos grãos de cafés verdes e torrados, efeito dos diferentes estágios de torra, diferenças entre as espécies de café (arábica e robusta) e em diferentes condições de preparo. No entanto, há escassez da determinação de espécies não voláteis para cafés especiais e tradicionais associada aos parâmetros sensoriais.

2. OBJETIVOS

Analisar a composição química das espécies não voláteis de cafés especiais e tradicionais e correlacionar com a classificação da bebida.

2.1. Objetivos específicos

- Avaliar o potencial antioxidante empregando DPPH e ABTS;
- Quantificar os compostos fenólicos totais das amostras de cafés especiais e tradicionais;
- Obter o perfil cromatográfico dos compostos não voláteis das respectivas amostras;
- Identificar e quantificar os compostos não voláteis;
- Correlacionar os compostos não voláteis às notas sensoriais, à classificação em especial e tradicional e à atividade antioxidante empregando análises de componentes principais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Café

A cafeicultura no país tem mais de 200 anos. O café entrou no Brasil pela Guiana Francesa (no século XVIII) como mudas clandestinas, inicialmente plantadas no Pará. Rapidamente, as mudas foram levadas para cultivo na região Nordeste e espalhou por toda extensão territorial tendo adaptado melhor na região Sudeste, a principal região produtora do país. O café foi, por quase um século, a grande riqueza brasileira, influenciando no surgimento de várias cidades no interior do país e no desenvolvimento econômico. Com o tempo, o consumo do café tornou hábito e tradição no país. Hoje, o fruto continua sendo o produto mais importante para a economia nacional (COOPERATIVA DE CAFEICULTORES E AGROPECUARISTAS, 2018).

Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o parque cafeeiro brasileiro está estimado em 2 milhões de hectares, sendo 300 mil produtores (predominantemente micro e pequenos produtores), distribuídos em aproximadamente 1900 municípios nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo, Bahia, Rondônia, Paraná, Rio de Janeiro, Goiás, Mato Grosso, Amazonas e Pará. Devido à dimensão continental, o Brasil possui variedade de climas, relevos, altitudes e latitudes que permitem a produção de ampla gama de tipos e qualidades de cafés. Além disso, a cafeicultura brasileira é das mais exigentes do mundo em questões sociais e ambientais, visando garantir a produção de café sustentável (BRASIL, 2018).

Bebida aromática e de consumo disseminado pelo mundo, o café tem hoje alta importância na economia, sendo um dos principais produtos de exportação. O café pertence à família das Rubiaceas e ao gênero *Coffea L.* e entre as várias espécies do gênero identificadas até o momento, duas destas variedades são economicamente e comercialmente importantes, *Coffea arabica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café robusta) (ALVES *et al.*, 2006; BARBIN *et al.*, 2014). Essas espécies correspondem, a cerca de 72 e 28%, respectivamente para as espécies arábica e robusta, da produção nacional estimada para safra de 2018/2019 (BRASIL, 2019). As espécies diferenciam consideravelmente em preço, qualidade, aceitação do consumidor e também no perfil de compostos voláteis (RODARTE, 2008).

Os grãos de café arábica são de maior valor comercial por serem considerados de sabor mais fino e de maior apreciação pelos consumidores do que os grãos de café robusta, conhecido como café conilon. Atualmente, a maioria dos cafés comercialmente disponíveis são produzidos a partir de grãos torrados de café arábica e robusta ou por *blends* das duas

variedades (BARBIN *et al.*, 2014). No Brasil, o cultivo do café arábica predomina nas lavouras de Minas Gerais, seguido por São Paulo, Espírito Santo e Bahia (BRASIL, 2018). São variedades dessa espécie, os cafés Catuaí, Catucaí, Mundo Novo, Rubi, Bourbon, entre outras (COOPERATIVA DE CAFEICULTORES E AGROPECUARISTAS, 2018).

No Brasil, o café arábica é classificado de acordo com a qualidade da prova da xícara em até sete categorias, ou seja, mole, estritamente mole, apenas mole, dura, riada, rio, rio zona. Café robusta, reconhecido pela aparência e sabor de madeira e terra, classificado pela prova da xícara em 4 categorias, ou seja, excelente, bom, regular e anormal (CRAIG *et al.*, 2018).

As duas principais espécies (arábica e robusta) diferem em composição da seguinte forma: quantidades de carboidratos, lipídeos e trigonelina são maiores no café arábica, enquanto as quantidades de ácidos clorogênicos e cafeína são maiores no robusta (VITORINO *et al.*, 2001).

3.2. Cafés especiais

As novas formas de consumo do café e a mudança nas preferências dos consumidores possibilitaram ascensão do mercado de cafés especiais. Os cafés especiais referem a mais alta qualidade de grãos de café verde, de origem geográfica conhecida e incluem os grãos de café certificados como café orgânico, comércio justo e produção sustentável. São características dos grãos de café verde de alta qualidade apresentar pouco ou nenhum defeito físico e quando torrados apresentam atributos especiais na prova da xícara com altas pontuações (TOLESSA *et al.*, 2016).

Definir o termo “café especial” é ainda muito difícil, pois as definições são diferentes entre consumidores e profissionais e também dentro do mesmo segmento. Sepúlveda (2016) ao sintetizar três definições oficiais desenvolvidas pela SCAA, pela Associação de Cafés Especiais da Europa e pela Federação Colombiana de Cafeicultores, destacou que a classificação de cafés especiais é baseada em dois aspectos importantes: extrínsecos do sistema de produção e intrínsecos do produto, como o paladar. No ponto de vista do consumidor, o café é considerado especial quando percebido e valorizado pelos consumidores por características únicas que o diferenciam de outros cafés convencionais (SEPÚLVEDA *et al.*, 2016).

Para a classificação dos cafés especiais, os aspectos físicos do cultivo e a qualidade sensorial são fatores decisivos. A qualidade física, presença ou ausência de grãos defeituosos, matéria estranha, odor, cor, tamanho e forma dos grãos. A prova da xícara é determinada por atributos da bebida avaliada sensorialmente por provadores treinados,

usando terminologias estabelecidas para a avaliação sensorial de cafés, como sabor, acidez, corpo, entre outros (BELCHIOR *et al.*, 2019).

A SCAA considera que um lote de café especial deve atender aos requisitos de três tipos de verificações, sendo duas de natureza física e uma de natureza sensorial. As verificações de natureza física são feitas: no grão cru e após a torra. Em geral, as verificações de natureza física consideram os defeitos dos grãos. Na avaliação sensorial são avaliados os atributos da bebida: fragrância/aroma, uniformidade, ausência de defeitos, doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio e avaliação geral. Com base nesses atributos, o café recebe nota final e é classificado. Café especial é todo aquele que atinge no mínimo 80 pontos na escala de pontuação da metodologia (máximo de 100 pontos) (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2008).

Devido à crescente demanda global por cafés especiais, há igual demanda por métodos objetivos e confiáveis para a avaliação da qualidade do produto e, eventualmente, de outros compostos químicos presentes nos grãos de café que possam assim complementar as avaliações sensoriais como a prova da xícara (TOLESSA *et al.*, 2016).

3.3. Qualidade

A qualidade é um aspecto muito importante para a indústria cafeeira moderna, um produto de alta qualidade é a base para o sucesso no mercado particularmente competitivo atualmente (BARBIN *et al.*, 2014).

Segundo Getachew e Chun (2019), o sabor do café é o resultado de várias etapas e processos que envolvem desde o grão cru até o corpo. A espécie ou variedade do grão, a origem geográfica, o tipo de processamento do café cru (processamento seco ou úmido), o grau de torrefação (claro, médio ou escuro) e as técnicas de fabricação são os fatores influenciadores na formação do sabor e do perfil do café. Para a formação do sabor, o processo de torrefação é ainda considerado o fator mais importante.

A torra do café é importante para a preservação da qualidade. Ponto de torra médio (tons achocolatados) é o mais indicado para grãos de alta qualidade, para a potencialização do perfil sensorial e preservação dos óleos essenciais. Cafés de qualidade inferior geralmente passam por processo de torra muito intenso, deixando os grãos extremamente escuros e oleosos com intuito de mascarar alguns defeitos (BEZZAN; DULGHEROFF, 2016).

Os grãos de café verde contêm diferentes compostos químicos que reagem e interagem ao longo de todo o estágio da torrefação, resultando em produtos finais diversificados (CRAIG *et al.*, 2018). Bebida de boa qualidade é descrita por ter aroma,

sensação agradável, combinação equilibrada de sabor e ausência de falhas no corpo. O sabor é o parâmetro mais importante para o consumidor. Consequentemente, o número de pesquisas que estudam as propriedades sensoriais e a composição do café é crescente (SUNARHARUM; WILLIAMS; SMYTH, 2014).

Cada país produtor tem uma metodologia para a avaliação da qualidade do café, aquelas de classificação SCAA são consideradas as mais adequadas para os cafés especiais devido ao uso de protocolos específicos recomendados para as análises sensoriais. Esses protocolos são baseados em métodos objetivos de avaliação como presença ou ausência de defeitos e doçura, o que minimizam as subjetividades em relação as outras metodologias (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2008; BELCHIOR *et al.*, 2019).

Na prova da xícara, o atributo aroma é considerado como a percepção olfativa dos gases liberados da infusão do café torrado e moído, enquanto o sabor é considerado a combinação das sensações causadas pelos compostos químicos da bebida quando introduzidas à boca. O atributo qualidade global é a percepção conjunta do sabor, aroma e outros atributos avaliados durante a análise (RIBEIRO *et al.*, 2010).

No Brasil, conforme a Instrução Normativa nº 8, de 11 de junho de 2003 do MAPA, a técnica empregada para a classificação da bebida do café é a prova da xícara que consiste na sorção, degustação e descarte da bebida. A determinação da qualidade do café brasileiro compreende duas diferentes fases de classificação: tipos ou defeitos do grão e pela bebida. Além disso, o café pode ser classificado por: peneira, cor, torrefação e descrição (BRASIL, 2003).

3.4. Composição Química

O grão de café apresenta na constituição química diferentes componentes voláteis e não voláteis: ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, trigonelina, compostos fenólicos e cafeína. Esses compostos são responsáveis pelos atributos de sabor e aroma característicos do café (NASCIMENTO, 2006). Vários trabalhos buscaram correlacionar a qualidade do café com a composição química, com o objetivo de complementar a classificação sensorial (FARAH; DONANGELO, 2006; RODARTE, 2008; FIGUEIREDO, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2010; BRESSANELLO *et al.*, 2017; RIBEIRO, 2017; CRAIG *et al.*, 2018; BELCHIOR *et al.*, 2019).

O café é formando por compostos voláteis e não voláteis (FELDMAN; RYDER; RUNG, 1969). As substâncias voláteis são responsáveis pelo aroma e as não voláteis pelas sensações de acidez, amargura e adstringência (BUFFO; CARDELLI-FREIRE, 2004).

O sabor e o aroma da bebida são altamente complexos, sendo resultantes da ação combinada de mais de 800 compostos voláteis. Os compostos não voláteis do café são importantes, pois são precursores dos compostos voláteis (VITORINO *et al.*, 2001; FARAH; DONANGELO, 2006).

Na Tabela 1 são listados alguns constituintes dos grãos crus e torrados (espécie *Coffea arabica*) responsáveis pelos atributos de sabor e aroma característicos do café.

Tabela 1. Teores de alguns constituintes de grãos crus e torrados da espécie *Coffea arabica*.

Constituintes	Grãos crus (% m/m)	Grãos torrados (% m/m)
Cafeína	0,9 – 1,2	1,0 – 1,3
Trigonelina	1,0 – 1,2	0,5 – 1,0
Cinzas	3,0 – 4,2	3,0 – 4,5
Ácido clorogênico	5,5 – 8,0	2,2 – 4,5
Outros ácidos	1,5 – 2,0	1,0 – 2,4
Sacarose	6,8 – 8,0	0
Açúcares redutores	0,1 – 1,0	0,2 – 0,3
Polissacarídeos	44,0 – 55,0	24,0 – 39,0
Proteínas	11,0 – 13,0	7,8 – 10,4
Lipídeos	14,0 – 16,0	14,0 – 20,0
Sólidos solúveis	23,8 – 27,3	26,0 – 30,0

Fonte: Abrahão *et al.,* (2010).

3.4.1. Compostos não voláteis

Os compostos fenólicos são essenciais para os vegetais porque estão relacionados ao crescimento e reprodução, além de atuarem como agentes antioxidantes, antipatogênicos e contribuírem na pigmentação. Em alimentos são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK; SHAHIDI, 2004). No café, os compostos fenólicos presentes contribuem na formação do sabor e aroma característicos da bebida, além de apresentarem propriedades fisiológicas e farmacológicas (ABRAHÃO *et al.*, 2010).

Os compostos fenólicos não voláteis encontrados no café torrado são: cafeína; trigonelina e seus derivados (ácido nicotínico e N-metilnicotinamida); as proteínas e peptídeos que não sofreram reação de Maillard; polissacarídeos (celulose, hemicelulose, arabinogalactana e pectinas) que desempenham importante papel na retenção de voláteis e contribuem para a viscosidade da bebida. Também são encontrados minerais; ácidos húmicos; melanoidinas; ácidos carboxílicos, principalmente cítrico, málico e acético que são responsáveis pela acidez; os ácidos clorogênicos, principalmente cinâmico, cafeico, ferúlico, isoferúlico e sinápico e o produto principal de degradação, o ácido quínico, e os lipídeos,

incluindo triglicérides, terpenos, tocoferóis e esteróis que contribuem para a viscosidade da infusão (BUFFO; CARDELLI-FREIRE, 2004).

O ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) é o representante majoritário do grupo dos ácidos clorogênicos, intensamente degradado durante a torrefação, originando pigmentos e compostos voláteis aromáticos. Os diterpenos caveol e cafestol, encontrados somente no café, estão presentes na fração lipídica insaponificável e são pouco sensíveis ao processo de torrefação (SOUZA *et al.*, 2010).

O hidroximetilfurfural (HMF) é composto intermediário formado na reação de Maillard que pode ser também formado pela degradação de hexoses em altas temperaturas e meio ácido. A sua formação é paralela à degradação da sacarose durante o processo de torra do café que é iniciada a 170ºC e atinge o máximo a 230ºC, ocorrendo rápida decomposição em temperaturas superiores (RUFIAN-HENARES; GARCIA-VILLANOVA; GUERRA-HERNANDEZ, 2001; VIGNOLI, 2009).

A trigonelina, presente em altas quantidades no café verde, que é degradada ao longo do estágio de torra, acarretando na formação de diversos compostos voláteis derivados de piridina e pirrol, como também na formação de outros compostos não voláteis como o ácido nicotínico e niacina (VITORINO *et al.*, 2001).

Trigonelina, cafeína e ácidos clorogênicos são facilmente solubilizados em água quente, portanto estarão presentes também na bebida (NOGUEIRA; TRUGO, 2003).

Ácido nicotínico, trigonelina, ácido clorogênico e cafeína têm sido estudados por HPLC tanto para discriminação das espécies, quanto para avaliação do grau de torra, qualidade e propriedades funcionais do café (ALVES *et al.*, 2006).

3.4.1.1. Cafeína

A cafeína é conhecida por propriedades fisiológicas e farmacológicas, principalmente em relação à redução do sono e propriedades estimulantes. Embora apresente sabor amargo e grande estabilidade térmica, o que garante retenção após o processo de torra, não há definição clara na participação sensorial na bebida do café (NOGUEIRA; TRUGO, 2003).

A cafeína é a substância bioativa, Figura 1, mais ingerida rotineiramente em todo o mundo, alcaloide natural encontrado em mais de 60 plantas, incluindo grãos de café, folhas de chá, nozes de cola e vagens de cacau. A concentração varia dependendo do tipo de produto, fatores agronômicos e ambientais e processamento (MEJIA; RAMIREZ-MARES, 2014). Além disso, compõe 1 a 2,5% (café arábica) do total da bebida do café

(NASCIMENTO, 2006). A quantidade desse composto é cerca de 30 a 54 mg por 100 mL da bebida do café (TOFALO *et al.*, 2016).

A técnica mais empregada para a identificação e quantificação da cafeína é o HPLC com detecção UV entre 272 a 280 nm (CHAMBEL *et al.*, 1997; ALVES *et al.*, 2006; BELGUIDOUM *et al.*, 2014; CAPRIOLI *et al.*, 2014; VIGNOLI *et al.*, 2014; JEON *et al.*, 2017; ROMERO, 2017; ANGELONI *et al.*, 2018).

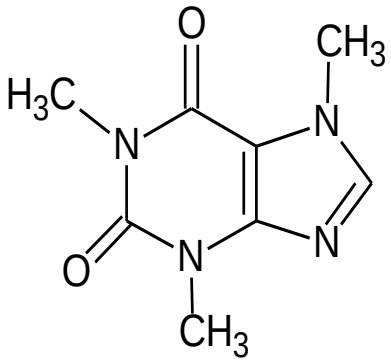
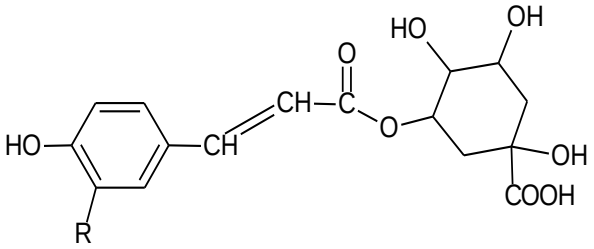


Figura 1. Fórmula estrutural da cafeína.

3.4.1.2. Ácidos Clorogênicos

Ácidos clorogênicos e compostos relacionados são os principais componentes da fração fenólica dos grãos de café verde, formados principalmente pela esterificação de ácido quínico e derivados do ácido *trans*-cinâmico (cafeína, ácido *p*-cumárico e ferúlico), atingindo níveis de até 14% (matéria seca) (FARAH; DONANGELO, 2006).

Os CGAs são divididos em principais subgrupos: ácido cafeoilquínico (3-, 4- e 5-CQA); ácido dicafeoilquínico (3-, 4-, 5-, 3,5-, e 4,5-diCQA); ácido *p*-coumaroilquínico (3-, 4- e 5-*p*-CoQA) e ácido cafeoil-feruloilquínico (3-, 4- e 5-FQA) (CLIFFORD, 1999; ROSTAGNO *et al.*, 2015; JEON *et al.*, 2017). A Figura 2 apresenta a estrutura química do ácido clorogênico.



Derivados	R
5 – CQA	OH
5 – FQA	OCH_3
5 – *p*-CoQA	H

Figura 2. Estrutura química do ácido clorogênico.

Ao longo da torra, os compostos fenólicos são decompostos em compostos voláteis menores, dióxido de carbono e materiais poliméricos. Esses compostos podem conferir

diferentes características sensoriais aos produtos, como aroma de especiarias, fumo, madeira queimada, amargor e sensação de adstringência (ROSTAGNO *et al.*, 2015).

Cerca de 32 a 52% dos ácidos clorogênicos são degradados ao longo do processo de torra e são geradas espécies como ácido quínico e cafeico (VITORINO *et al.*, 2001; ROSTAGNO *et al.*, 2015). Em condições de torrefação drásticas podem ocorrer perdas de até 95% de CGA e o conteúdo total encontrado comercialmente em café torrado pode variar de 0,5 a 7% (m/m) (FARAH; DONANGELO, 2006).

Estudos relataram que alguns componentes dos ácidos clorogênicos podem ser incorporados às melanoidinas durante o processo de torra, os CGAs podem ser isomerizados, hidrolisados ou degradados em compostos de baixo peso molecular. As altas temperaturas da torrefação produzem quinolactonas e melanoidinas, a partir dos CGAs (FARAH; DONANGELO, 2006; ALMEIDA; BENASSI, 2011).

Na Tabela 2 estão apresentados os conteúdos de compostos fenólicos em diferentes tipos de café arábica.

Tabela 2. Conteúdo de compostos fenólicos em diferentes tipos de café arábica.

Tipo de Café	CQA	FQA	diCQA	CGA total
	g/100 g da matéria seca			
Grãos verdes	3,26 – 7,66	0,19 – 1,43	0,45 – 2,31	4,10 – 11,30
Grãos torrados	0,38 – 3,23	0,06 – 0,34	0,03 – 0,24	0,47 – 2,66
Descafeinado	5,19 – 6,14	0,32 – 0,45	0,61 – 0,77	6,13 – 7,47
Café solúvel	0,63 – 5,28	0,06 – 1,16	0, 03 – 0,53	0,72 – 6,97
Café solúvel descafeinado	3,33 – 4,73	0,60 – 0,84	0,17 – 0,28	4,10 – 5,85

Fonte: Rostagno *et al.,* (2015)**.**

A extração de ácidos clorogênicos da bebida depende da moagem, método de fermentação, temperatura, proporção e tempo de contato com a água. Temperaturas abaixo de 100ºC resultam em maior extração de CGA, sendo que a maior taxa de extração geralmente ocorre nos primeiros 2 min a 93ºC (FARAH; DONANGELO, 2006).

Estudos identificaram e quantificaram os CGAs presentes no café utilizando HPLC com detecção UV entre 310 a 330 nm e espectrometria de massa (NOGUEIRA; TRUGO, 2003; BELGUIDOUM *et al.*, 2014; VIGNOLI *et al.*, 2014; JEON *et al.*, 2017; KÖSEOGLU YILMAZ; KOLAK, 2017; ROMERO, 2017; ANGELONI *et al.*, 2018).

3.4.2. Antioxidantes

A atividade antioxidante é a capacidade do composto de inibir a degradação oxidativa. Essa ação em alimentos envolve pelo menos duas questões: o potencial

antioxidativo, que é determinado pela composição e propriedades antioxidantes dos constituintes e os efeitos biológicos que dependem, entre outras coisas, da biodisponibilidade do antioxidante (ROGINSKY; LISSI, 2005).

Os antioxidantes podem ser classificados em duas classes, como primários, atuando como doadores de prótons, impedindo o processo de iniciação desencadeado pelos radicais livres, exemplos compostos fenólicos, aminoácidos, tocoferol e carotenoides. Os secundários, atuam no bloqueio da decomposição dos peróxidos e hidroperóxidos, convertendo na forma inativa por ação de agentes redutores, bloqueando a reação em cadeia através da captação de intermediários reativos como os radicais peroxila e alcoxila. Nesse grupo são também caracterizados os antioxidantes sintéticos, as vitaminas A e E e os compostos fenólicos (DONNELLY; ROBINSON, 1995). Em alimentos, os compostos fenólicos são fonte de maior destaque como antioxidantes e as propriedades benéficas são atribuídas à capacidade sequestradora de radicais, principalmente devido às hidroxilas vicinais ligadas ao anel aromático (HALLIWELL *et al.*, 1995).

Muitos estudos estão sendo focados no potencial antioxidante do café devido aos constituintes naturais e aos compostos formados durante a torra (ABRAHÃO *et al.*, 2010; ALVES *et al.*, 2010; VIGNOLI *et al.*, 2014; PAULA *et al.*, 2015; ANGELONI *et al.*, 2018). Os principais compostos responsáveis pela atividade antioxidante no café torrado são compostos fenólicos naturalmente encontrados nos grãos verdes de café, como os ácidos clorogênicos e as melanoidinas (ALVES *et al.*, 2010).

Os ácidos clorogênicos, por exemplo, apresentam propriedades antioxidantes, atividades anti-inflamatórias e antiangiogênicas e estão presentes em quantidades de 35 a 175 mg por 100 mL da bebida do café (TOFALO *et al.*, 2016). O HMF, composto fenólico importante e intermediário na reação de Maillard, apresenta atividade antioxidante semelhante ao 2,6-dibutil-4-metilfenol e α-tocoferol (SINGHARA; MACKU; SHIBAMOTO, 1998).

No estudo da atividade antioxidante em bebidas do café preparadas por diferentes procedimentos realizado por Sánchez-González *et al.* (2005) foi possível observar que as amostras de torra mais escura apresentaram maior ação antioxidante que as de torra média e esse efeito foi relacionado ao aumento dos produtos da reação de Maillard durante o processo.

Vignoli *et al.* (2014), que monitoraram o potencial antioxidante de compostos como 5-CQA, cafeína, trigonelina e produtos da reação de Maillard (melanoidinas, furfurais, hidroximetilfurfural) durante o processo de torrefação de café arábica e robusta, observou que a atividade antioxidante do café foi resultado da contribuição de diferentes compostos. No entanto, os níveis de 5-CQA, trigonelina, furfural e HMF diminuíram com o grau de

torrefação e o nível das melanoidinas aumentou. Assim, a atividade antioxidante do café depende dos compostos formados e degradados durante o processo de torrefação.

Diferentes métodos são usados para quantificar a capacidade antioxidante, porém não existe método universal único. Os métodos que têm sido utilizados para avaliar o potencial antioxidante de café incluem FRAP (Poder Antioxidante Redutor Férrico), ABTS [2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) e a determinação dos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteau (BORRELLI *et al.*, 2002; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2007; MORAIS *et al.*, 2008; VIGNOLI, 2009; ABRAHÃO *et al.*, 2010; PAULA *et al.*, 2015; CRUZ *et al.*, 2017).

O método DPPH determina o potencial antioxidante de compostos fenólicos isolados ou presentes em alimentos e outras amostras biológicas. O método é baseado na capacidade do radical livre estável DPPH, reagir com compostos doadores de H^+, o que pode interromper as reações oxidativas em cadeia. O DPPH pode reagir com compostos fenólicos, bem como com ácidos aromáticos contendo apenas um grupamento, mas não reage com flavonoides (YOKOZAWA *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2007). Durante a reação ocorre a conversão do radical DPPH em DPPH-H, o que resulta em decréscimo do sinal analítico em 515 nm (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). A Figura 3 sistematiza a captura do radical DPPH.

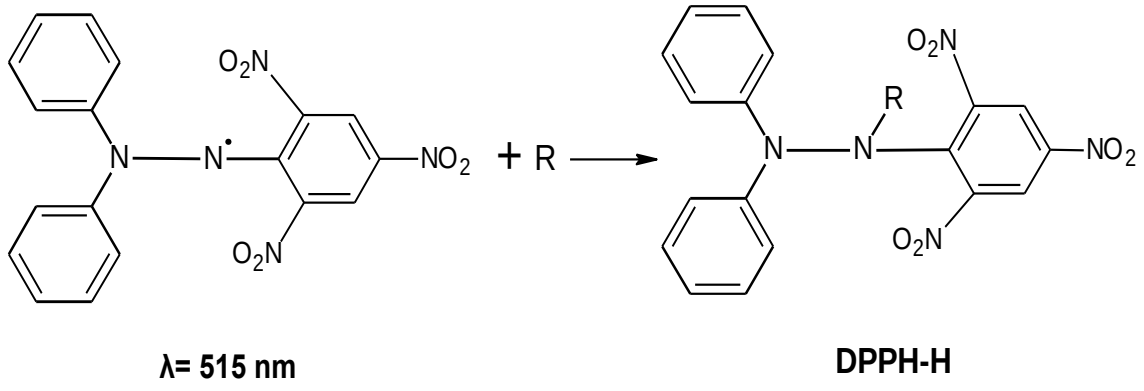


Figura 3. Reação de captura do DPPH•.

A determinação da atividade antioxidante pelo método do ABTS é baseada na capacidade das substâncias antioxidantes em capturar o radical livre, monitorada pela descoloração em 734 nm (RE *et al.*, 1999; JIA *et al.*, 2012; SUCUPIRA *et al.*, 2012). A Figura 4 demonstra como ocorre a estabilização do radical $ABTS^{\bullet+}$ por antioxidante na presença de persulfato de potássio.

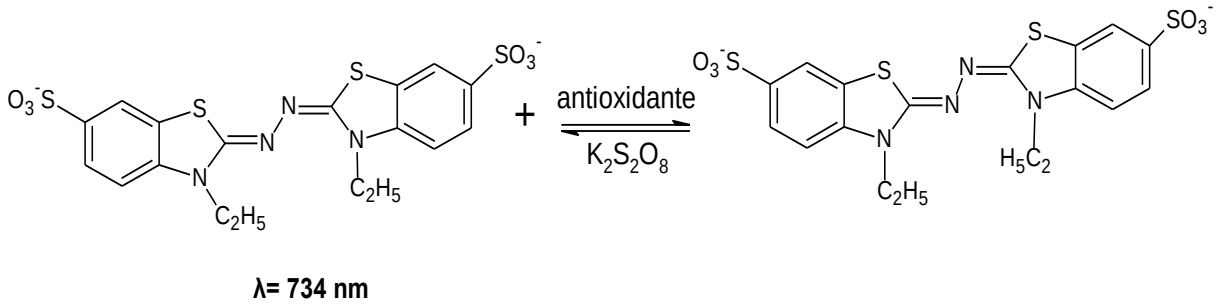


Figura 4. Estabilização do radical $ABTS^{\cdot+}$ por antioxidante na presença de persulfato de potássio.

Para a quantificação dos compostos fenólicos totais, diferentes metodologias podem ser empregadas, no entanto, a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteau está entre as mais extensivamente utilizadas. O reagente consiste da mistura dos ácidos fosfomolíbdico e fosfotúngstico, no qual o molibdênio e tungstênio estão no estado de oxidação +6 que na presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam o azul de molibdênio e azul de tungstênio (IKAWA *et al.*, 2003; NACZK; SHAHIDI, 2004). Na Figura 5 o ácido gálico exemplifica a reação que ocorre em condição alcalina com reagente de Folin-Ciocalteau.

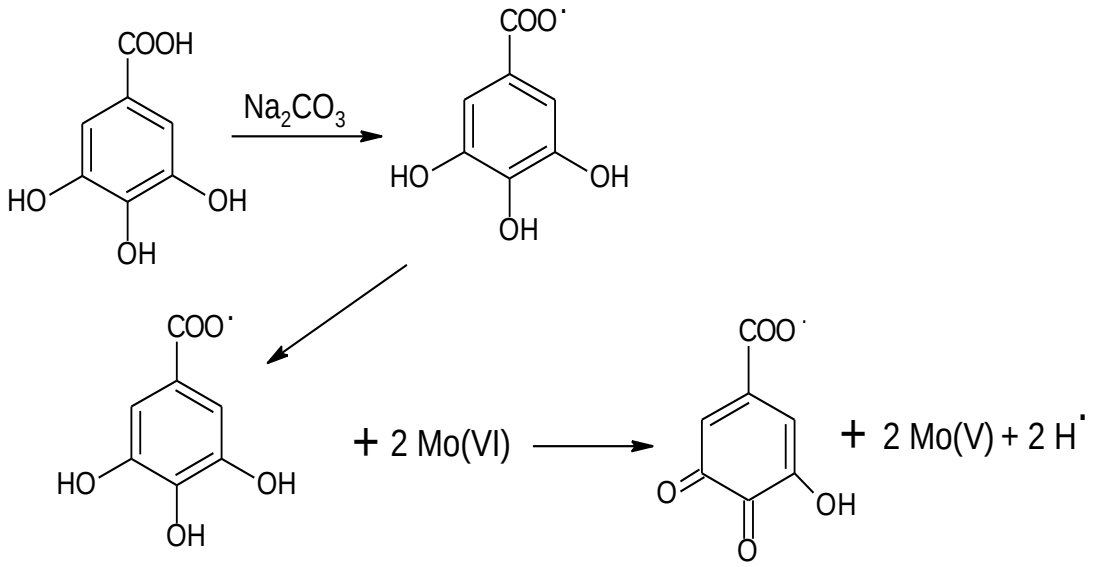


Figura 5. Reação do ácido gálico com reagente de Folin-Ciocalteau.

Diferentes resultados são encontrados na literatura sobre o efeito da torrefação na atividade antioxidante do café. Por exemplo, Richelle; Tavazzi e Offord (2001) relataram que a atividade antioxidante do café diminuiu com a torrefação, enquanto em outros estudos foi

observada atividade antioxidante alta em condições intermediárias de torrefação (BORRELLI *et al.*, 2002).

Del Castilho; Ames e Gordon (2002) encontraram para o café arábica aumento na atividade antioxidante na reação com ABTS com o aumento da torrefação dos grãos verdes até a torra média e diminuição acentuadamente na torra escura. Para Manzocco *et al.* (2000), a formação de melanoidinas, que possuem elevado potencial antioxidante, ocorreu somente em determinadas fases da torra, o que explica a superioridade da atividade antioxidante quando utilizada torra média. Os ácidos clorogênicos também contribuem para a atividade sequestradora do radical DPPH, mesmo sendo degradados durante o rigor da torra (CRUZ *et al.*, 2017).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Todas as soluções foram preparadas a partir de água deionizada (18,2 MΩ cm a 25ºC) e reagentes de grau analítico.

4.1. Equipamentos e acessórios

Espectrofotômetro UV-Vis (AGILENT, modelo Cary 60) equipado com cubeta de quartzo Hellma (1 cm) foi empregado para as medidas espectrofotométricas. A separação cromatográfica dos compostos fenólicos não voláteis foi obtida empregando cromatógrafo a líquido de alta eficiência (AGILENT, modelo 1100 Series) em fase reversa com coluna de C18 (4,6 x 250 mm – 5 µm), vazão 1 mL min^{-1}.

4.2. Amostras de café e preparo da bebida

4.2.1. Amostras de café

As amostras de grãos de cafés especiais torrados (*Coffea arabica*) da Região Alta Mogiana são da safra 2016/2017. Estas foram avaliadas no concurso de Qualidade de Café Alta Mogiana de 2017 e cedidas pela Associação dos Produtores de Cafés Especiais da Região da Alta Mogiana. As amostras de cafés tradicionais foram adquiridas no comércio local. Os grãos de cafés foram moídos e passados em peneira granulométrica (20 mesh) para padronização.

4.2.2. Preparo da bebida

Análises espectrofotométricas: O preparo da bebida foi realizado empregando o método de infusão, segundo o protocolo para análise sensorial do café, 1,37 g de amostra de café moído ficou em contato com 25 mL de água aquecida (90ºC) por 5 min e filtrada em papel de filtro convencional (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2008).

Análises cromatográficas: A metodologia de infusão foi empregada no preparo da bebida. Foram avaliadas três metodologias, conforme a Tabela 3.

Tabela 3. Metodologias de extração avaliadas nas análises cromatográficas.

PREPARO DA BEBIDA DO CAFÉ POR INFUSÃO	
Adaptada de Chambel *et al.* (1997)	1,00 g de café moído misturado a 150 mL de água e fervido por 2 min (90ºC). A mistura foi transferida para balão volumétrico de 200 mL e completado com água. A bebida foi filtrada em papel de filtro convencional.
Adaptada de Angeloni *et al.* (2018)	25,00 g de café moído foi colocado em papel filtro, 250 mL de água quente (90ºC) foi adicionada.
Adaptada de Vignoli *et al.* (2014)	4,11 g de café moído foi pesado em tubo tipo Falcon^R, adicionado 25 mL de água aquecida a 90ºC e agitado por 5 min em mesa orbital. Posteriormente, a bebida foi filtrada em papel filtro e foram testadas diferentes diluições da bebida em água 1:3/1:1 (v/v) filtrado em membrana PTFE e 1:1 (v/v) sem filtrar em membrana.

4.3. Avaliação da atividade antioxidante pelo método radical DPPH

Em tubos tipo Falcon^R foram adicionados 1300 µL do café diluído (diluição de 100 vezes da bebida preparada) e 2700 µL do radical DPPH 1,5 mmol L^{-1} em etanol absoluto. As soluções foram homogeneizadas, incubadas por 45 min à temperatura ambiente em tubos protegidos da luz, seguida da quantificação espectrofotométrica em 522 nm. O comprimento de onda de máxima absorção da radiação foi obtido com solução padrão de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), método adaptado de Cruz *et al*. (2017).

A curva de calibração foi construída com concentrações conhecidas (0,02 a 0,10 mmol L^{-1}) de Trolox. Os resultados obtidos foram expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (µmol de capacidade antioxidante equivalente de Trolox-TEAC por 100 g de café torrado moído) (AL-DUAIS *et al.*, 2009). Todas as determinações foram efetuadas em triplicata.

4.4. Avaliação da atividade antioxidante pelo método radical ABTS

O radical ABTS foi produto da reação da solução ABTS 7 mmol L^{-1} com a solução de persulfato de potássio 140 mmol L^{-1}, incubado por 16 horas em temperatura ambiente e protegido da luz. Após a formação, a solução do radical foi diluída em etanol absoluto na proporção 1:100 (v/v) (RUFINO *et al.*, 2007).

Em tubos tipo Falcon^R foram adicionados 30 µL do café diluído em água (1:40, v/v) e 3000 µL do radical ABTS. Os tubos foram agitados e a determinação espectrofotométrica foi realizada em 734 nm, após 6 min de reação (RUFINO *et al.*, 2007).

A curva de calibração foi construída na faixa de 100 a 2000 µmol L^{-1} de Trolox. Os resultados obtidos foram expressos em µmol de TEAC por 100 g de café torrado moído (AL-DUAIS *et al.*, 2009). Todas as determinações foram efetuadas em triplicata.

4.5. Determinação dos compostos fenólicos totais – Método de Folin-Ciocalteau

Alíquota (600 µL) do café diluído em água (1:50, v/v) foi transferida para tubo tipo Falcon^{R} e 3000 µL da solução do reagente Folin-Ciocalteau 10% (v/v) foram adicionados. Após 5 min, foi adicionado 2250 µL da solução de carbonato de potássio 7,5% (m/v). A mistura foi mantida à temperatura ambiente e protegida da luz por 40 min com posterior leitura espectrofotométrica em 770 nm (absorção máxima obtida experimentalmente com padrão analítico).

A curva de calibração foi construída na faixa de 10 a 50 mg L^{-1} de ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por 100 g de café torrado moído e todas as determinações foram efetuadas em triplicata.

4.6. Determinação dos compostos fenólicos

A separação dos compostos fenólicos não voláteis foi obtida nas seguintes condições cromatográficas: fase móvel constituída por (A) 5% de ácido acético em água e (B) acetonitrila com gradiente de eluição: 0-5 min: 4% B; 5-10 min: 10% B e 10-30 min: 10% B (VIGNOLI *et al.*, 2014). O volume da amostra injetado foi de 20 µL e detecção UV em 280 e 320 nm. As injeções foram realizadas em triplicata.

Os perfis cromatográficos dos padrões analíticos foram obtidos nas mesmas condições cromatográficas: ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido clorogênico (3-CQA), ácido cafeico com detecção no UV em 320 nm, catequina em 272 nm e cafeína, trigonelina, ácido nicotínico e HMF em 280 nm.

As soluções padrão de cafeína, trigonelina, ácido clorogênico, ácido cafeico e *p*-cumárico foram preparadas por dissolução de 5,00 mg de cada padrão em 100 mL de água deionizada. As soluções padrão de ácido nicotínico e o HMF foram preparadas pela dissolução de 25,00 e 6,00 mg, respectivamente em 100 mL de água deionizada. Soluções de ácido ferúlico e catequina foram preparadas pela dissolução de 10,00 mg em 100 mL de água deionizada.

A quantificação dos compostos identificados, cafeína, ácido clorogênico, ácido cafeico, HMF e ácido nicotínico foi realizada através da curva de calibração com medidas

em triplicata baseadas nas áreas dos picos. Na Tabela 4 está descrita a equação da reta obtida da curva de calibração de cada composto. O teor de cada composto na amostra foi expresso em mg por 100 g de café torrado moído.

Tabela 4. Curvas de calibração dos compostos identificados nas amostras de cafés.

Composto	Concentração ($mg\ L^{-1}$)	Equação da Reta	R^2	λ (nm)
Cafeína	10 – 100	Área = 195 + 65 C	0,999	280
3-CQA	10 – 100	Área = -41 + 111 C	0,999	320
Ácido Cafeico	5 – 30	Área = 128 + 151 C	0,999	320
HMF	3 – 45	Área = 251 + 508 C	0,998	280
Ácido Nicotínico	25 – 100	Área = 1657 + 42 C	0,991	280

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras foram identificadas como C1 – C8 para os cafés especiais da região Alta Mogiana e C9 – C17 para os cafés tradicionais comprados no comércio local da cidade de Piracicaba/SP. Na Tabela 5 são apresentadas as características sensoriais das amostras (C1 – C7) disponibilizadas pela Associação dos Produtores de Cafés Especiais da Região da Alta Mogiana. Para amostra C8 não foram disponibilizadas as informações. Na Tabela 6 encontra a relação do preço comercial das amostras de café tradicional (C9 – C17).

Tabela 5. Parâmetros sensoriais das amostras de cafés especiais.

Amostra	Torra	Altitude (m)	Nota	Descrição (prova da xícara)
C1	Média	900 a 1300	86	Aroma floral e adocicado, corpo denso e cremoso, sabor de laranja com mel e toque de limão, acidez cítrica, finalização longa com notas de tangerina e maracujá doce.
C2	Média	900 a 1300	84	Aroma achocolatado, corpo aveludado, sabor de chocolate meio amargo e baunilha, acidez média cítrica, finalização prolongada com notas de pão de mel.
C3	Média	1020 a 1080	85	Encorpado, doce, limpo, notas de caramelo, chocolate meio amargo, frutas cítricas doces, avelã e finalização de doce de leite.
C4	-	-	84	Doçura e corpo acentuado, acidez média, retrogosto doce caramelo.
C5	Média clara	950	85	Aroma de mel e corpo cremoso, equilibrado com acidez cítrica de maracujá. O sabor é de creme de avelã com finalização prolongada com notas de mel.
C6	Média clara	1000	84,5	Aroma adocicado de chocolate ao leite com notas de pêssego e avelã. O sabor é equilibrado com acidez licorosa.
C7	Média	920	85	Corpo cremoso, sabor achocolatado, notas de avelã e amêndoas.

Tabela 6. Valor comercial dos cafés tradicionais analisados. Comprados em 18/07/2019.

Amostra	R$ / 500 g
C9	9,39
C10	5,99
C11	6,19
C12	6,49
C13	6,98
C14	7,29
C15	7,39
C16	9,28
C17	9,29

5.1. Avaliação da atividade antioxidante e determinação dos fenólicos totais

A atividade antioxidante consiste na capacidade do composto inibir a degradação oxidativa. A atividade antioxidante da bebida do café é determinada pela ocorrência de substâncias antioxidantes naturais e induzidas pela torra e pelo processamento do café (SANTOS *et al.*, 2007). A capacidade antioxidante do café tem sido atribuída a diferentes compostos com destaque para os compostos fenólicos (ácidos clorogênicos, cafeico, ferúlico), a cafeína e as melanoidinas como também trigonelina e alguns voláteis (VIGNOLI, 2009).

Os resultados das análises da atividade antioxidante das amostras de café pelo método DPPH e ABTS estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Atividade antioxidante para as amostras de cafés pelos métodos DPPH e ABTS.

	µmol TEAC/100 g de café	
Amostra	**DPPH**	**ABTS**
C1	15207 ± 479	18821 ± 316
C2	15361 ± 384	18097 ± 852
C3	14974 ± 245	23406 ± 1739
C4	16851 ± 49	21577 ± 846
C5	17340 ± 138	23202 ± 4250
C6	17756 ± 226	27214 ± 766
C7	14417 ± 247	21831 ± 3177
C8	13187 ± 652	23937 ± 478
C9	16535 ± 348	13922 ± 372
C10	19074 ± 138	17489 ± 1519
C11	18990 ± 58	22352 ± 3290
C12	18555 ± 95	16357 ± 921
C13	18928 ± 105	20411 ± 1354
C14	18674 ± 121	20486 ± 506
C15	19058 ± 35	25761 ± 1354
C16	18883 ± 46	22024 ± 1759
C17	18867 ± 108	19432 ± 1459

Todas as amostras apresentaram atividade antioxidante para os dois métodos realizados, independentemente da qualidade sensorial.

Os resultados para o ensaio do DPPH foram descritos pelas equações da reta: A= 1,026 - 8,330 C (mmol L^{-1}), R^2= 0,999 quando foram avaliados os cafés especiais e A= 0,993 - 7,963 C (mmol L^{-1}), R^2= 0,999 quando foram avaliados os cafés tradicionais. Os resultados obtidos variaram entre 13187 a 19074 µmol TEAC por 100 g de café torrado moído.

Para o ensaio do ABTS os resultados foram descritos pelas equações da reta: A= 0,675 - 0,0003 C (µmol L^{-1}), R^2= 0,999 quando foram avaliados os cafés especiais e A= 0,687 - 0,0003 C (µmol L^{-1}), R^2= 0,998 quando foram avaliados os cafés tradicionais. Os resultados obtidos variaram de 13922 a 27214 µmol TEAC por 100 g de café moído, conforme Tabela 7.

As maiores atividades antioxidantes pelo método DPPH foram encontradas para as amostras de cafés tradicionais, fato atribuído ao processo de torra mais intenso que pode ter contribuído para a geração de compostos antioxidantes. Empregando o método ABTS, os valores da atividade antioxidante entre cafés especiais e tradicionais não apresentaram diferenças significativas pelo teste t pareado de Student (t calculado 0,000184) a nível de 95% de confiança.

As atividades antioxidantes estimadas pelos métodos DPPH e ABTS apresentaram resultados diferentes, que estão relacionados às estruturas diferentes dos radicais

empregados. Essas estruturas possuem diferentes tipos de afinidades que envolvem impedimentos eletrostáticos, estéricos e interações polares (CRUZ *et al.*, 2017).

Assim como neste trabalho, não foram observadas diferenças pronunciadas para a atividade antioxidante monitorada pelos métodos de Folin-Ciocalteau e ABTS, no trabalho realizado por Vignoli *et al*. (2014).

Cruz; Vieira e Lira (CRUZ *et al.*, 2017) estudaram a atividade antioxidante pelo método DPPH e ABTS do café tradicional e extra-escuro. As amostras foram submetidas a dois preparos: decocção e infusão. A atividade antioxidante na infusão foi determinada em 15816 µmol de TEAC por 100 g de café moído para ambos os métodos colorimétricos, no preparo por decocção, a atividade antioxidante foi 16633 e 10460 µmol de TEAC por 100 g de café moído, respectivamente para o método DPPH e ABTS.

Diferentes resultados são encontrados na literatura sobre o efeito da torrefação na atividade antioxidante do café não havendo concordância sobre a influência na atividade antioxidante, uma vez que são observados diferentes resultados: maior atividade antioxidante na bebida de torra média (DEL CASTILLO; AMES; GORDON, 2002), ou maior nas bebidas de torra clara (DUARTE *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2007) e outros ainda relatam valores maiores para bebidas de torra média e escura (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2005). Além disso, as propriedades antioxidantes estudadas para o café são atribuídas principalmente aos teores de fenólicos e melanoidinas (BORRELLI *et al.*, 2002; VIGNOLI *et al.*, 2014).

A determinação dos compostos fenólicos foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteau e os resultados obtidos foram descritos pelas equações da reta: A= 0,0772 + 0,0111 C (mg L^{-1}), R^2= 0,999 quando foram avaliados os cafés especiais e A= 0,238 + 0,0105 C (mg L^{-1}), R^2= 0,999 quando foram avaliados os cafés tradicionais. Os resultados encontrados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Compostos fenólicos totais para as amostras de cafés determinados pelo método de Folin-Ciocalteau.

Amostra	mg EGA / 100 g de café
C1	3590 ± 82
C2	3493 ± 14
C3	3517 ± 76
C4	3878 ± 13
C5	3813 ± 49
C6	4332 ± 95
C7	2882 ± 126
C8	2617 ± 70
C9	2394 ± 87
C10	2291 ± 15
C11	2317 ± 80
C12	2697 ± 13
C13	2628 ± 52
C14	3174 ± 100
C15	1648 ± 133
C16	1368 ± 73
C17	2220 ± 172

Os resultados encontrados para os compostos fenólicos totais nas diferentes amostras variaram entre 1368 a 4332 mg EGA por 100 g de café moído conforme apresentado na Tabela 8. O café tradicional (C16) de pior qualidade apresentou menor teor de fenólicos totais. Isso pode ser justificado pelo processo de torra mais intenso que resulta em maior degradação dos compostos fenólicos. Por outro lado, o café com maior teor de compostos fenólicos totais foi amostra de café especial C6 que também apresentou maior atividade antioxidante para o ensaio ABTS.

5.2. Identificação dos compostos

5.2.1. Soluções padrão

Na Tabela 9 estão descritas características das soluções padrão avaliadas por cromatografia e empregada para identificação dos compostos nas amostras de cafés.

Tabela 9. Descrição das soluções padrão avaliadas por cromatografia e empregadas para a identificação dos compostos nas amostras de cafés.

Soluções Padrão	Concentração (mol L^{-1})	Detecção (nm)	Tr
Cafeína	$2,626 \times 10^{-5}$	280	14,1
Ácido Nicotínico	$2,031 \times 10^{-4}$	280	2,9
HMF	$1,189 \times 10^{-6}$	280	5,3
Trigonelina	$2,880 \times 10^{-5}$	280	-
Ácido Clorogênico	$1,411 \times 10^{-5}$	320	10,8
Ácido Cafeico	$2,830 \times 10^{-5}$	320	12,9
Ácido *p*-cumárico	$3,109 \times 10^{-5}$	320	21,3
Ácido Ferúlico	$1,287 \times 10^{-6}$	320	27,1
Catequina	$1,378 \times 10^{-5}$	272	9,6

Apesar da literatura apresentar vários trabalhos onde foi possível identificar e quantificar a trigonelina em cafés por HPLC, nos perfis cromatográficos estudados não foram obtidas respostas conclusivas, mesmo quando concentrações maiores foram avaliadas e outro comprimento de onda (272 nm). Na amostra de café, a ausência da trigonelina pode estar atrelada ao grau de torra empregado, uma vez que esse composto sofre decomposição durante esse processo, formando compostos como ácido nicotínico, piridina e outros compostos voláteis (BONNLANDER *et al.*, 2005).

5.2.2. Escolha do método de extração

Os perfis cromatográficos obtidos para as três metodologias de infusão avaliadas (Tabela 3) foram analisados para a escolha do método de extração a ser empregado nas amostras de café. Os perfis cromatográficos obtidos são apresentados na Tabela 10 e os picos identificados como A, B e C são cafeína, ácido clorogênico e ácido cafeico, respectivamente.

Com base nos cromatogramas obtidos para as cinco metodologias de extração avaliadas, foi realizado cálculo de resolução (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002) para os compostos B e C em 320 nm, conforme apresentado na Tabela 10. Para todas as extrações estudadas o valor de resolução ficou acima de 1,5, indicando eficiência na separação.

Como o valor de resolução foi aceitável (>1,5) para todos os métodos de extrações avaliados, a metodologia de extração escolhida foi a qual apresentou fácil preparo, menor co-eluição entre os picos e a maior quantidade de compostos extraídos para ser identificados e quantificados. Dessa forma, os melhores resultados foram encontrados para a metodologia adaptada de Chambel *et al.*(1997), onde o café moído foi misturado com

água e fervido por 2 min (90ºC). Também foi avaliada a necessidade da realização das extrações em triplicata, considerando o DVPR < 5% entre as extrações, as extrações foram então realizadas uma única vez para cada amostra (injeções em triplicata no HPLC).

5.2.3. Amostras

A partir dos perfis cromatográficos dos padrões analíticos foi possível identificar os compostos: cafeína, ácido clorogênico, ácido cafeico e ácido nicotínico para as amostras de cafés especiais e tradicionais e o composto HMF foi identificado somente para as amostras de cafés especiais. Na Tabela 11 são apresentadas as estruturas químicas dos compostos identificados para as amostras de café. Os perfis cromatográficos são apresentados nas Figuras de 6 a 22, a triplicata é descrita pela sequência de injeções I, II e III e a identificação dos compostos como: (1) ácido nicotínico, (2) HMF, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

Tabela 10. Perfis cromatográficos para os extratos obtidos por infusão. A: cafeína; B: ácido clorogênico e C: ácido cafeico. Para os picos B e C são apresentados o valor da resolução (Rs).

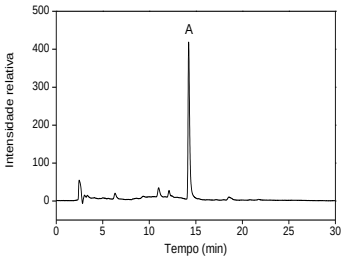
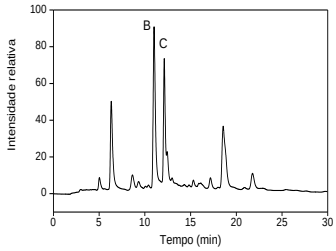
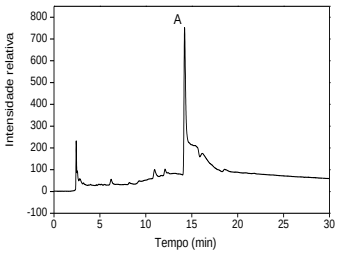
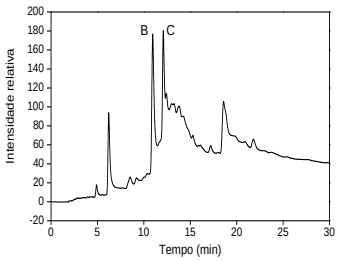
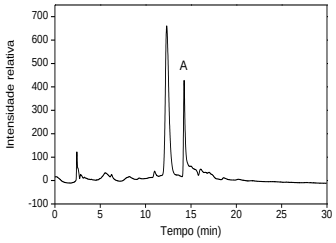
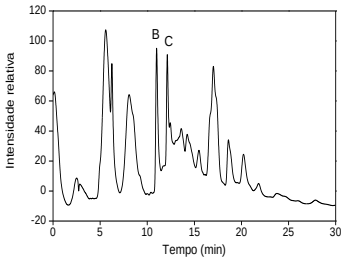
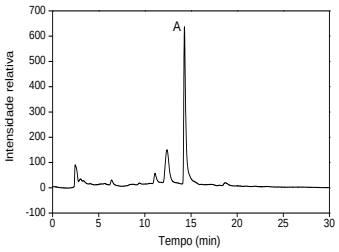
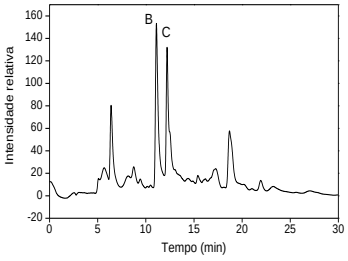
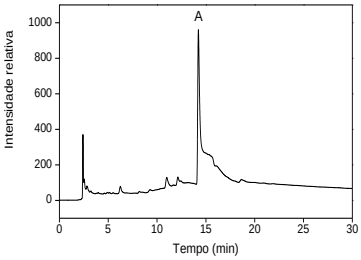
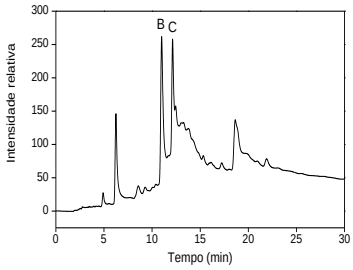
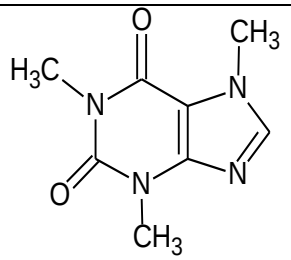
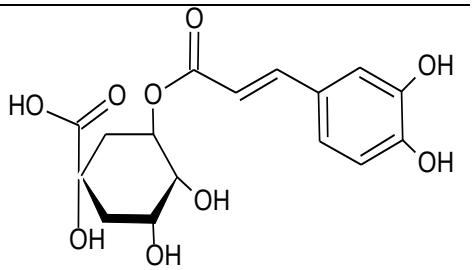
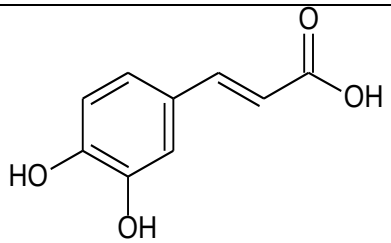
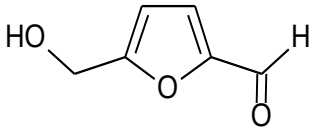
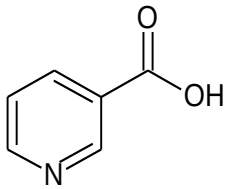
Metodologia de Extração	PERFIL CROMATOGRÁFICO		
	280 nm	320 nm	
Adaptada de Chambel *et al.* (1997)			Rs= 2,79
Adaptada de Angeloni *et al.* (2018)			Rs= 2,28
Adaptada de Vignoli *et al.* (2014) Diluição 1:3 filtrado em membrana PTFE			Rs= 2,41
Adaptada de Vignoli *et al.* (2014) Diluição 1:1 filtrado em membrana PTFE			Rs= 2,64
Adaptada de Vignoli *et al.* (2014) Diluição 1:1 sem filtrar em membrana PTFE			Rs= 2,28

Tabela 11. Compostos identificados para as amostras de cafés.

Composto	Sinônimo (Número CAS)	Estrutura Química
Cafeína $C_8H_{10}N_4O_2$	1,3,7-Trimetilxantina (58-08-2)	
Ácido Clorogênico $C_{16}H_{18}O_9$	Ácido 3-(3,4-di-hidroxicinamoil) quínico (327-97-9)	
Ácido Cafeico $C_9H_8O_4$	Ácido 3,4-dihidroxicinâmico (331-39-5)	
Hidroximetilfurfural $C_6H_6O_3$	5-Hidroximetilfurfural (67-47-0)	
Ácido Nicotínico $C_6H_5NO_2$	Niacina (59-67-6)	

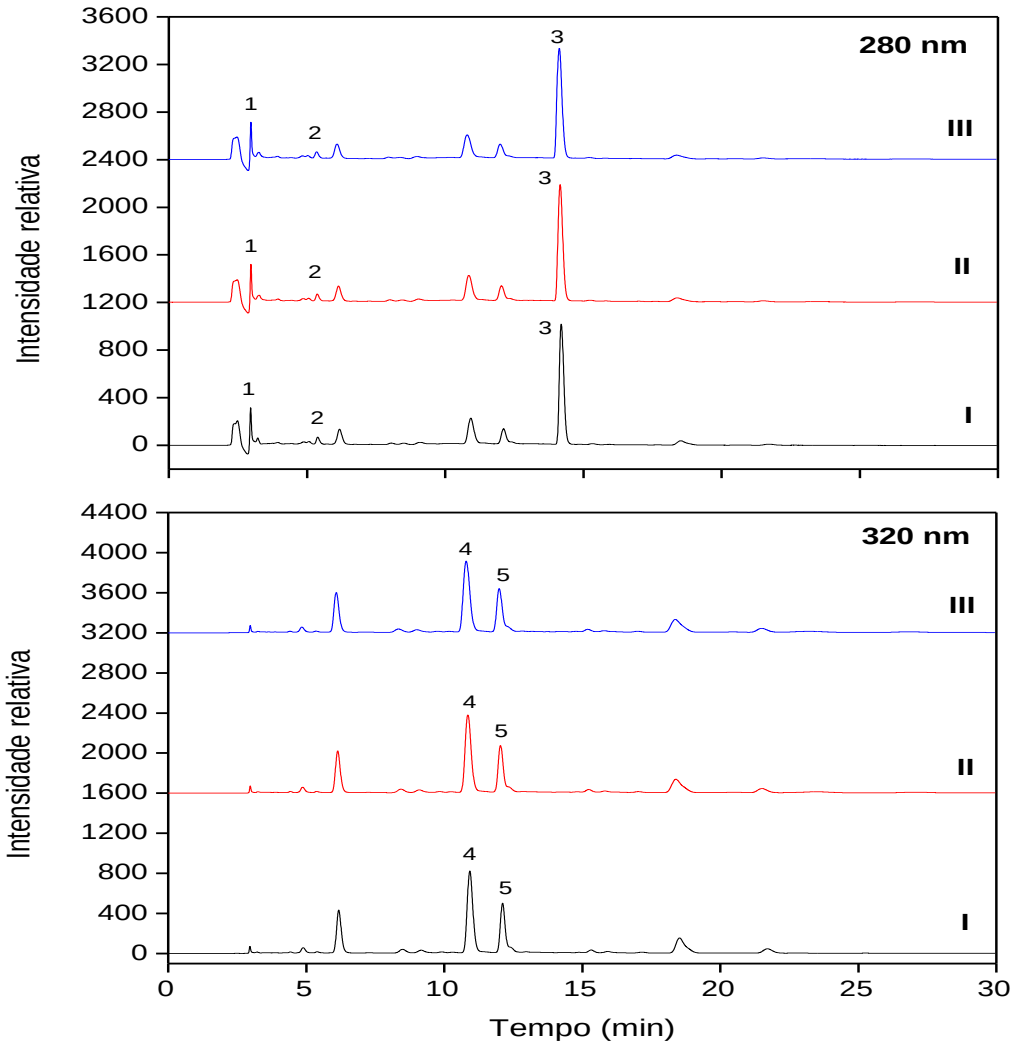


Figura 6. Cromatograma em triplicata da amostra C1. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (2) HMF, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

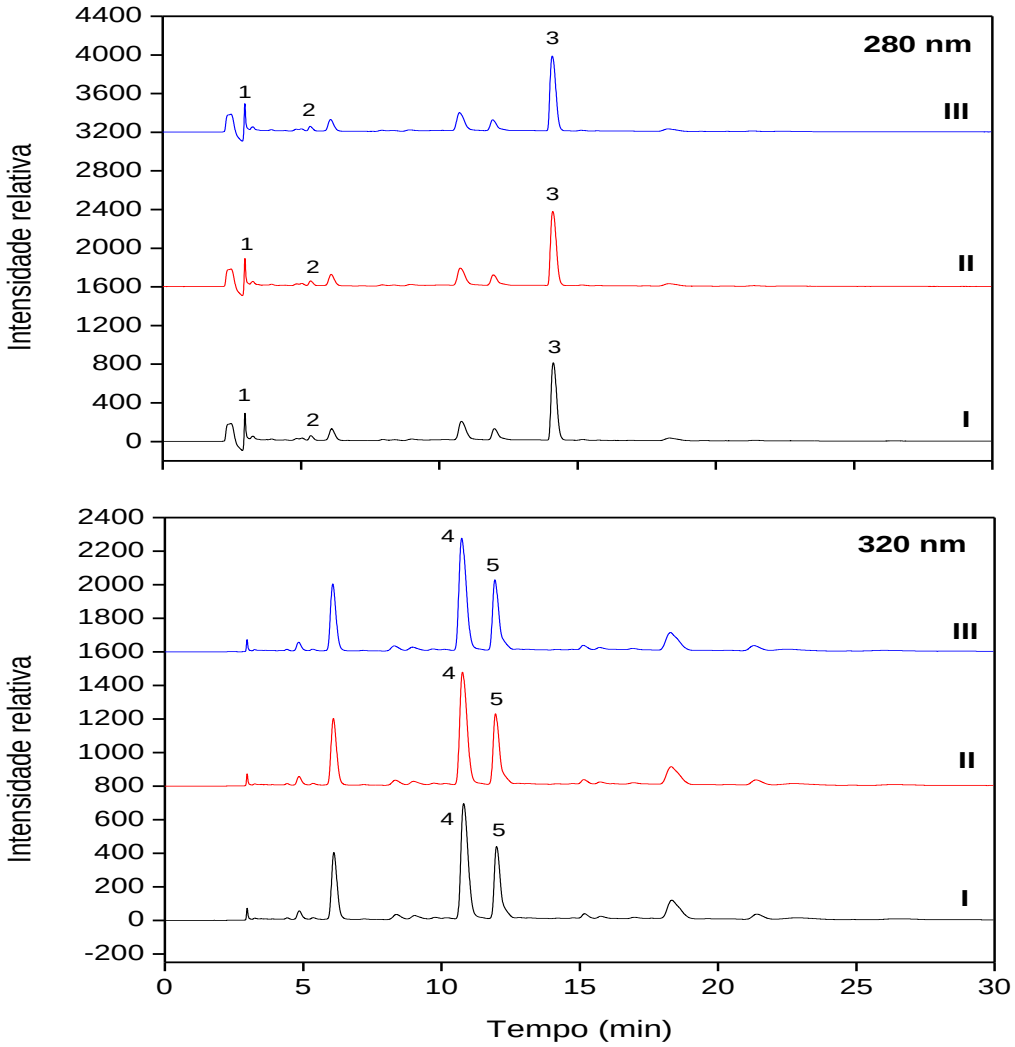


Figura 7. Cromatograma em triplicata da amostra C2. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (2) HMF, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

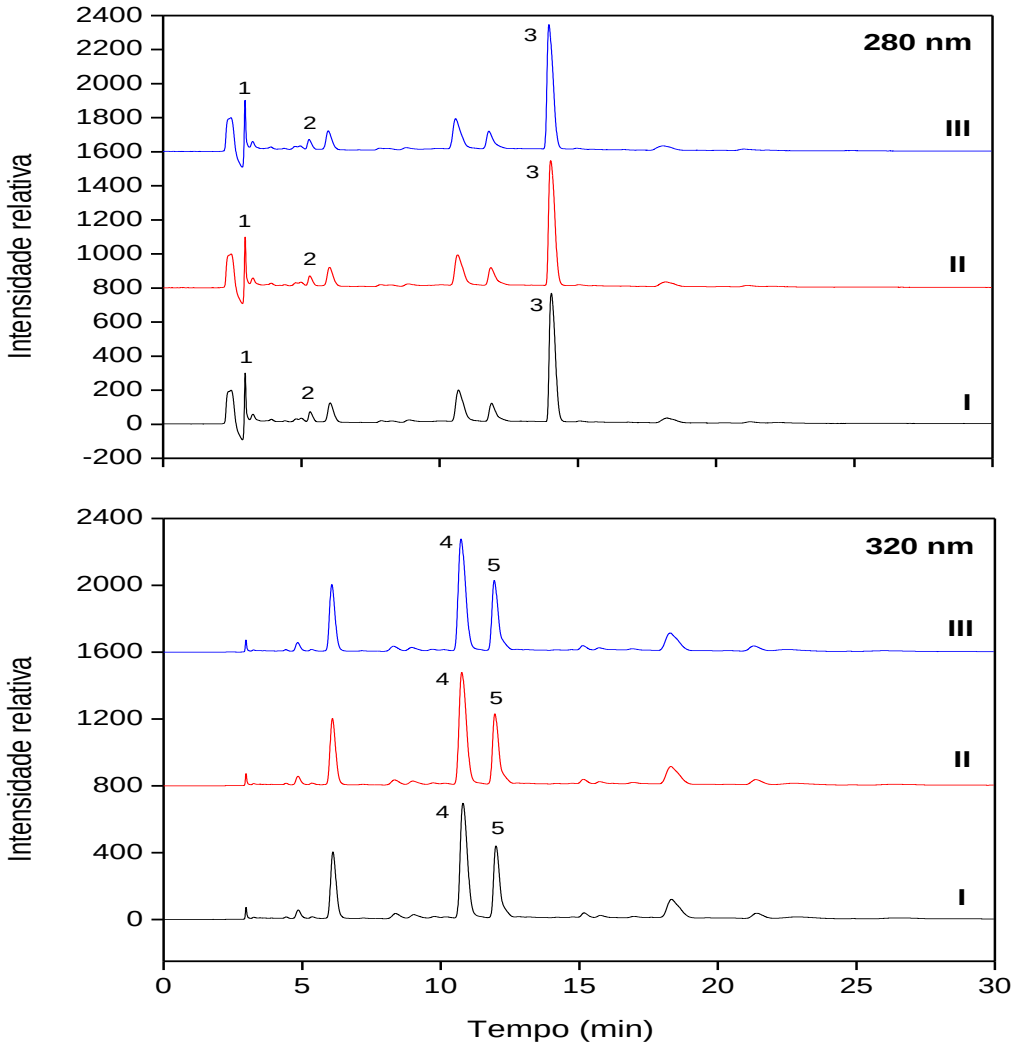


Figura 8. Cromatograma em triplicata da amostra C3. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (2) HMF, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

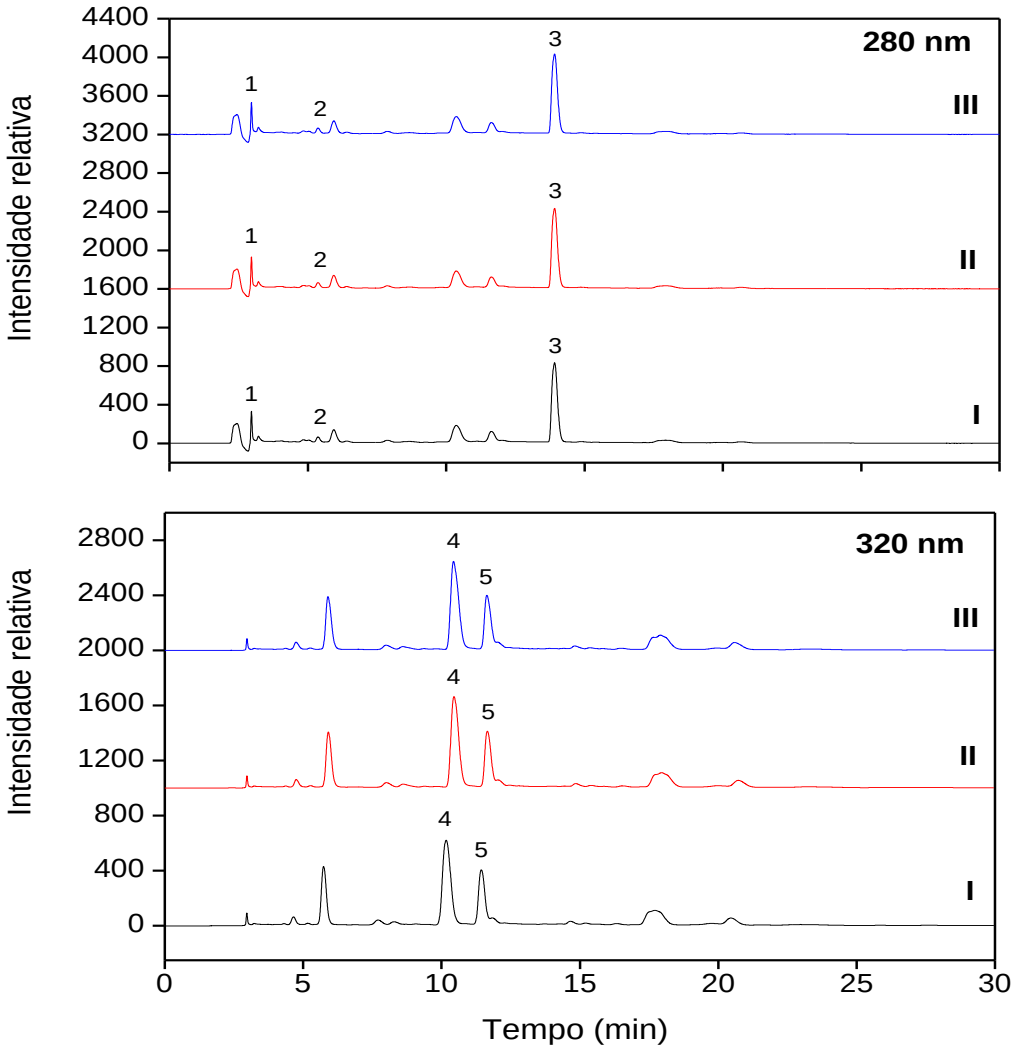


Figura 9. Cromatograma em triplicata da amostra C4. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (2) HMF, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

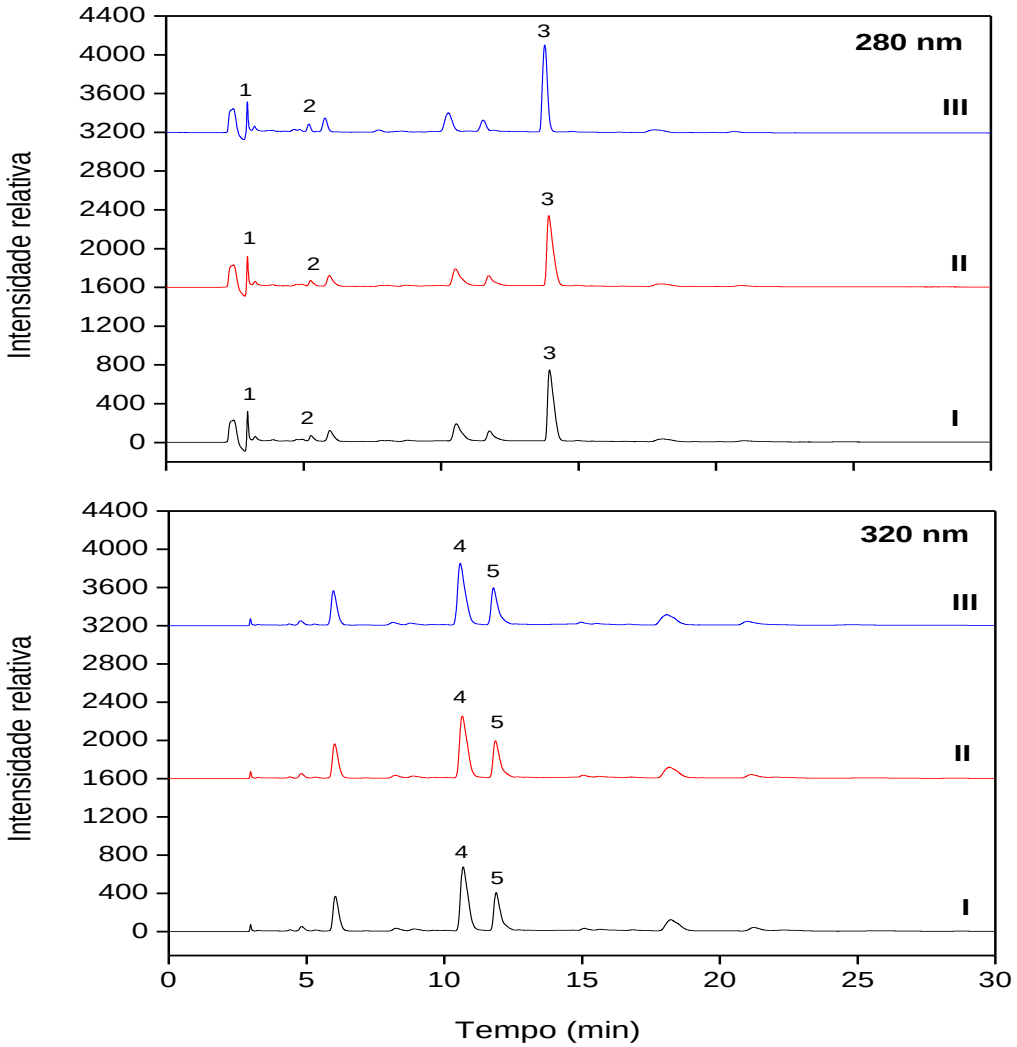


Figura 10. Cromatograma em triplicata da amostra C5. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (2) HMF, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

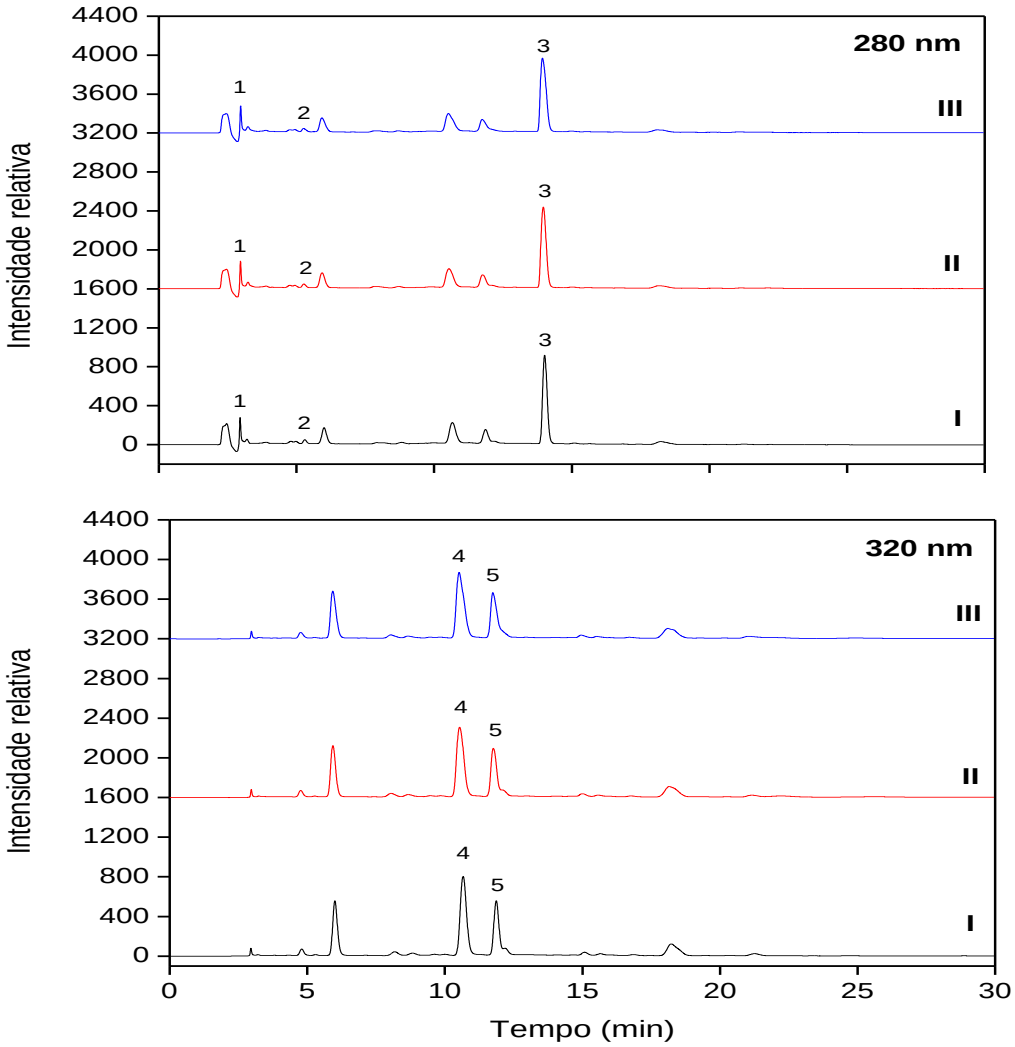


Figura 11. Cromatograma em triplicata da amostra C6. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (2) HMF, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

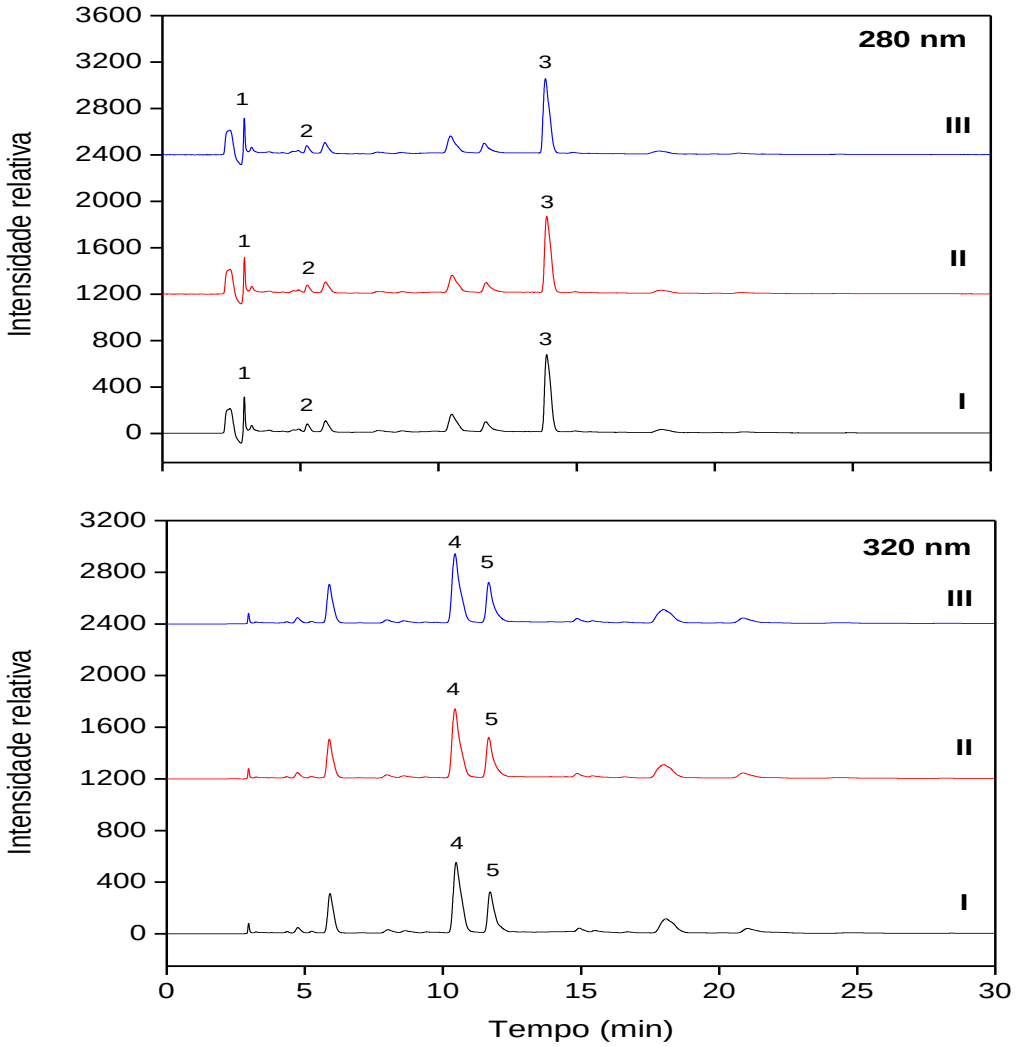


Figura 12. Cromatograma em triplicata da amostra C7. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (2) HMF, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

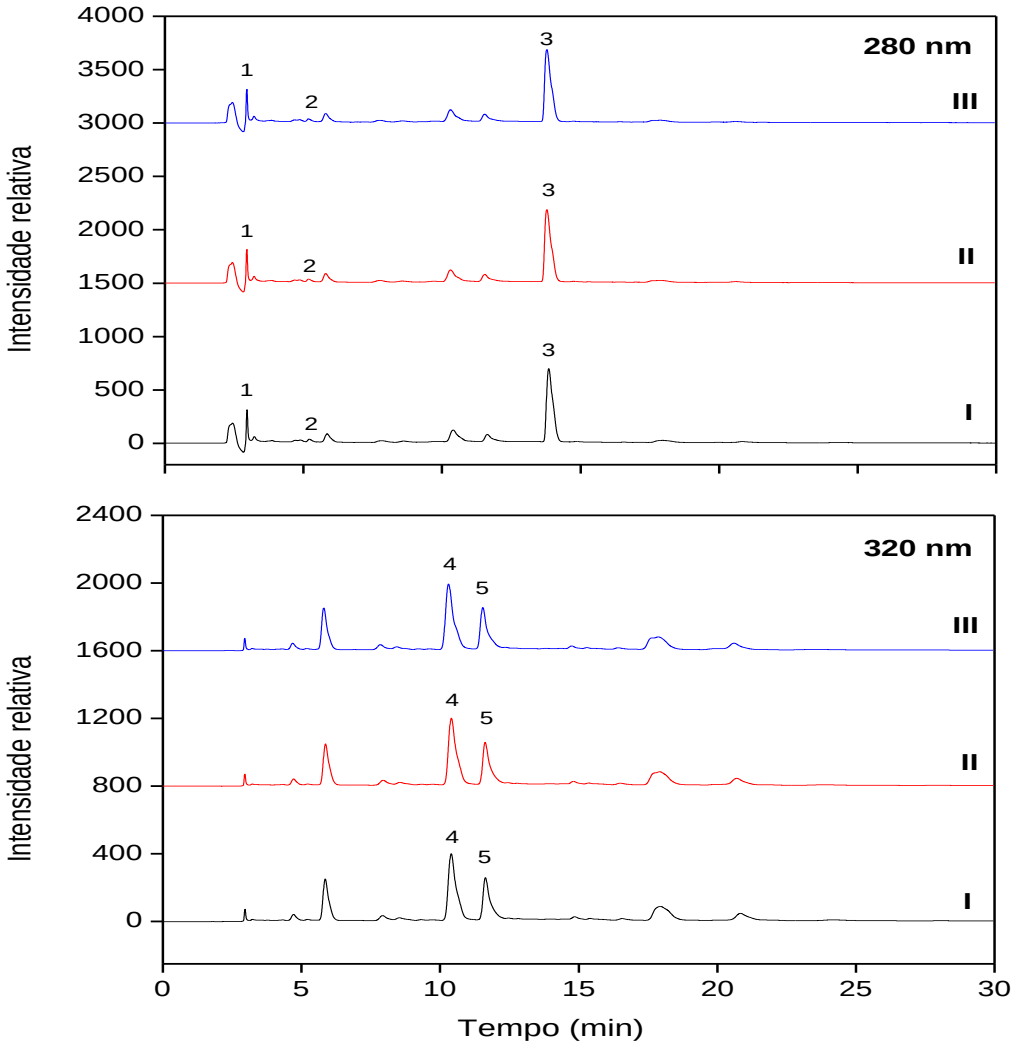


Figura 13. Cromatograma em triplicata da amostra C8. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (2) HMF, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

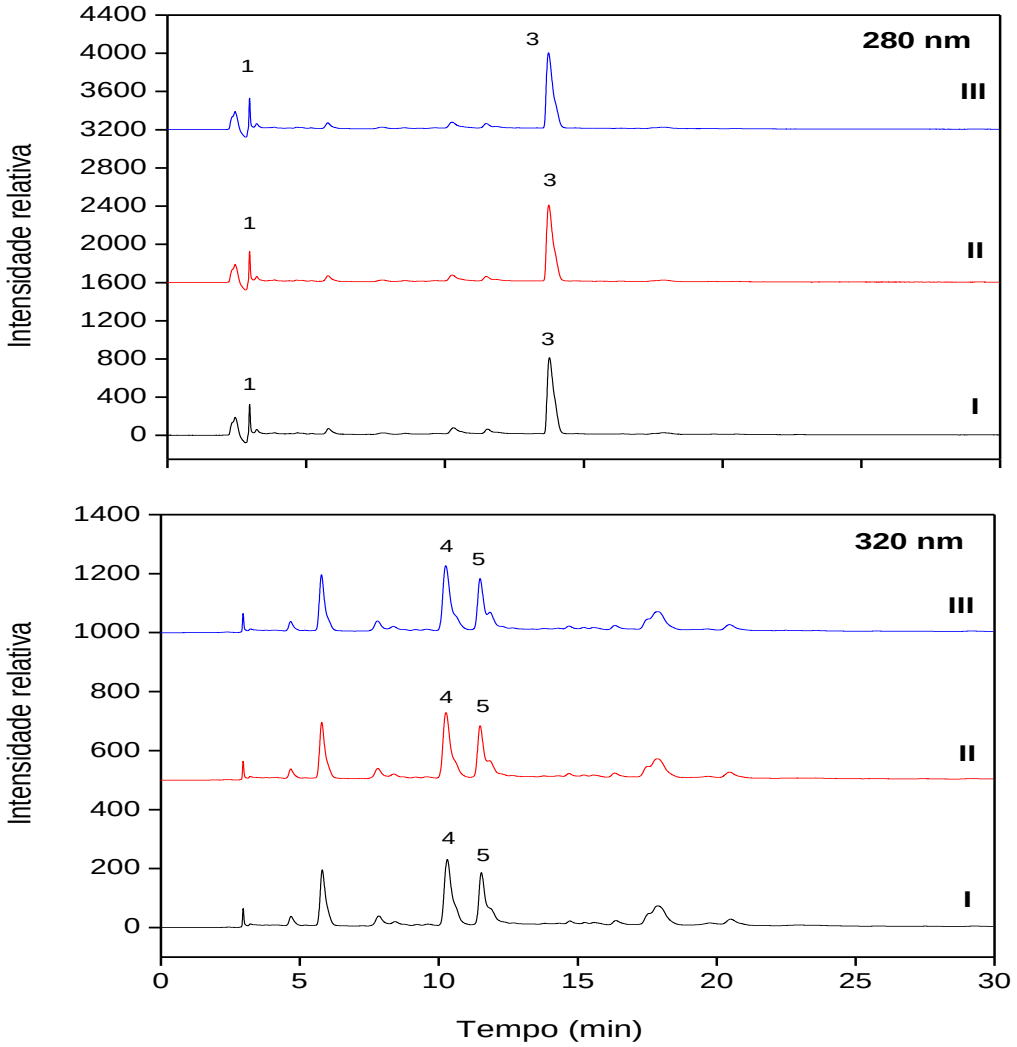


Figura 14. Cromatograma em triplicata da amostra C9. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

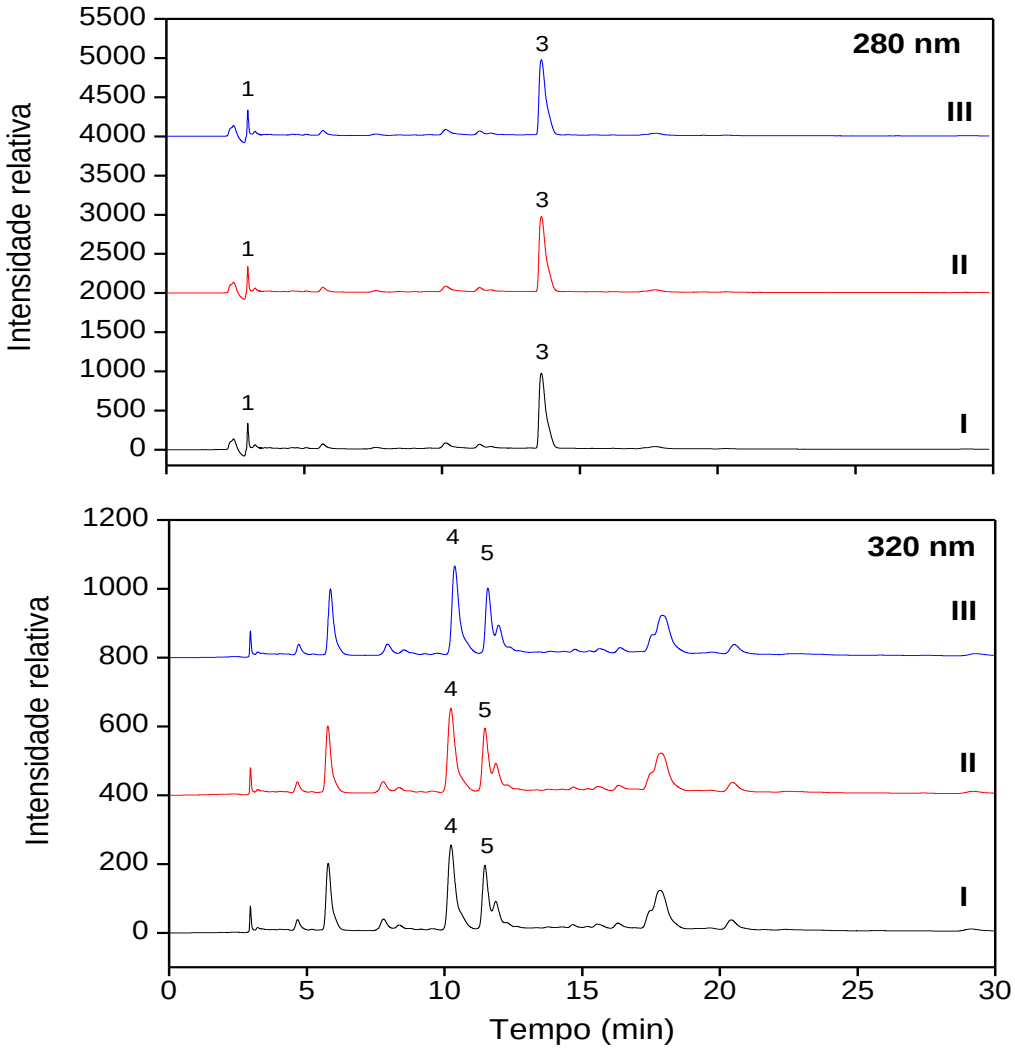


Figura 15. Cromatograma em triplicata da amostra C10. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

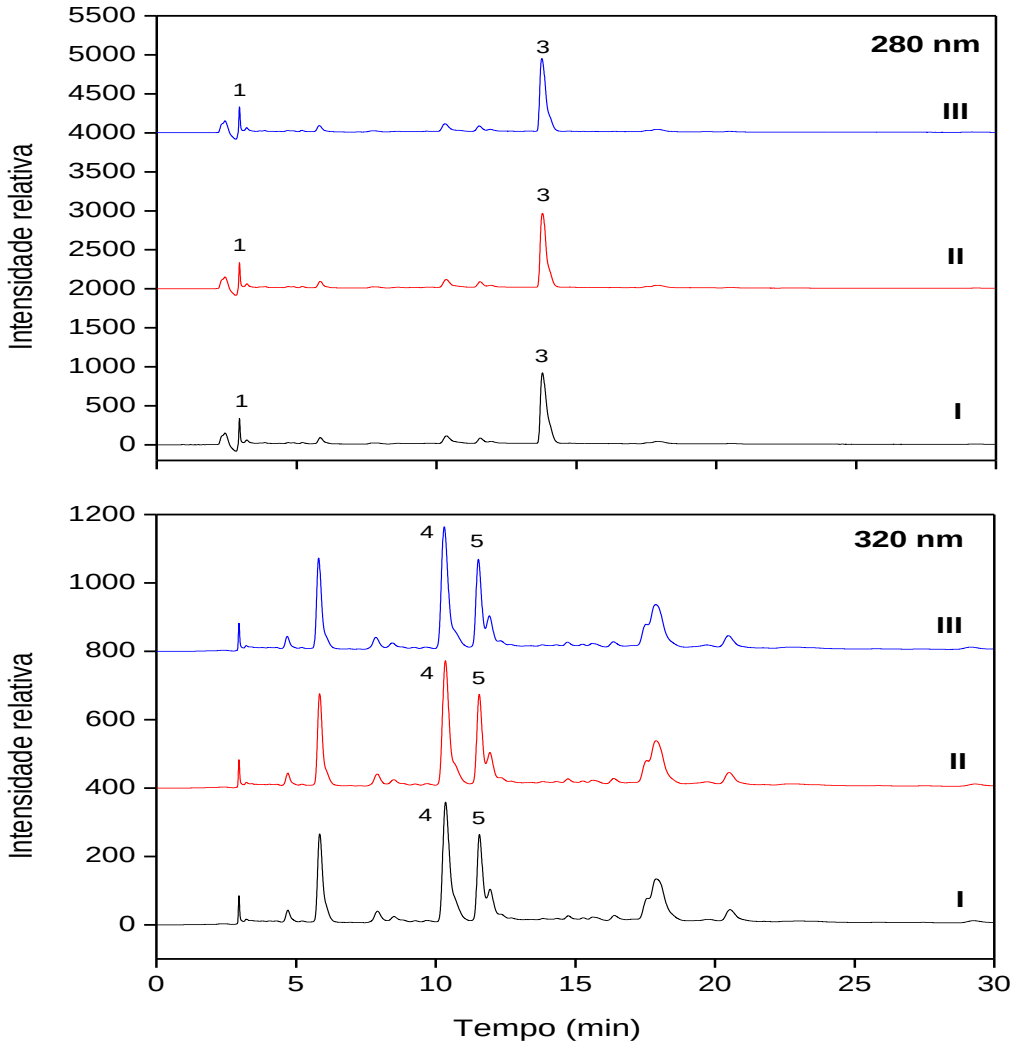


Figura 16. Cromatograma em triplicata da amostra C11. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

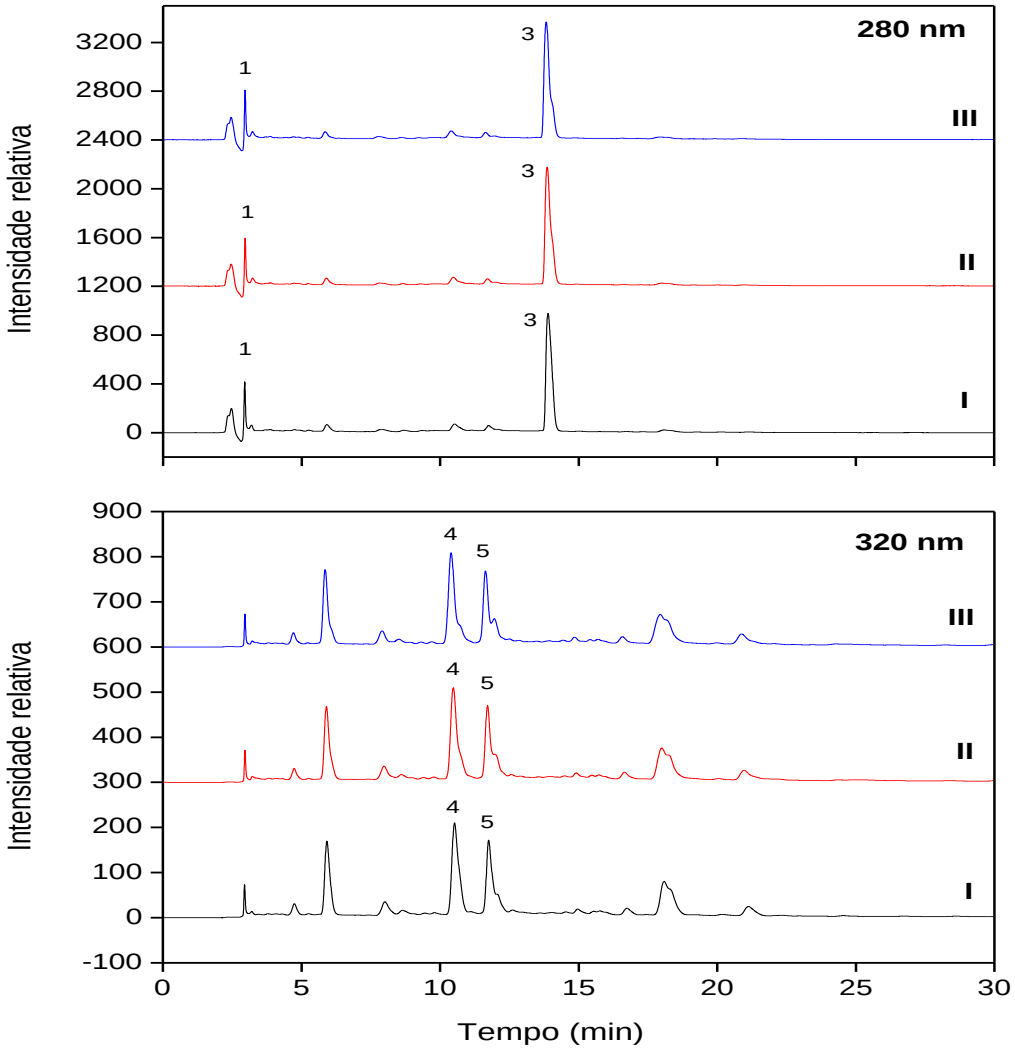


Figura 17. Cromatograma em triplicata da amostra C12. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

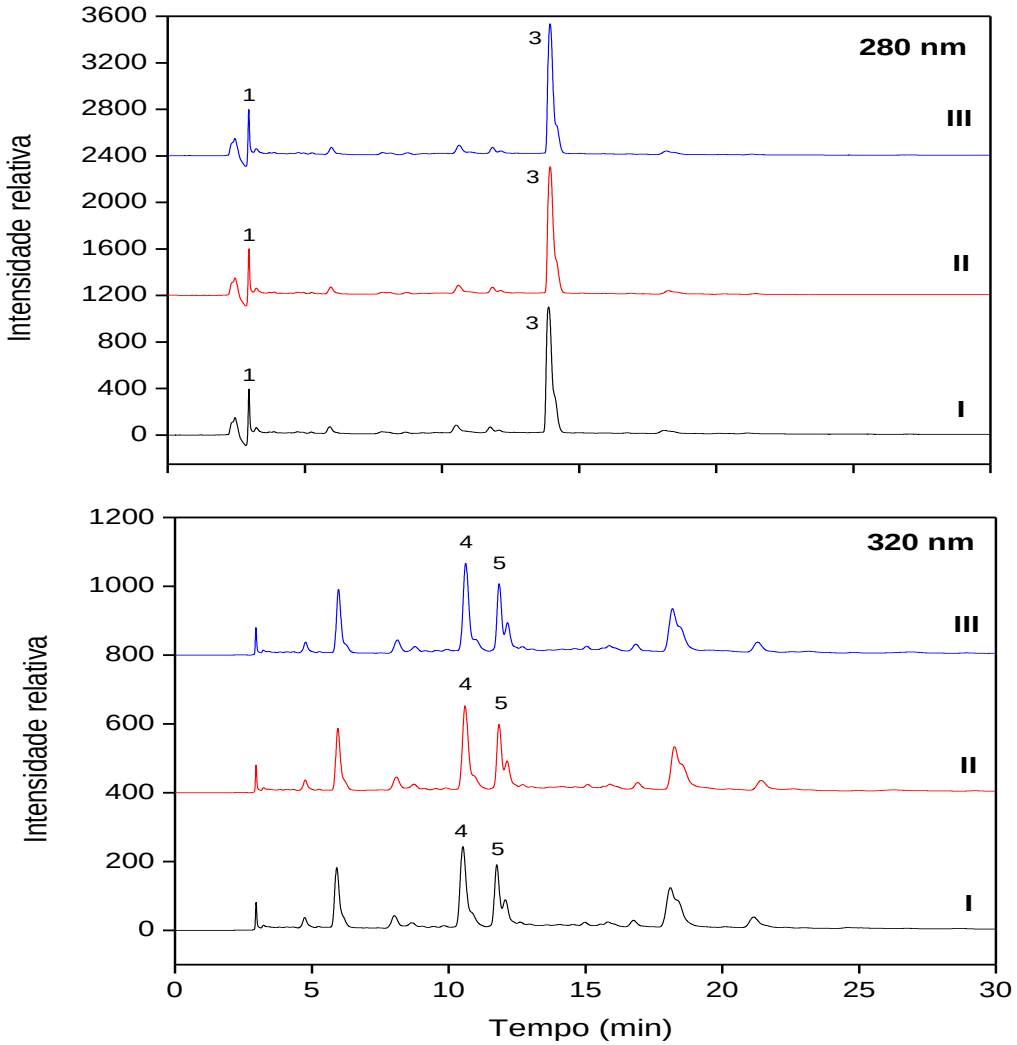


Figura 18. Cromatograma em triplicata da amostra C13. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

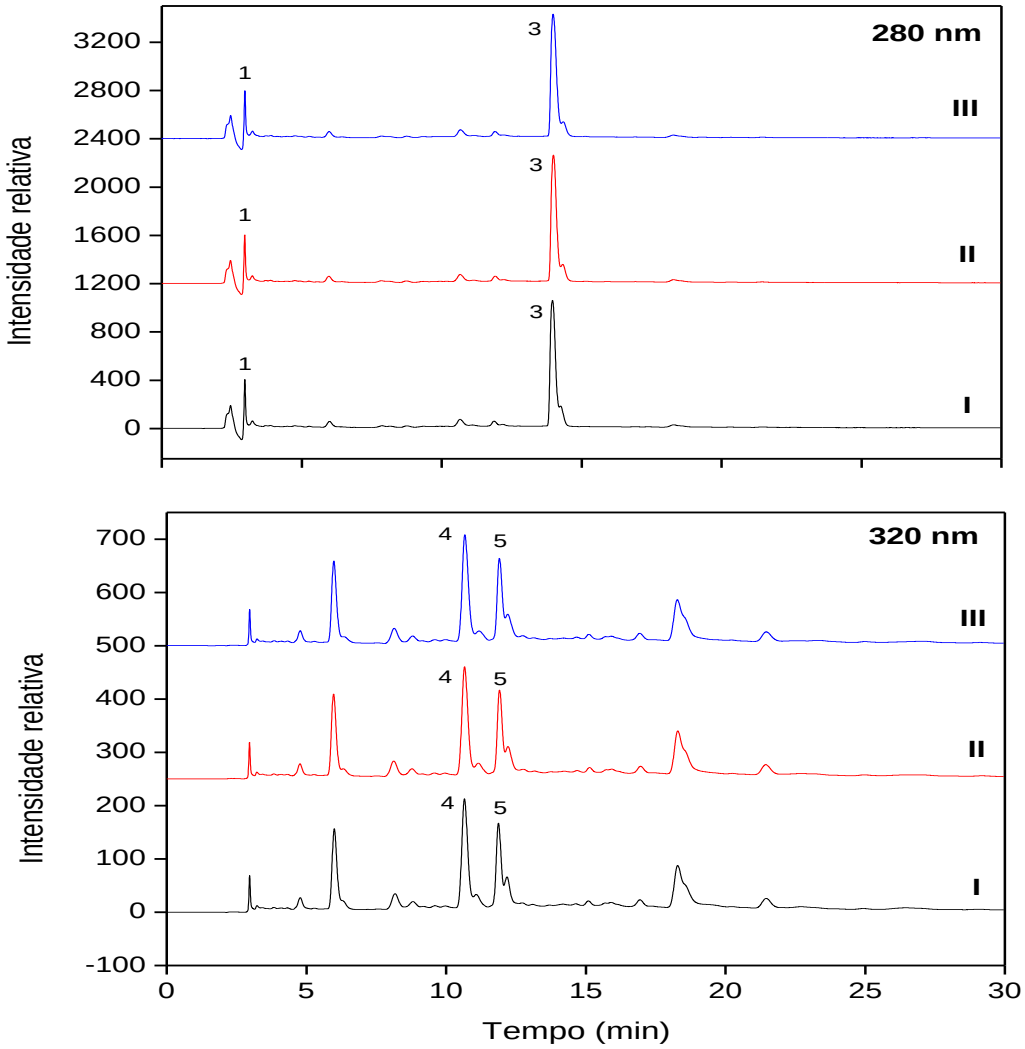


Figura 19. Cromatograma em triplicata da amostra C14. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

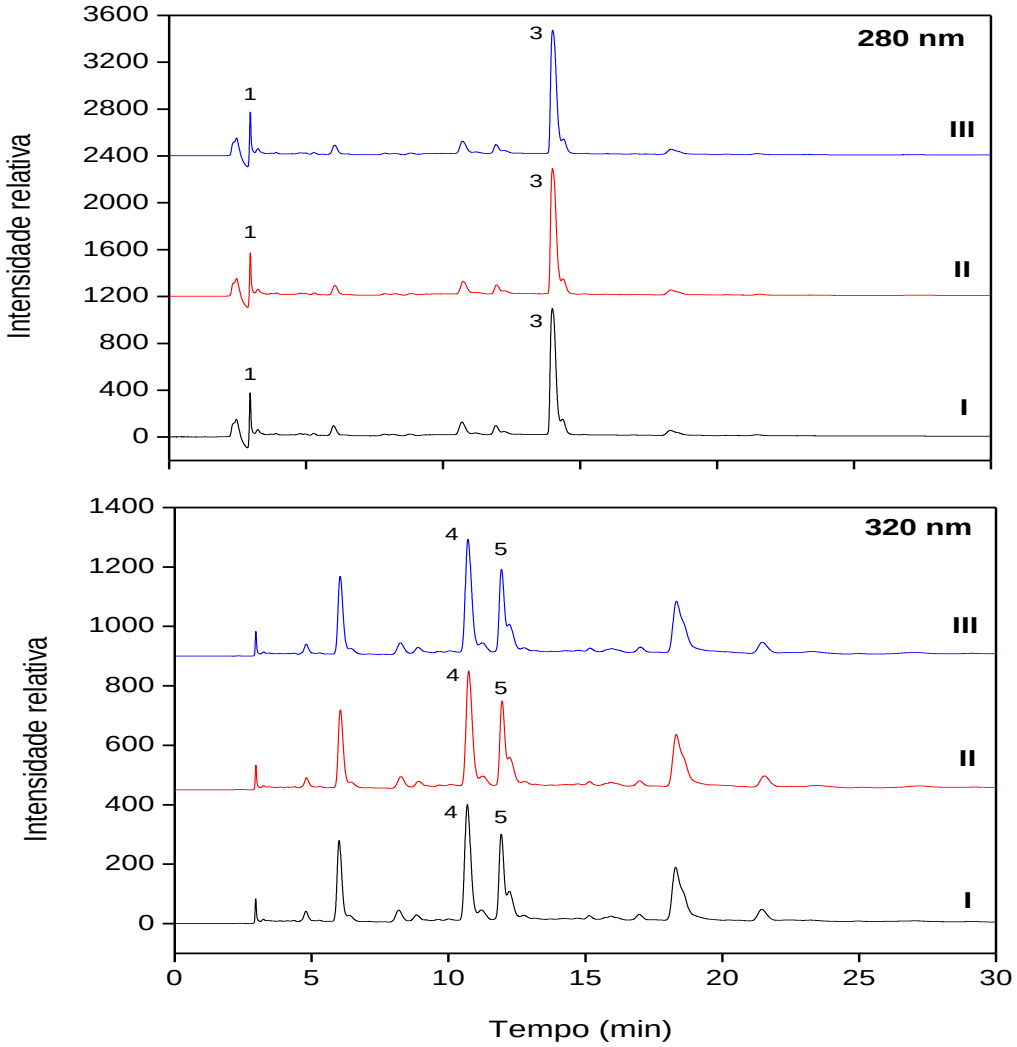


Figura 20. Cromatograma em triplicata da amostra C15. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

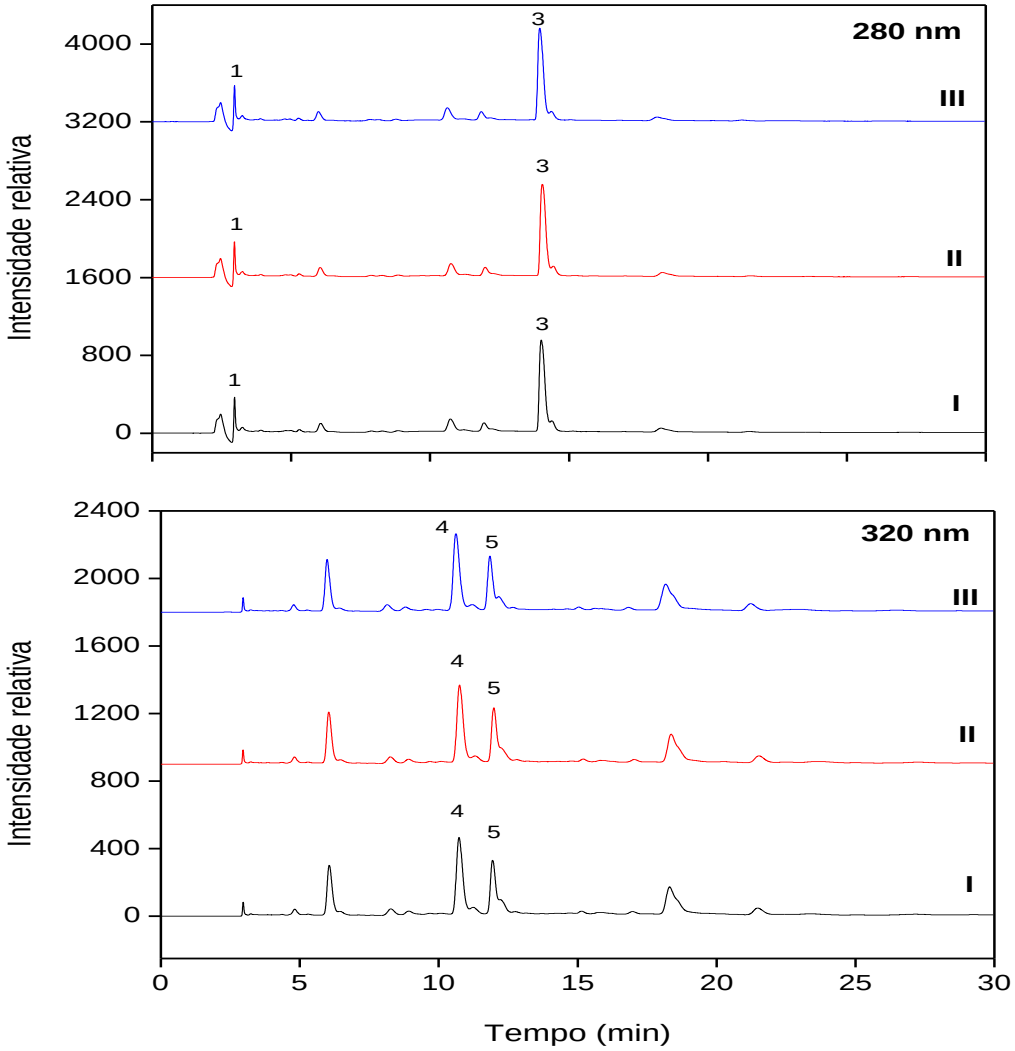


Figura 21. Cromatograma em triplicata da amostra C16. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

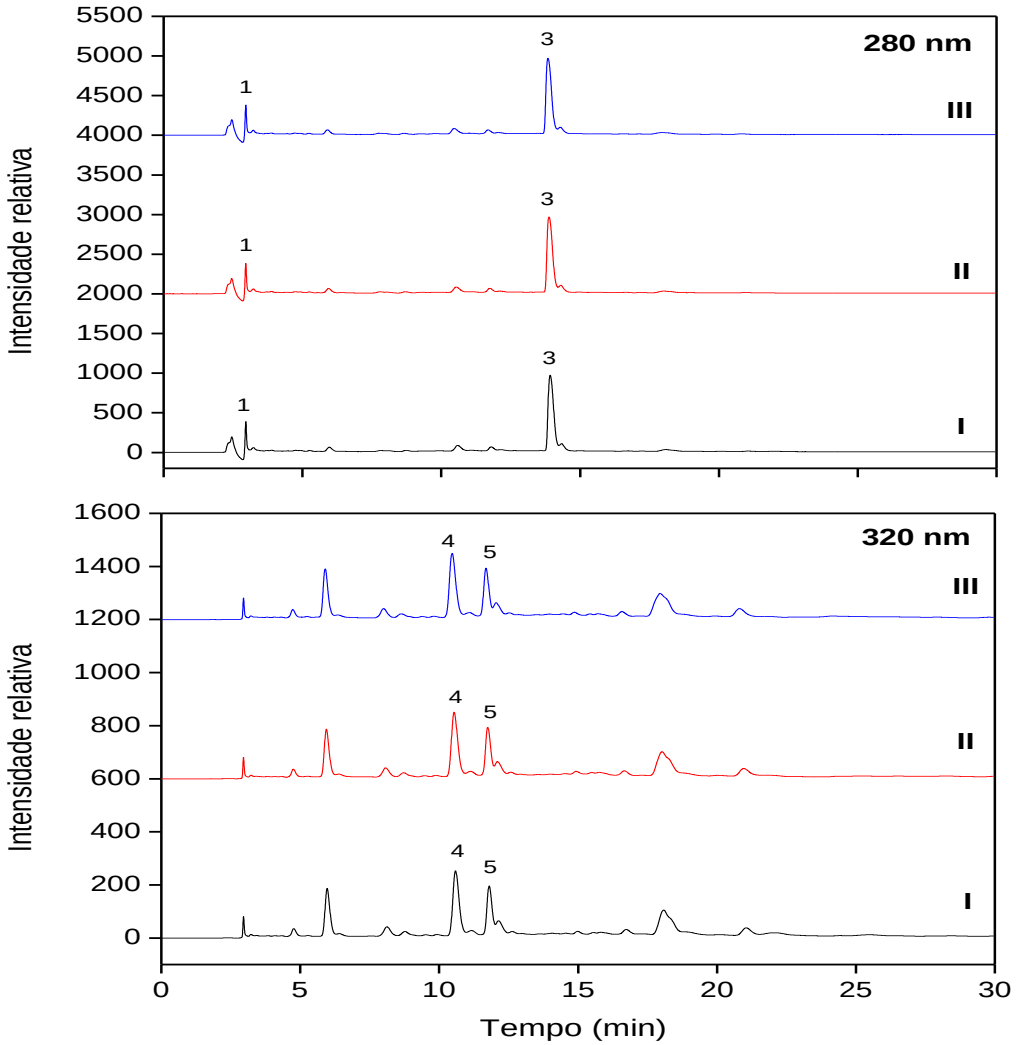


Figura 22. Cromatograma em triplicata da amostra C17. I, II e III sequência de injeções; (1) ácido nicotínico, (3) cafeína, (4) ácido clorogênico e (5) ácido cafeico.

5.3. Quantificação do teor dos compostos identificados

A partir da identificação foram construídas curvas de calibração com padrões analíticos em concentrações conhecidas e os analitos foram quantificados nas amostras de cafés. Os teores de cafeína, ácido clorogênico, ácido cafeico, HMF e ácido nicotínico foram expressos em mg por 100 g de café torrado moído para as amostras e podem ser observados na Tabela 12.

Tabela 12. Teores de cafeína, CGA, ácido cafeico, HMF e ácido nicotínico em amostras de cafés especiais e tradicionais.

mg/100 g de café torrado moído					
Amostra	**Cafeína**	**CGA**	**Ácido cafeico**	**HMF**	**Ácido nicotínico**
C1	3495 ± 29	2111 ± 2	677 ± 5	90 ± 10	423 ± 20
C2	3334 ± 29	2204 ± 4	891 ± 3	94 ± 9	421 ± 7
C3	3348 ± 13	2255 ± 5	968 ± 2	119 ± 15	403 ± 9
C4	3391± 62	2276 ± 19	818 ± 66	117 ± 30	360 ± 60
C5	3538 ± 21	2266 ± 4	722 ± 3	88 ± 3	388 ± 9
C6	3216 ± 51	2301 ± 4	794 ± 10	78 ± 14	290 ± 54
C7	3912 ± 28	1934 ± 14	809 ± 9	121 ± 12	340 ± 7
C8	3268 ± 12	1502 ± 5	641 ± 5	87 ± 6	309 ± 16
C9	5251 ± 11	833 ± 8	220 ± 6	-	300 ± 10
C10	5118 ± 16	927 ± 3	242 ± 4	-	344 ± 14
C11	4563 ± 14	1235 ± 2	507 ± 14	-	336 ± 12
C12	4222 ± 51	623 ± 13	300 ± 24	-	527 ± 31
C13	6321 ± 37	559 ± 24	334 ± 4	-	608 ± 14
C14	5047 ± 127	613 ± 16	170 ± 2	-	572 ± 10
C15	4124 ± 51	1033 ± 3	323 ± 6	-	570 ± 7
C16	4651 ± 19	1237 ± 18	395 ± 15	-	537 ± 25
C17	4705 ± 20	671 ± 4	232 ± 6	-	515 ± 21

Conforme os resultados apresentados na Tabela 12 foi possível quantificar cafeína, ácido clorogênico, ácido cafeico e ácido nicotínico para as amostras de cafés especiais (C1 a C8) e tradicionais (C9 a C17). O composto HMF foi quantificado apenas nas amostras de cafés especiais. O HMF é considerado marcador de dano térmico (formação diretamente ligada ao calor aplicado ao alimento) para produtos contendo altas concentrações de carboidratos, como: frutas processadas, vegetais desidratados, café, mel e leite (RUFIÁN-HENARES; DELGADO-ANDRADE; MORALES, 2009).

A ausência do HMF nas amostras de cafés tradicionais demonstra o emprego de torra mais intensa que contribuiu para a degradação do composto. O teor encontrado nos

cafés especiais de torra média variou de 78 ± 14 a 121 ± 12 mg/100 g de café torrado moído (Tabela 12). O que está de acordo com as amostras de cafés estudadas por Daglia; Cuzzon e Dacarro (1994) que variaram de 3 a 73 mg/100 g de café. No trabalho de Vignoli *et al.* (2014) foram encontrados teores de até 0,23 g/100 g de HMF para o café arábica e até 0,04 g/100 g para o robusta, ao estudar os efeitos do grau de torra nos compostos bioativos. Murkovic e Bornik (2007) ao acompanhar a formação de HMF em cafés arábica e robusta, observaram o teor máximo no início da torra, seguida de rápida decomposição, atingindo níveis similares em ambos os cafés.

Os teores de cafeína encontrados para as amostras de cafés especiais variaram de 3216 ± 51 a 3912 ± 28 mg/100 g de café torrado moído ou 16 a 20 mg/100 mL de bebida. Para os cafés tradicionais a variação foi de 4124 ± 51 a 6321 ± 37 mg/100 g de café torrado moído ou de 21 a 32 mg/100 mL de bebida, conforme Tabela 12.

As concentrações de cafeína podem apresentar variação muito ampla: o mesmo tipo de grão de café produzido da mesma maneira pode conter níveis de cafeína que variam de 130 a 282 mg por 240 mL de café (VITORINO *et al.*, 2001). Cruz; Vieira e Lira (2017) apresentaram concentrações de cafeína estimadas entre 1400 a 1900 mg por 100 g de café moído. Alves *et al.* (2006) observaram para o café arábica valores de 1360 e 1350 mg de cafeína por 100 g da amostra em base seca, respectivamente para torra escura e média. Teores de 880 a 1230 mg/100 g foram descritos por Daglia; Cuzzoni e Dacarro (1994) para a cafeína em cafés arábicas. No entanto, o estudo realizado por Vignoli (2009), onde o café arábica submetido ao estágio de torra média e preparado de forma convencional, apresentou o teor de cafeína (4920 mg/100 g de café) mais próximo ao quantificado nesse trabalho.

A Resolução nº 12 de 1978 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos determina que o teor mínimo de cafeína para o café torrado e moído deve ser de 0,7% (m/m), dessa forma todas as amostras analisadas nesse estudo atenderam o teor mínimo de cafeína vigente em legislação (BRASIL, 1978).

Conforme a Tabela 12, os teores de ácidos clorogênicos foram quantificados entre 559 ± 24 a 2301 ± 4 mg/100 g de café torrado e moído. Os ácidos clorogênicos, ao contrário da cafeína, não são termicamente estáveis corroborando com os maiores teores encontrados nas amostras de cafés especiais (C1 a C8).

Na literatura foram reportados trabalhos que quantificaram os diferentes isômeros do ácido clorogênico (5-CQA; 4-CQA e 3-CQA), sendo o 5-CQA o mais estudado, por ser o constituinte de maior relevância no café (CLIFFORD, 1999). Nogueira e Trugo (2003) quantificaram o 3-CQA em 225 a 1444 e o 5-CQA em 243 a 1776 mg/100 g em amostras de café solúvel.

Nas amostras de café arábica torrado não embalado, o ácido clorogênico foi estimado em 1189 ± 40 mg/100 g de café (BELGUIDOUM *et al.*, 2014). Alves *et al.* (2006) encontraram para o 5-CQA valores que variaram em função da espécie e da torra, 260 mg/100 g na torra escura 470 mg/100 g na torra média do café arábica. O valor de 5-CQA encontrado por Vignoli (2009) foi igual a 1960 mg/100 g para o café arábica filtrado submetido ao estágio de torra média. O café arábica brasileiro foi relatado com menor variação de 5-CQA (320 a 2030 mg/100 g de café) no trabalho de Daglia; Cuzzoni e Dacarro (1994). Nogueira e Trugo (2003) relataram que amostras obtidas a partir de grãos fortemente torrados apresentaram menores quantidades de ácidos clorogênicos, tendo em vista a labilidade frente ao tratamento térmico. Sendo assim, para o teor de ácido clorogênico, esse trabalho está de acordo ao encontrado na literatura.

O fato dos cafés tradicionais serem normalmente submetidos a estágios de torra mais severos e em grande maioria serem constituídos por *blends* de café arábica e robusta, justifica os teores de cafeína e CGA. Uma vez que maiores teores de cafeína são sempre relatados para a espécie robusta 2,2 - 2,4% do que em café arábica 1,2 - 1,3% (BEE *et al.*, 2005, p. 155). Vignoli *et al.* (2014) encontraram níveis mais altos de trigonelina, furfural, HMF e 5-CQA para o café arábica do que para o café robusta em todos os graus de torrefação estudados, porém os níveis mais altos de cafeína foram encontrados para o café robusta.

O teor de ácido cafeico nas amostras analisadas, Tabela 12, variou de 170 a 968 mg/100 g de café torrado moído entre as amostras (C1 - C17) ou de 8,5 a 48 mg/L da bebida. O café C3 apresentou maior teor do composto e o café C14 o menor teor. Em geral, os maiores teores foram observados para as amostras de café especial o que está de acordo com os maiores teores de ácidos clorogênicos. O teor de ácido cafeico encontrado por Belguidoum *et al.* (2014) variou de 3,01 a 17,97 mg/L, sendo o maior valor encontrado para a amostra de café verde. Para o café arábica não embalado, a concentração de ácido cafeico foi de 4,07 mg/L, inferior à encontrada para a variedade robusta (8,35 mg/L).

Para o ácido nicotínico nas amostras analisadas (Tabela 12), o teor encontrado foi de 290 ± 54 a 608 ± 14 mg/100 g de café torrado moído, sendo o maior teor encontrado para a amostra C13 e o menor para a amostra C6.

Alves *et al.* (2006) relataram que o ácido nicotínico é um composto derivado da trigonelina, formado ou degradado durante a torra dependendo das condições dos processos. Foram obtidos teores de 9 mg/100 g para o café arábica com torra escura a 32 mg/100 g para conilon com torra clara. Daglia *et al.* (1994) quantificaram para o café arábica de diferentes países o teor de ácido nicotínico de 10 a 119 mg/100 g de café e para o café arábica brasileiro de torra média, o teor de 10 mg/100 g. Casal, Oliveira e Ferreira (2000)

relataram o teor desse composto para cafés arábica e conilon em condições de torra (240ºC) com 22% da perda de peso, quantidades de 17 e 13 mg/100 g, respectivamente.

Os cafés especiais estudados apresentaram níveis maiores para CGA, ácido cafeico e HMF em comparação aos cafés tradicionais. Sendo compostos associados aos atributos de aroma e sabor, a quantidade desses compostos pode influenciar e contribuir então para as características sensoriais das amostras classificadas como especial. A ausência dos compostos HMF e os baixos teores de CGA e ácido cafeico nos cafés tradicionais sugerem que estes sofreram torrefação acentuada, o que contribuiu para a degradação dos compostos e também para a perda de características sensoriais.

5.4. Análises de componentes principais (PCA)

As análises de componentes principais foram realizadas para agrupar e correlacionar as amostras com base nos resultados dos teores dos compostos quantificados. As variáveis estudadas foram os teores dos compostos em relação aos cafés especiais e tradicionais, as notas sensoriais e atividade antioxidante. Todas as variâncias explicadas encontradas para PC1xPC2 foram maiores que 70% (RENCHER, 2002).

A Figura 23 apresenta PCA dos compostos quantificados cafeína, CGA, ácido cafeico, HMF e ácido nicotínico correlacionados com o tipo de café especial ou tradicional.

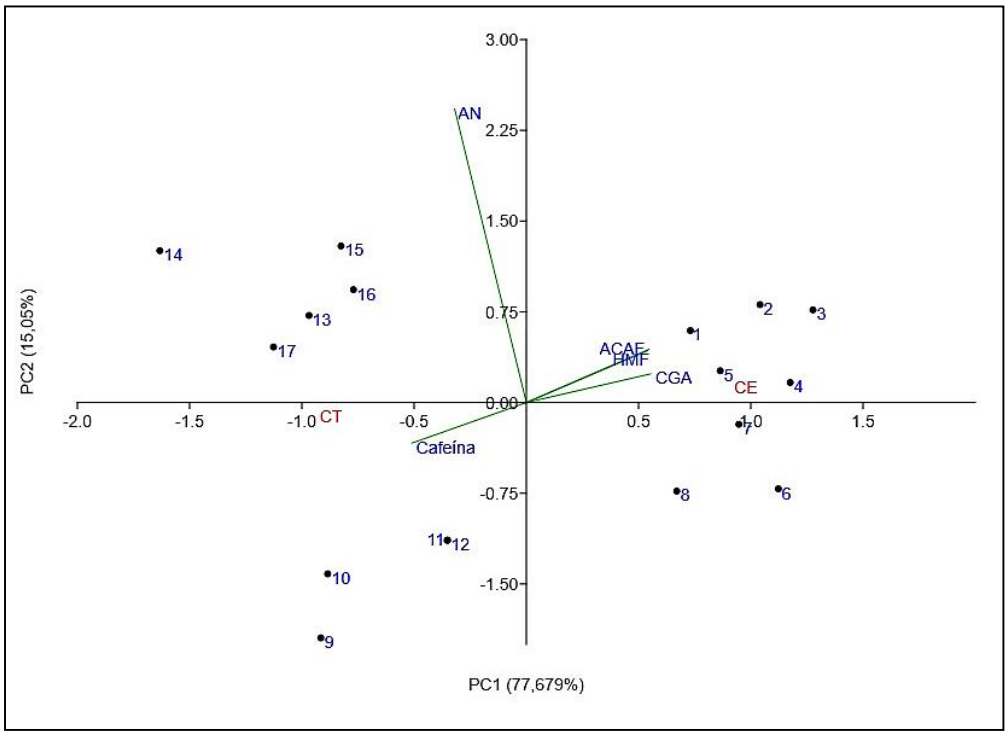


Figura 23. PCA 1, PC1xPC2 (92,73%) para as variáveis, teor de cafeína, CGA, ácido cafeico (ACAF), HMF e ácido nicotínico (AN) para os cafés especiais e tradicionais. Sendo: CT - café tradicional e CE - café especial.

Como observado na PCA 1 (Figura 23), a variância explicada foi de 92,73%. A associação entre os compostos CGA, ACAF, HMF e os cafés epeciais indicam separação em relação às amostras de cafés tradicionais, podendo inferir que a presença desses compostos pode ser determinante de parâmetros sensoriais (acidez, adistringência e amargura) na bebida do café.

Os cafés tradicionais têm maior relação ao teor de ácido nicotínico e cafeína (PC2 da Figura 23) e por estarem opostos a PC1 possuem baixa ou nenhuma concentração de CGA, ACAF e HMF. Os compostos encontrados em maior quantidade para os cafés tradicionais estão associados à menor qualidade e à severidade da torra. A presença do ácido nicotínico indica a severidade da torra, pois o alto teor pode ser explicado devido à formação ao decorrer do estágio de torra.

A fim de analisar a associação entre as notas sensoriais de classificação dos cafés especiais com o teor de cada composto identificado foi construída a PCA 2, Figura 24, com 71,84% da variância explicada.

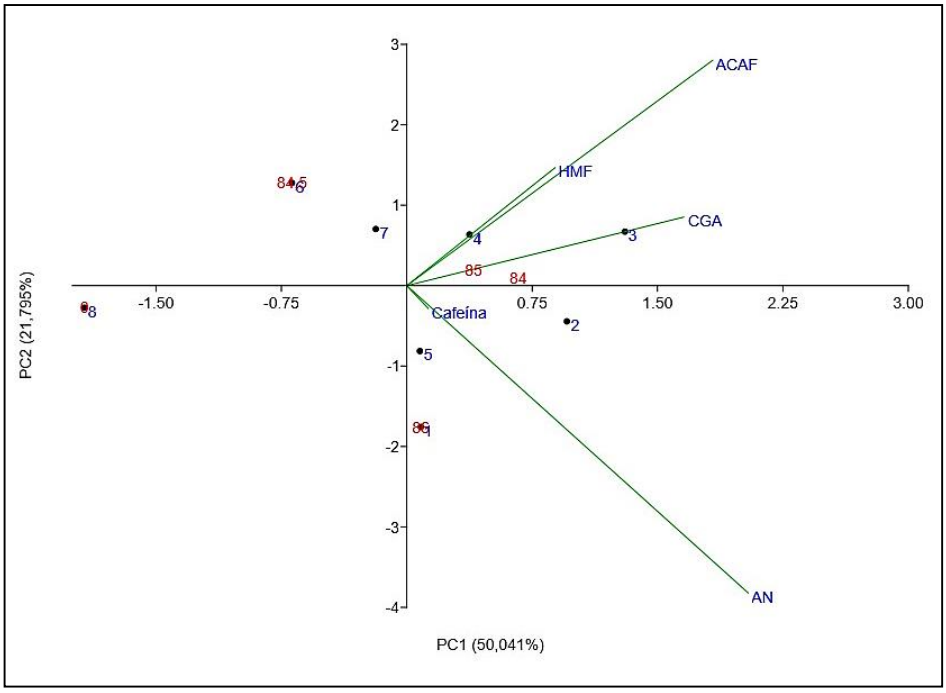


Figura 24. PCA 2, PC1xPC2 (71,84%) para as notas sensoriais dos cafés especiais (C1 a C8) e teores dos compostos cafeína, CGA, ACAF, HMF e AN.

Na PCA 2 foi observada associação entre os teores dos compostos quantificados com as notas obtidas na avaliação sensorial (pontuação na prova da xícara). Os cafés 1 e 5, além de estarem relacionados as maiores notas na prova da xícara, apresentam associação quanto aos teores de cafeína e ácido nicotínico. As notas intermediárias (84 e 85) das

amostras 3 e 4 têm maiores concentrações de CGA, ACAF e HMF. Os cafés 6 e 7 aparecem como intermediários ao PC 2 positivo e não apresentam relação com nenhum dos elementos e também apresentam as menores pontuações.

A atividade antioxidante avaliada em relação aos teores dos compostos pode ser observada na PCA 3 (Figura 25) com 78,41% da variância explicada.

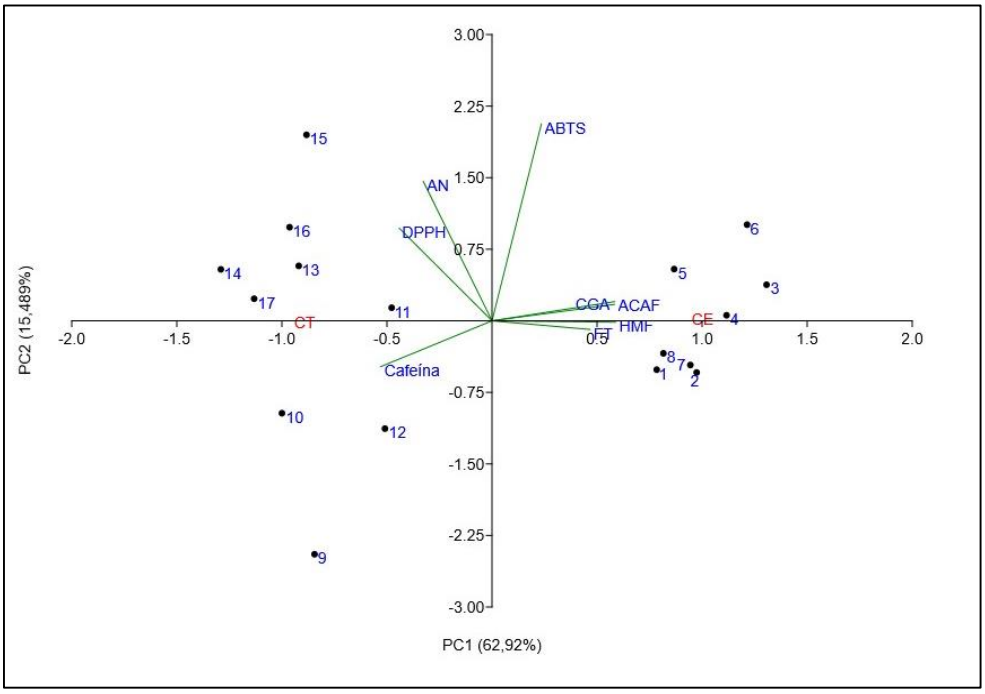


Figura 25. PCA 3, PC1xPC2 (78,41%) para as variáveis, teor de cafeína, CGA, ACAF, HMF e AN e atividade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e fenólicos totais (FT).

Os cafés epeciais na PC1 apresentaram associação da atividade antioxidante aos elementos CGA, ACAF, HMF e com o método ABTS e Folin-Ciocalteau, enquanto os cafés tradicionais apresentam associação da atividade antioxidante ao ácido nicotínico e cafeína com o método DPPH.

6. CONCLUSÃO

A análise da composição química de cafés pode ser empregada na avaliação do grau de torra, qualidade e propriedades funcionais evitando erros associados às notas subjetivas e demanda grande de tempo nas avaliações das bebidas.

As amostras de cafés tradicionais e especiais foram diferenciadas pelos estudos realizados empregando os perfis cromatográficos. As maiores diferenças estão nas quantidades presentes de alguns compostos determinantes das características sensoriais do café. Nos dois tipos de cafés foram identificados e quantificados os ácidos nicotínico, clorogênico e cafeico, além da cafeína. No entanto, hidroximetilfurfural, composto marcador de dano térmico, foi encontrado somente nos cafés especiais.

Os cafés tradicionais são considerados de qualidade inferior e apresentam valores de mercado bem acessíveis. Provavelmente, os processos de torra empregados são mais severos contribuindo para degradações dos ácidos clorogênico e cafeico, compostos associados às características de aroma e sabor da bebida do café. Como são formados por *blends* da espécie arábica e robusta (maior parte), possuem alto teor de cafeína como comprovado nas análises em comparação ao café somente da espécie arábica.

As PCAs foram fundamentais nas visualizações dos grupos de amostras similares, por exemplo, os cafés especiais foram correlacionados aos maiores teores de ácidos clorogênico e cafeico e hidroximetilfurfural com as maiores notas de classificação.

As análises químicas juntamente com as ferramentas estatísticas foram essenciais para analisar a composição química das espécies não voláteis; correlacionar com a classificação da bebida e agrupar por similaridade os cafés especiais e tradicionais.

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (Coffea arabica L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 414–420, 2010.

AL-DUAIS, M. et al. Antioxidant capacity and total phenolics of cyphostemma digitatum before and after processing: Use of different assays. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 5, p. 813–821, 2009.

ALMEIDA, M. B.; BENASSI, M. D. T. Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. Suplp, p. 1893–1900, 6 dez. 2011. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/1893>.

ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Quimica Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010001000033>. Acesso em: 4 jan. 2019.

ALVES, S. T. et al. Metodologia para análise simultânea de ácido nicotínico, trigonelina, ácido clorogênico e cafeína em café torrado por cromatografia líquida de alta eficiência. **Quimica Nova**, v. 29, n. 6, p. 1164–1168, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000600003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 1 ago. 2019.

ANGELONI, G. et al. Characterization and comparison of cold brew and cold drip coffee extraction methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 1, p. 391–399, 2018.

BARBIN, D. F. et al. Application of infrared spectral techniques on quality and compositional attributes of coffee: An overview. **Food Research International**, v. 61, p. 23–32, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.005>.

BEE, S. et al. The raw bean. In: ILLY, A.; VIANI, R. (Ed.). **Espresso Coffee - The Science of Quality**. 2. ed. Oxford: Elsevier Academic, 2005. p. 398.

BELCHIOR, V. et al. Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Spectroscopy (ATR - FTIR) and chemometrics for discrimination of espresso coffees with different sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 273, p. 178–185, 2019.

BELGUIDOUM, K. et al. HPLC coupled to UV-vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 45, n. 4, p. 1314–1320, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876107014000972>. Acesso em: 15 ago. 2018.

BEZZAN, L.; DULGHEROFF, P. **Manual métodos de preparo de café.** Vitória- ES: Sebrae, 2016.

BONNLANDER, B. et al. Roasting. In: ILLY, A.; VIANI, R. (Ed.). **Espresso Coffee - The Science of Quality**. 2. ed. Oxford: Elsevier Academic, 2005. p. 398.

BORRELLI, R. C. et al. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 22, p. 6527–6533, 2002.

BRAND-WILLIAMS; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Sci. Technol.**, v. 28, p. 25–30, 1995.

BRASIL. COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. **Resolução CNNPA nº12, de 1978**. Disponível em: <https://sogi8.sogi.com.br/Arquivo/Modulo113.MRID109/Registro4760/documento 1.pdf>. Acesso em: 29 jan. 2019.

BRASIL. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra Brasileira de Café, segundo levantamento maio 2019. **Monitoriamento Agrícola - Safra 2019**, v. 5, n. 2, p. 1–61, 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa Nº 8, de 11 de junho de 2003. Aprova o regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru**. Disponível em: <http://www.codapar.pr.gov.br/arquivos/File/pdf/cafebenef008_03.pdf>. Acesso em: 7 jun. 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Café no Brasil**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira>. Acesso em: 5 maio. 2018.

BRESSANELLO, D. et al. Coffee aroma : Chemometric comparison of the chemical information provided by three different samplings combined with GC – MS to describe the sensory properties in cup. **Food Chemistry**, v. 214, p. 218–226, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.088>.

BUFFO, R. A.; CARDELLI-FREIRE, C. Coffee flavour : an overview. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 19, p. 99–104, 2004.

CAPRIOLI, G. et al. Quantification of caffeine, trigonelline and nicotinic acid in espresso coffee: The influence of espresso machines and coffee cultivars. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 65, n. 4, p. 465–469, 2014.

CASAL, S.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. HPLC / diode-array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. **Food Chemistry**, v. 68, p. 481–485, 2000.

CHAMBEL, P. et al. Development of an HPLC/diode-array detector method for simultaneous determination of 5-HMF, furfural, 5-O-caffeoylquinic acid and caffeine in coffee. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 20, n. 18, p. 2949–2957, 1997.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 3, p. 362–372, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(19990301)79:3%3C362::AID-JSFA256%3E3.0.CO%0Ahttp://2-d>. Acesso em: 29 jan. 2019.

COOPERATIVA DE CAFEICULTORES E AGROPECUARISTAS. **Alta Mogiana/ Qualidade**. Disponível em: <http://portal.cocapec.com.br/cafe/alta-mogiana/>. Acesso em: 6 jun. 2018.

CRAIG, A. P. et al. Mid infrared spectroscopy and chemometrics as tools for the classification of roasted coffees by cup quality. **Food Chemistry**, v. 245, p. 1052–1061, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461731885X?via%3Dihub>. Acesso em: 19 jun. 2018.

CRUZ, R. G. da et al. Potential antioxidant of brazilian coffee from the region of Cerrado. **Food Science and Technology**, 18 dez. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612017005029101&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 19 jun. 2018.

DAGLIA, M.; CUZZONI, M. T.; DACARRO, C. Antibacterial Activity of Coffee: Relationship between biological activity and chemical markers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 10, p. 2273–2277, 1994.

DEL CASTILLO, M. D.; AMES, J. M.; GORDON, M. H. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3698–3703, 2002.

DONNELLY, J. K.; ROBINSON, D. S. Invited review free radicals in foods. **Free Radical Research**, v. 22, n. 2, p. 147–176, 1995.

DUARTE, S. M. da S. et al. Effect of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee brews. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 387–393, 2005.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee - Minireview. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 23–36, 2006.

FELDMAN, J. R.; RYDER, W. S.; RUNG, J. T. Importance of Nonvolatile Compounds to the Flavor of Coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 17, n. 4, p. 733–739, 1969.

FIGUEIREDO, L. P. **Perfil sensorial e químico de genótipos de cafeeiro bourbon de diferentes origens geográficas**. 2010. Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2010.

GETACHEW, A. T.; CHUN, B.-S. Coffee Flavor. **Encyclopedia of Food Chemistry**, p. 48–53, 1 jan. 2019. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081005965216582>. Acesso em: 19 jun. 2018.

HALLIWELL, B. et al. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601–617, 1 jul. 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/027869159500024V>. Acesso em: 23 ago. 2019.

IKAWA, M. et al. Utilization of folin-ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 7, p. 1811–1815, 2003.

JEON, J. S. et al. Determination of chlorogenic acids and caffeine in homemade brewed coffee prepared under various conditions. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1064, n. April, p. 115–123, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.08.041>.

JIA, S. M. et al. A simple, post-additional antioxidant capacity assay using adenosine triphosphate-stabilized 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) radical cation in a G-quadruplex DNAzyme catalyzed ABTS-H 2O 2 system. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 35, n. 1, p. 407–412, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2012.03.029>.

KÖSEOGLU YILMAZ, P.; KOLAK, U. SPE-HPLC Determination of Chlorogenic and Phenolic Acids in Coffee. **Journal of chromatographic science**, v. 55, n. 7, p. 712–718, 2017.

MALTA, M. R. et al. Composição química, produção e qualidade do café fertilizado com diferentes fontes e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 1246–1252, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cagro/v27n6/06.pdf>. Acesso em: 5 maio. 2018.

MARQUES, B. **Regiões produtoras de café no Brasil**. Disponível em: <http://revistacafeicultura.com.br/?mat=3348>. Acesso em: 12 jan. 2019.

MEJIA, E. G. de; RAMIREZ-MARES, M. V. Impact of caffeine and coffee on our health. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 25, n. 10, p. 489–492, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2014.07.003>. Acesso em: 18 jun. 2018.

MORAIS, S. A. L. de et al. Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (Coffea arabica) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 198–207, 2008.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, 29 out. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967304014098?via%3Dihub>. Acesso em: 6 jun. 2018.

NASCIMENTO, P. M. do. **Estudo da composição química, atividade antioxidante e potencial odorífico de um café conillon, em diferentes graus de torrefação e análise comparativa com café arábica**. 2006. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006.

NOGUEIRA, M.; TRUGO, L. C. Distribuição de isômeros de ácido clorogênico e teores de cafeína e trigonelina em cafés solúveis brasileiros. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 296–299, 2003.

PAULA, R. A. de O. et al. Avaliação do efeito antioxidante da bebida de café solúvel cafeinado e descafeinado *In vitro e In vivo*. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 36, n. 3, p. 399–406, 2015.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 98, p. 1231–1237, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584998003153>. Acesso em: 11 dez. 2018.

RENCHER, A. C. **Methods of Multivariate Analysis**. 2. ed. Canada: John Wiley & Sons, Inc., 2002.

RIBEIRO, D. E. **Descritores químicos e sensoriais para discriminação da qualidade da bebida de café arábica de diferentes genótipos e métodos de processamento.** 2017. Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2017.

RIBEIRO, F. C. et al. Qualidade de bebida, condutividade elétrica e lixiviação de potássio de grãos de café (Coffea arabica L.) submetidos a diferentes métodos de degomagem biológica. In: VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Vitória- ES. **Anais**... Vitória- ES: SPCB, 2009. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/2902>. Acesso em: 5 maio. 2018.

RIBEIRO, J. S. et al. Uso de perfis cromatográficos de voláteis de cafés arábicas torrados para a diferenciação das amostras segundo o sabor, o aroma e a qualidade global da bebida. **Quimica Nova**, v. 33, n. 9, p. 1897–1904, 2010.

RIBEIRO, J. S.; FERREIRA, M. M. C.; SALVA, T. J. G. Chemometric models for the quantitative descriptive sensory analysis of Arabica coffee beverages using near infrared spectroscopy. **Talanta**, v. 83, n. 5, p. 1352–1358, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2010.11.001>.

RODARTE, M. P. **Análise sensorial, química e perfil de constituintes voláteis de cafés especiais**. 2008. Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2008.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 235–254, 2005.

ROMERO, N. G. **Extração de compostos fenólicos a partir de café e sua caracterização química e funcional**. 2017. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2017. Disponível em: <https://run.unl.pt/bitstream/10362/22178/1/Romero_2017.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2018.

ROSTAGNO, M. A. et al. **Phenolic compounds in coffee compared to other beverages**. Campinas, São Paulo, Brazil: Elsevier Inc., 2015.

RUFIÁN-HENARES, J. Á.; DELGADO-ANDRADE, C.; MORALES, F. J. Non-enzymatic browning: The case of the Maillard reaction. In: DELGADO-ANDRADE, C.; RUFIÁN-HENARES, J. Á. (Ed.). **Assessing the generation and bioactivity of neo-formed compounds in thermally treated foods**. Granada: Editorial Atrio, 2009. p. 98.

RUFIAN-HENARES, J. A.; GARCIA-VILLANOVA, B.; GUERRA-HERNANDEZ, E. Determination of furfural compounds in enteral formula. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 24, n. 19, p. 3049–3061, 2001.

RUFINO, M. do S. M. et al. Metodologia Científica : Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. **Comunicado Técnico. Embrapa Agroindústria Tropical**, n. 128, p. 4, 2007. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_128.pdf>. Acesso em: 11 dez. 2018.

SALVA, T. J. G.; LIMA, V. B. de. A composição química do café e as características da bebida e do grão. **O Agronômico**, v. 59, n. 1, 2007. Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/agronomico/pdf/v59_artigo13.pdf>. Acesso em: 5 maio. 2018.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, I. et al. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). **Food Chemistry**, v. 90, n. 1–2, p. 133–139, 2005.

SANTOS, M. H. et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604–610, 2007.

SEPÚLVEDA, W. S. et al. Consumers' preference for the origin and quality attributes associated with production of specialty coffees: Results from a cross-cultural study. **Food Research International**, v. 89, p. 997–1003, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.03.039>. Acesso em: 18 jun. 2018.

SINGHARA, A.; MACKU, C.; SHIBAMOTO, T. **Antioxidative activity of brewed coffee extracts**. Washington: American Chemical Society, 1998.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. Traducao Ignez Caraceli et al. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SOUZA, R. M. N. de et al. Teores de compostos bioativos em cafés torrados e moídos comerciais. **Quimica Nova**, v. 33, n. 4, p. 885–890, 2010.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. **Protocolo para Análise Sensorial de Café - Metodologia SCAA.** Disponível em: <http://coffeetraveler.net/wp-content/files/901-SCAA_CuppingProtocols_TSC_DocV_RevDec08_Portuguese.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2018.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. **Article by Ric Rhinehart: What is Specialty Coffee?** Disponível em: <http://scaa.org/?page=RicArtp1>. Acesso em: 19 abr. 2018.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Unopar Cientifíca Ciências biologicas e da saúde**, v. 14, n. 4, p. 263–270, 2012. Disponível em: <http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/JHealthSci/article/viewFile/885/850>. Acesso em: 4 jan. 2019.

SUNARHARUM, W. B.; WILLIAMS, D. J.; SMYTH, H. E. Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. **Food Research International**, v. 62, p. 315–325, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.030>. Acesso em: 18 jun. 2018.

TOFALO, R. et al. Coffee: Health Effects. In: **Encyclopedia of Food and Health**. 1. ed. Itália: Elsevier, 2016. p. 237–243.

TOLESSA, K. et al. Prediction of specialty coffee cup quality based on near infrared spectra of green coffee beans. **Talanta**, v. 150, p. 367–374, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914015305671?via%3Dihub>. Acesso em: 23 maio. 2018.

VIGNOLI, J. A. **Efeito da matéria-prima e do processamento nos compostos bioativos e na atividade do café**. 2009. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, 2009.

VIGNOLI, J. A. et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International**, v. 61, p. 279–285, 1 jul. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913003335>. Acesso em: 1 ago. 2019.

VITORINO, M. D. et al. Metodologias de obtenção de extrato de café visando a dosagem de compostos não voláteis. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 3, p. 17–24, 2001. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/291979569_Metodologias_de_obtencao_de_extrato_de_cafe_visando_a_dosagem_de_compostos_nao_volateis>. Acesso em: 27 jul. 2019.

YOKOZAWA, T. et al. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. **Biochemical Pharmacology**, v. 56, n. 2, p. 213–222, 1998.

ZAIDAN, Ú. R. et al. Ambiente e variedades influenciam a qualidade de cafés das matas de minas. **Coffee Science**, v. 12, n. 2, p. 240–247, 2017. Disponível em: <http://coffeescience.ufla.br/index.php/Coffeescience/article/view/1256>. Acesso em: 5 maio. 2018.