Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Avaliação do efeito da adição de ingredientes sobre os
compostos fenólicos e a capacidade antioxidante de cápsulas
de café expresso e sua bioacessibilidade

Maiara Jurema Soares

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde
Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Nutrição

Orientadora: Prof^ª. Dr. Elizabeth Aparecida Ferraz da
Silva Torres

São Paulo

2018

Avaliação do efeito da adição de ingredientes sobre os
compostos fenólicos e a capacidade antioxidante de cápsulas
de café expresso e sua bioacessibilidade

Maiara Jurema Soares

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde
Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Nutrição

Orientadora: Prof^a. Dr. Elizabeth Aparecida Ferraz da
Silva Torres

Versão corrigida
São Paulo
2018

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

Dedico aos meus pais, Geraldo e Divina,
por todo amor, incentivo e compreensão.
Ao meu namorado Roberto, pelo apoio em todos
os momentos.
A Deus, por tudo.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo.

Aos meus pais, por estarem sempre presente em todos os momentos, me apoiando, me dando amor, educação e sonhos.

Ao meu namorado, familiares e amigos que me apoiaram e incentivaram ao longo desses anos.

A professora Dr^a. Elizabeth Aparecida Ferraz Da Silva Torres, pela oportunidade de execução do projeto, apoio científico, confiança e orientação.

A técnica de laboratório Dr^a. Geni Sampaio, por todo suporte e apoio técnico e científico, paciência, dedicação e ensinamentos.

A técnica de laboratório Dr^a. Rosana Soares, por todo ensinamento, paciência e suporte químico.

As meninas do laboratório Glória, Marcela e Ana Clara, por sempre me apoiarem e por toda a ajuda.

A Faculdade de Saúde Pública da Universidade São Paulo, pela oportunidade da realização do mestrado e ao mesmo tempo de um sonho.

A banca, por contribuírem com o meu aprendizado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

A empresa Nespresso, pela doação das máquinas e as cápsulas de café.

“A mente que abre uma nova janela, jamais volta
ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

RESUMO

SOARES, M.J. Avaliação do efeito da adição de ingredientes sobre os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante das cápsulas de café expresso e sua bioacessibilidade. [Dissertação de Mestrado]. Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública, Faculdade de Saúde Pública – USP. São Paulo, 2018.

Introdução: O café é a segunda bebida mais consumida do mundo. O grão de café é uma das mais importantes “commodities” alimentares, sendo o principal produto de exportação agrícola. A produção mundial de café na safra 2016-2017 alcançou 153,869 milhões de sacas de 60 quilos. A bebida de café é consumida sob diversos métodos e preparações e a adição de açúcar e/ou leite são as mais comuns. O crescente consumo de cápsula de café expresso vem ganhando os lares da população brasileira com aumento de 29 % de 2010 a 2015, com estimativa de crescimento na ordem de 18 % de 2015 até 2020. A busca por diferentes tipos de café está relacionada com os efeitos sensoriais que o café pode exercer para os humanos. Entretanto, o café é considerado uma bebida bioativa com efeito antioxidante que atua como anticancerígeno, anti-obesidade, antidiabético, anti-hipertensivo e hepatoprotetor. Deste modo faz-se necessário avaliar a atividade antioxidante das cápsulas de café expresso de acordo com sua intensidade (torra) e avaliar o efeito da adição de ingrediente sobre os compostos fenólicos, a atividade antioxidante e sua bioacessibilidade. **Objetivo:** Avaliar o efeito de diferentes intensidades de torra e da adição de ingrediente sobre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante das cápsulas de café expresso e sua bioacessibilidade. **Material e Métodos:** O presente projeto foi dividido em dois ensaios. O primeiro ensaio contou com quatorze cápsulas comerciais de café expresso, sendo treze tradicionais e uma descafeinada. O segundo ensaio contou com três cápsulas, sendo duas tradicionais e uma descafeinada. Todas foram adquiridas em

estabelecimentos comerciais da cidade de São Paulo. No primeiro ensaio as bebidas foram preparadas como descrito na embalagem usando uma cafeteira doméstica e água. No segundo ensaio, às bebidas (preparadas de acordo ao primeiro ensaio), foram adicionados 40 mL leite e/ou 5 g de açúcar. A atividade antioxidante foi investigada pelo ensaio de eliminação de radicais ABTS, pela capacidade de absorção de radicais peroxila de oxigênio pelo (ORAC) e a capacidade de eliminação de radicais DPPH. O teor total de fenólicos foi determinado pelo método de *Folin-Ciocalteu*, as melanoidinas foram avaliadas pela absorbância a 420 nm e a digestão *in vitro* foi realizada por hidrólise assistida por enzimas digestivas. O perfil fenólico foi avaliado por CLAE/DAD. A capacidade de inibição da peroxidação lipídica foi determinada pela medição de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). **Resultados:** No primeiro ensaio, todas as bebidas de café em cápsula apresentaram atividade antioxidante de acordo os métodos ORAC, DPPH e ABTS, variando de acordo a intensidade (torra) de cada cápsula. O teor de fenólicos variou de 191,41 a 374,36 mg equivalentes de ácido clorogênico/dose de café e as melanoidinas variaram entre 0,197 nm e 0,372 nm. No segundo ensaio, os fenólicos totais variaram de 129,40 a 541,81 mg equivalentes de ácido clorogênico/dose nas bebidas digeridas e não digeridas, respectivamente. A atividade antioxidante foi maior nas bebidas com adição de leite. O teor total de fenólicos foi maior nas amostras não digeridas. O perfil fenólico encontrado nas amostras não digeridas e digeridas, foi cafeína, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico e ácido ferúlico. Após a digestão *in vitro*, os ácidos fenólicos e a cafeína estavam mais bioacessíveis nas bebidas de café com adição leite e com leite e açúcar em comparação com as bebidas de café puras. As bebidas não digeridas apresentaram menor produção de TBARS em relação àquelas digeridas. **Conclusão:** Todas bebidas de café expresso em cápsulas estudadas apresentaram atividade antioxidante. A maior intensidade da torra pode influenciar a quantidade de fenólicos totais e atividade antioxidante. O conteúdo de ácidos fenólicos e cafeína e a atividade antioxidante das bebidas

dependem dos ingredientes adicionado à preparação. Os compostos são mais bioacessíveis em bebidas com leite com açúcar e com leite, em comparação com bebidas puras. Os resultados sugerem que existem interações entre ácidos fenólicos e componentes do leite por meio de interação hidrofóbicas e/ou hidrofílicas que afetam a biodisponibilidade de ambos.

Palavras-chave: cápsula de café, café expresso, leite, açúcar, antioxidante, compostos fenólicos, bioacessibilidade, digestão *in vitro*.

ABSTRACT

SOARES, M.J. Evaluation of the effect of the addition of ingredients on the phenolic compounds and the antioxidant capacity of espresso capsules and its bioaccessibility. [Dissertation]. Postgraduate Program in Nutrition in Public Health, Faculdade de Saúde Pública – USP. São Paulo, 2018.

Introduction: Coffee is the second most consumed drink in the world. Coffee beans are one of the most important food “commodities” being the main agricultural export product. World coffee production in the 2016-2017 harvest reached 153,869 million bags of 60 kilos. The coffee drink is consumed of several methods and preparations, the addition of sugar and / or milk is the most common. The increasing consumption of espresso capsules has been gaining the homes of the Brazilian population with a 29% increase from 2010 to 2015, with an estimated growth of around 18% from 2015 to 2020. The search for different types of coffee is related to the sensory effects that coffee can exert on humans. However, coffee is considered a bioactive beverage with antioxidant effect that acts as anticancer, anti-obesity, antidiabetic, antihypertensive and hepatoprotective. Thus, it is necessary to evaluate the antioxidant activity of the espresso capsules according to their intensity (roast) and to evaluate the effect of the addition of the ingredient on the phenolic compounds, the antioxidant activity and its bioaccessibility. **Objective:** To evaluate the effect of different roast intensities and the addition of the ingredient on the phenolic compounds and the antioxidant activity of the espresso capsules and its bioaccessibility. **Material and Methods:** The present project was divided into two trials. The first trial included: Fourteen commercial espresso capsules, thirteen traditional and one decaffeinated. The second trial had three capsules, two traditional and one decaffeinated. Both were purchased at food stores in the city of São Paulo. In the first assay the beverages were prepared as described on the package using a domestic kettle and water. In the second assay, the beverages were prepared according to the first test, but 40 ml of milk and / or

5 g of sugar. The antioxidant activity was investigated by the ABTS radical scavenging assay, oxygen radical scavenging ability (ORAC) and the DPPH radical scavenging ability. The total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method, as melanoidins were evaluated for absorbance at 420 nm and an *in vitro* digestion was performed by digestive enzyme assisted hydrolysis. The phenolic profile was evaluated by HPLC / DAD. Lipid peroxidation was determined by the action of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS).

Results: In the first trial, all capsule coffee beverages presented antioxidant activity according to the ORAC, DPPH and ABTS methods, varying according to the intensity (roast) of each capsule. The phenolic range ranged from 191.41 to 374.36 mg of chlorogenic acid equivalent / mL of coffee and the melanoidins ranged from 0.197 nm to 0.372 nm. In the second assay, total phenolics ranged from 129.40 to 541.81 mg equivalents of chlorogenic acid / dose in the digested and undigested beverages, respectively. The antioxidant activity was higher in beverages with milk addition. The total phenolic content was higher in the undigested samples. The phenolic profile found in the undigested and digested samples was caffeine, chlorogenic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid and ferulic acid. After *in vitro* digestion, phenolic acids and caffeine were more bioaccessible in coffee drinks with added milk and with milk and sugar compared to pure coffee beverage. Undigested beverages presented lower TBARS production in relation to those digested. **Conclusions:** All espresso drinks in capsules studied have antioxidant activity. The intensity can influence the amount of total phenolics and antioxidant activity. The content of phenolic acids and caffeine and the antioxidant activity of the beverages depend on the ingredients added to the preparation. The compounds are more bioavailable in milk and sugar milk beverages compared to pure beverages. The results suggest that there are interactions between phenolic acids and milk components through hydrophobic and / or hydrophilic interaction that affects the bioavailability of both.

Keywords: coffee capsule, espresso, milk, sugar, antioxidant activity, phenolic compounds, bioaccessibility, *in vitro* digestion.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Café e saúde	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	27
2.1 Estresse oxidativo	27
2.2. Antioxidantes	29
2.3 Café	33
2.3.1 Formas de preparo da bebida de café	34
2.3.2 Café em cápsula	36
2.4 Descafeinação	38
2.5 Aroma, sabor e intensidade	39
2.6 Caracterização química do café	40
2.6.1 Ácidos fenólicos	41
2.6.2 Ácido clorogênico	43
2.6.3 Trigonelina	45
2.6.4 Cafeína	45
2.6.5 Diterpenos	47
2.6.5.1 Cafestol e Kaweol	47
2.7 Biodisponibilidade e absorção dos ácidos fenólicos	48
3 JUSTIFICATIVA	52
4 HIPÓTESE	52
5 OBJETIVOS	53
5.1 Objetivo geral	53
5.2 Objetivos específicos	53
6 MATERIAL E MÉTODOS	54
6.1 Material	54
6.1.1 Preparo das bebidas	55
6.2 Segundo ensaio	55
6.3 Métodos	57
6.3.1 Produtos químicos e reagentes	57
6.3.2 Atividades antioxidantes	57
6.3.2.1 Quantificação de compostos fenólicos totais	57
6.3.2.2 Determinação do perfil de compostos fenólicos	58

6.3.2.3 Determinação da capacidade antioxidante por DPPH	60
6.3.2.4 Determinação da atividade <i>scavenger</i> do radical ABTS	61
6.3.2.5 Capacidade de absorbância de radical oxigênio (ORAC)	62
6.4 Melanoidinas	64
6.5 Desproteínização	64
6.5.1 Preparo das bebidas com antioxidante sintético	64
6.6 Digestão <i>in vitro</i>	65
6.7 Inibição da peroxidação lipídica (TBARS).....	66
7 ANÁLISE DE DADOS	68
7.1 Análise estatística.....	68
8 RESULTADO E DISCUSSÃO	69
8.1 ENSAIO 1	69
8.1.1 Atividade antioxidante das bebidas de café em cápsulas de acordo com sua intensidade	69
8.2 ENSAIO 2	77
8.2.1 Atividade antioxidante das bebidas não digeridas e digeridas com e sem adição de ingredientes	77
8.3 Fenólicos totais	83
8.3.1 Perfil de fenólicos	86
8.3.2 Bioacessibilidade	89
8.4 Peroxidação lipídica	95
9 LIMITAÇÃO DO ESTUDO	99
10 CONCLUSÃO	100
11 CONSIDERAÇÕES FINAIS	101
12 CONFLITO DE INTERESSES	102
REFERÊNCIAS	103
CURRICULO LATTES	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Benefícios do café e seus componentes contra o diabetes mellitus.....	20
Tabela 2. Resumo de algumas associações do efeito do café nas doenças cardiometabólicas.	22
Tabela 3. Espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies não radicais livres	27
Tabela 4. Tipos de torra e suas características.....	39
Tabela 5. Ácidos fenólicos encontrados no café	43
Tabela 6. Concentração de cafeína em bebidas de café.....	46
Tabela 7. Descrição geral das cápsulas analisadas nesse estudo	54
Tabela 8. Gradiente de concentração.....	59
Tabela 9. Fenólicos totais, melanoidinas e atividade antioxidante de bebidas de café expresso em cápsulas conforme sua intensidade	69
Tabela 10. Atividade antioxidante das bebidas de café em cápsulas: puras e com adição de leite e/ou açúcar antes e após digestão <i>in vitro</i>	78
Tabela 11. Teor de fenólicos totais nas bebidas de café puro e com adição de ingredientes antes e após digestão <i>in vitro</i>	84
Tabela 12. Identificação dos compostos fenólicos e cafeína	88
Tabela 13. Teor de cafeína e compostos fenólicos presente nas bebidas com e sem adição de ingredientes antes e pós digestão <i>in vitro</i>	90
Tabela 14. Inibição da peroxidação lipídica pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	96

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classificação dos antioxidantes	31
Figura 2. Variedade de consumo de café	34
Figura 3. Métodos de preparo do café	35
Figura 4. Modelo de preparação de bebida de café em cápsula	37
Figura 5. Classificação das torras segundo sistema Agtron	41
Figura 6. Estrutura geral dos ácidos fenólicos.....	42
Figura 7. Estrutura química ácido clorogênico e dos ácidos que compõem os CGAs	44
Figura 8. Estrutura química da trigonelina	45
Figura 9. Estrutura química da cafeína.....	46
Figura 10. Estrutura química do cafestol e kahweol	47
Figura 11. Possível rota de absorção dos ácidos fenólicos.....	49
Figura 12. Esquema das supostas vias de metabolismo dos ácidos clorogênicos	51
Figura 13. Modelo de máquina utilizada.....	55
Figura 14. Desenho do estudo	56
Figura 15. Teores de fenólicos totais determinados pelo método de <i>Folin-Ciocalteu</i>	70
Figura 16. Melanoidina (absorbância) em espectrofotômetro de acordo a intensidade da bebida de café	72
Figura 17. Análise de componente principal entre intensidade e os métodos de atividade antioxidante	75
Figura 18. Cromatogramas CLAE-DAD (272 nm e 324 nm) nas bebidas de café não digeridas e digeridas puras e com adição de leite e/ou açúcar.	87

SIGLAS UTILIZADAS

Ácido clorogênico	ACG / CGA
Ácido clorogênico	5-CQA
Ácido cafeoilquínicos	CGAs
Ácido feruloilquínicos	FQA
Ácido cumaroilquínico	pCoQA
Arranjo de diodos	DAD
Associação brasileira da indústria de café	ABIC
Atividade antioxidante	AA
Catalase	CAT
Cromatografia líquida de alta eficiência	CLAE / HPLC
Detector de diodos	DAD
Diabetes mellitus	DM
Doença cardiovascular	DCV
Doença crônica não transmissíveis	DCNTs
Espécie reativa de oxigênio	ERO / ROS
Espécie reativa de nitrogênio	ERN
Fenólico total	FT
Ácido desoxirribonucleico	DNA
Índice de massa corporal	IMC
Incretina (Glucagon-like peptide-1)	GLP-1
Glutathione peroxidase	GPx
Malonaldeído	MDA
Organização mundial da saúde	OMS
Radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila	DPPH
Radical [2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin) - 6sulfônico]	ABTS
Radical oxigênio	ORAC
Superóxido dismutase	SOD
Substância reativa ao ácido tiobarbitúrico	TBARS
TROLOX	TEAC

1 INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) constituem a primeira causa de mortalidade no mundo, caracterizada como um dos maiores problemas de saúde pública da atualidade. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) as DCNTs foram responsáveis por aproximadamente 70 % de um total de 38 milhões de mortes ocorridas no mundo em 2014 (1). No Brasil, em 2013 as DCNTs foram responsáveis por 72,6 % das causas de morte, com destaque para as doenças cardiovasculares (29,7 %), neoplasias (16,8 %), doenças respiratórias crônicas (5,9 %) e diabetes (5,1 %) (2). Segundo a OMS (2011), um pequeno conjunto de fatores de risco responde pela grande maioria das mortes por DCNT e por fração substancial da carga de doenças devida a essas enfermidades. Entre esses fatores, destacam-se o tabagismo, o consumo excessivo de bebidas alcoólicas, dietas inadequadas e sedentarismo.

Desta forma a nutrição está focada em enfrentar os desafios que surgem devido à crescente conscientização das pessoas sobre as propriedades de promoção da saúde em relação as dietas (3) . É evidente que os componentes alimentares devem, por definição, estar biodisponíveis de alguma forma para exercerem efeitos biológicos (4). Os componentes fisiologicamente ativos, tanto os nutrientes essenciais como os bioativos (às vezes chamados de "fitoquímicos") podem contribuir para esses benefícios a saúde (5). Sugere-se que os compostos antioxidantes em alimentos com diferentes características químicas atuam sinergicamente integrados para proteger o corpo humano contra danos oxidativos (6).

Neste sentido o café tem sido reconhecido pelo seu benefício à saúde humana devido à presença de antioxidantes em sua composição (7, 8). Substâncias tais como os ácidos fenólicos provenientes do ácido hidroxicinâmico (caféico, clorogênico, *p*-cumárico, ferúlico e ácido sinápico), e também a presença de outras substâncias como (cafeína, ácido nicotínico,

trigonelina, ácido quinolínico, ácido tânico, ácido pirogálico) (9), oferecem efeitos benéficos à saúde humana.

1.1 Café e saúde

Estudos epidemiológicos e ensaios clínicos têm associado o consumo de café com efeitos benéficos na saúde humana e relatam associação benéfica entre café e as doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) pela ação das substâncias antioxidantes encontradas no café, benefício que inclui efeitos anticancerígenos, anti-obesidade, antidiabéticos, anti-hipertensivos e hepatoprotetores. Os resultados sobre o efeito na doença cardiovascular são conflitantes por causa dos efeitos negativos da cafeína, kahweol e cafestol (7, 8, 10, 11), que são dois diterpenos, encontrados em maior quantidade em café “não filtrado” (exemplo o café expresso), os quais estão relacionados com aumento do colesterol sérico (12). Porém, esses efeitos negativos parecem ser reduzidos ou neutralizados pelos ácidos clorogênicos (CGAs). Além disso, essas descobertas em humanos são apoiadas por experimentos baseados não apenas *in vitro*, mas em células e *in vivo* (animais e/ou humanos) (11).

A associação benéfica do ácido clorogênico com algumas doenças tem sido mostrada em alguns estudos. Identificou-se um estudo randomizado controlado com 28 indivíduos, os quais recebiam 140 mg/dia de CGA e/ou placebo. Foram avaliados a pressão arterial, pulso e índice de massa corporal (IMC). O estudo revelou que no grupo que recebia CGA a pressão arterial (sistólica e diastólica) diminuiu significativamente durante o período da suplementação, e não houve diferença no IMC e no pulso entre os grupos (CGA e placebo) (13).

Em outro ensaio clínico verificou-se a relação entre o consumo de café e café descafeinado com a tolerância à glicose. O ensaio foi randomizado, duplo cego no qual os indivíduos avaliados eram homens (n=15) com sobrepeso (IMC entre 25 e 35 kg/m²). Os compostos do café avaliados foram o ácido clorogênico e trigonelina. Observou-se que após a

ingestão de café os níveis de glicose e insulina foram reduzidos significativamente (14). OLTHOF (15) encontrou resultados similares quando verificou o efeito do ácido clorogênico sobre a GLP-1. O consumo de café agudamente melhorou a tolerância à glicose por meio de efeitos sobre a secreção do hormônio incretina. Deste modo, os ácidos clorogênicos desempenham um papel fundamental no metabolismo da glicose, uma vez que existe uma relação inversa do consumo de café com o desenvolvimento do diabetes mellitus; outros compostos presentes no café também podem ser benéficos contra o diabetes (Tabela 1) (3).

Tabela 1. Benefícios do café e seus componentes contra o diabetes mellitus

Componente funcional do café	Benefício da saúde
Café	<ul style="list-style-type: none"> • Relações inversas com diabetes • Melhora o potencial antioxidante do corpo • Melhora tolerância à glicose
Café descafeinado	<ul style="list-style-type: none"> • Atrasa a absorção intestinal da glicose • Aumento do peptide-1 semelhante ao glucagon (secreção de insulina induzida pela glicose e ação da insulina)
Cafeína	<ul style="list-style-type: none"> • Menor risco de diabetes mellitus • Reduz o armazenamento de glicose • Hipoglicemiante
Ácido clorogênico	<ul style="list-style-type: none"> • Melhora o metabolismo da glicose • Reduz a glicose precoce • Reduz a resposta de insulina • Efeito antioxidante • Inibe a glicose-6-fosfatase • Melhora a distribuição mineral
Quinidas	<ul style="list-style-type: none"> • Aumenta a sensibilidade à insulina
Ácido quínico	<ul style="list-style-type: none"> • Melhora o metabolismo da glicose
Trigonelina	<ul style="list-style-type: none"> • Melhora o metabolismo da glicose

Fonte: BUTT E SULTAN (3) adaptado.

A influência do consumo habitual de café nas doenças crônicas não transmissíveis vem sendo objeto de muitos estudos cujos resultados vêm sendo apresentados em revisões

sistemáticas, meta-análises e estudos clínicos randomizados ou prospectivos (Tabela 2) (16). O consumo habitual de < 1 a 3 xícaras de café por dia está associado com benefício à saúde, diminuição do risco de mortalidade por doenças cardiovasculares, relação inversa com o diabetes, efeito hepatoprotetor, prevenção de trombose, câncer e doenças provenientes de espécies reativas formadas pelo processo de estresse oxidativo (17-21).

Tabela 2 Evidências da literatura sobre associações do efeito do café nas doenças cardiometabólicas.

Doença	Referência	Ano		
			Delineamento do estudo	Resultados do estudo
Diabetes mellitus	Alperet (17)	2018	Estudo randomizado. Duração de 24 semanas, com 126 participantes com sobrepeso e resistência à insulina (HOMA-IR $\geq 1,30$), faixa etária 35 a 69 anos. Ingeriam 4 xícaras de café instantâneo ou 4 xícaras do placebo.	O consumo de 4 xícaras/dia de café por 24 semanas não alterou significativamente a sensibilidade à insulina em comparação com placebo. Não houve diferenças significativas na glicemia de jejum e nos mediadores biológicos de resistência à insulina, como a adiponectina plasmática. Porém houve uma perda de peso corporal significativa e uma diminuição da massa gorda.
Diabetes mellitus	Ding (22)	2014	Meta-análise. 28 estudos prospectivos, com 1109 participantes e 45 casos de diabetes tipo 2. A duração do acompanhamento foi de 10 meses a 20 anos. No qual os indivíduos ingeriam de 1 a 6 xícaras/dia de café e/ou café descafeinado.	O consumo de café foi inversamente associado com o risco de diabetes tipo 2 em uma forma de dose resposta. O café cafeinado e descafeinado foram associados ao reduzir os riscos de diabetes.
Diabetes mellitus	Jiang (23)	2014	Meta-análise. 26 estudos, com 1096 participantes e 50 casos de DM2. 10 estudos, com 491 participantes e 29 casos de DM2. Em todos os estudos os indivíduos ingeriam café cafeinado e/ou descafeinado. Análise dose resposta.	Ambos os estudos observaram que a ingestão de café e cafeína pode reduzir significativamente a incidência de DM2.
Diabetes mellitus	Whitehead and White (24)	2013	Revisão sistemática. 253 estudos, 9 ensaios com 134 participantes (DM1 e 2 e DM gestacional). Os participantes ingeriram ~ 200-500 mg de cafeína e o/ ou 400-500 mg. Foram avaliados [] glicose no sangue, [] de insulina.	DM2 gestacional: a ingestão de ~200-500 mg de cafeína diminuiu a sensibilidade à insulina. Diminuiu a [] de glicose no sangue e a [] de insulina. DM1: a ingestão de 400-500 mg de cafeína reduziu os episódios de hipoglicemia, porém não houve alteração na hemoglobina glicada. DMG: a ingestão de 200 mg de cafeína induziu uma diminuição da sensibilidade da insulina e um aumento da [] de glicose no sangue

Tabela 2. Continuação.

Doença	Referência	Ano	Delineamento do estudo	Resultados do estudo
Diabetes mellitus	Muley (25)	2012	Revisão sistemática. 13 estudos de coorte, com 12473 participantes 9473 casos incidentes de DM2. Foi avaliado o risco de DM2 entre pessoas que ingeriam diferentes dose de café (<2 xícaras/dia) de (4 a 6 xícaras dia) e (6 a 7 xícaras/ia)	Os participantes que consumiram 4 a 6 xícaras e mais de 6 a 7 xícaras de café por dia tinham um risco menor de DM2 em comparação com aqueles que bebiam <2 xícaras/dia. O café melhorou a sensibilidade da insulina e atuou como um hipoglicemiante.
Diabetes mellitus	Floegel (26)	2012	Estudo prospectivo de coorte. 42659 alemães foram estratificados conforme o consumo de café (< 1, 1-2, 2-3, 3-4, $\geq$ 4 xícaras/dia) e acompanhados durante 8 a 9 anos.	O consumo de $\geq$ 4 xícaras de café com ou sem cafeína/dia reduziu o risco de DM tipo 2 quando comparado àquele < 1 xícaras/dia; o consumo de café não se associou ao risco de DCV.
Diabetes mellitus	Boggs (27)	2010	Estudo prospectivo de coorte. 46906 afro-americanas (30 a 69 anos) ingeriram 0-1, 1, 2-3 ou $\geq$ 4 xícaras/dia e foram acompanhadas por 12 anos	Houve associação inversa entre consumo de café e risco de DM. O risco relativo foi de 0,94 para 0-1 xícaras/dia e 0,83 para > 4 xícaras/dia; café descafeinado e chá não se associaram significativamente ao risco de DM.
Diabetes mellitus	Huxley (28)	2009	Meta-análise de 18 estudos de coorte. 457922 indivíduos de ambos os sexos e de diversos países foram estratificados segundo o consumo de café (quase nunca, <1, 1, 2-3, $\geq$ 4 xícaras/dia)	Cada xícara adicional consumida por dia associou-se à redução de 7 % no risco de DM; A ingestão de 3-4 xícaras/dia associou-se à redução de 25% no risco de DM quando comparada à ingestão $\leq$ 2 xícaras/dia.
Diabetes mellitus	Van Dieren (29)	2009	Estudo prospectivo de coorte. 38176 holandeses de ambos os sexos ingeriram <1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-6 ou >6 xícaras de café/dia e foram acompanhados por 6 anos.	O consumo de café associou-se à redução do risco de DM tipo 2. O consumo < 3 xícaras/dia associou-se à aumento da pressão arterial, porém > 4 xícaras/dia associou-se à redução desta.
Diabetes mellitus	Odegaard (30)	2008	Estudo prospectivo de coorte. 36908 indivíduos (45-74 anos), participantes do <i>Singapore Chinese Health Study</i> , foram estratificados segundo o consumo de café (0 xícaras/dias, 1, 2-3 ou $\geq$ 4 xícaras/dia) e acompanhados por mais de 5 anos.	Participantes que referiram um consumo $\geq$ 4 xícaras de café/dia apresentaram redução de 30 % no risco de DM.

Tabela 2. Continuação.

Doença	Referência	Ano	Delineamento do estudo	Resultados do estudo
Doenças cardiovasculares (DCV)	Shaposhnikov (31)	2018	Estudo de intervenção randomizado. 160 indivíduos saudáveis. O consumo era de 5 xícaras de café ou água (placebo), durante 8 semanas.	houve efeito significativo do consumo de café nos marcadores de oxidação de DNA e lipídios. A creatinina (no aumento em todos os grupos, e a enzima hepática γ -amil transaminase foi significativamente elevada no grupo que consumia 5 xícaras/dia. Outros marcadores clínicos incluindo glicose e insulina), colesterol, triacilgliceróis e marcadores inflamatório foram inalterados. Não houve efeito sobre a pressão arterial.
Doenças cardiovasculares (DCV)	Poole (32)	2017	Revisão guarda-chuva e meta-análise. 201 estudos com 67 casos e 17 estudos com 9 casos. Foi observado o consumo baixo e alto de café.	A ingestão de 3 a 4 xícaras por dia <i>versus</i> nenhuma xícara, mostrou uma associação não linear entre consumo e alguns desfechos, indicando maior redução do risco relativo, incluindo mortalidade por todas as causas (risco relativo 0,83, intervalo de confiança de 95 % 0,83 a 0,88), mortalidade cardiovascular (0,81, 0,72 a 0,90) e doença cardiovascular (0,85, 0,80 a 0,90). O alto <i>versus</i> baixo consumo foi associado com um risco 18 % menor de incidência de câncer (0,82, 0,74 a 0,89). O consumo também foi associado a um menor risco de vários tipos específicos de câncer e condições neurológicas, metabólicas e hepáticas, incluindo consumo alto <i>versus</i> baixo, qualquer consumo <i>versus</i> nenhum, e 1 xícara de café por dia.
Doenças cardiovasculares (DCV)	Brown (33)	2016	Meta-análise prospectivo, dose resposta. 3271 participantes com infarto agudo do miocárdio (IAM). 3 grupos diferentes com o consumo de café moderado (1-2 xícaras/dia), alto (>2 xícaras/dia) e consumo sem cafeína.	O consumo moderado de café habitualmente após (IAM) foi associado a um risco reduzido de mortalidade. A correlação inversa estatisticamente significativa foi observada entre o consumo de café e a mortalidade; os três grupos mostraram uma redução significativa na taxa de risco. Bebedores de café moderado <i>versus</i> bebedores de não-café, foram associados a uma razão de risco de 0,79 [intervalo de confiança de 95 % (IC): 0,66-0,94, $p = 0,008$]; bebedores de café alto <i>versus</i> bebedores de não-café, foram associados a uma taxa de risco de 0,54 (IC 95 %: 0,45-0,65, $p < 0,00001$); e bebedores de café alto <i>versus</i> bebedores de café moderado foram associados com uma taxa de risco de 0,69 (95 % CI: 0,58-0,83, $p < 0,0001$).

Doença	Referência	Ano	Delineamento do estudo	Resultados do estudo
Doenças cardiovasculares (DCV)	Freedman (34)	2012	Estudo prospectivo de coorte - <i>National Institutes of Health - AARP Diet and Health Study</i> . O estudo inclui 229.119 homens e 173.141 mulheres entre 50 e 71 anos, sem doença pré-existente que consumiam café. Foi avaliada a associação do consumo de café com a mortalidade total e causas específicas.	O estudo apontou associações inversas significantes do consumo de café com mortes por todas as causas e especificamente com mortes por doenças cardíacas, doenças respiratórias, acidente vascular cerebral, acidentes e lesões, diabetes e infecções. Razões de risco ajustadas para a morte entre os homens que bebiam café em comparação com aqueles que não bebiam: 0,99 (intervalo de confiança de 95% (IC), 0,95 a 1,04) para bebedores de menos de 1 xícara por dia, 0,94 (IC 95%, 0,90 a 0,99) para 1 xícara, 0,90 (IC 95%, 0,86 a 0,93) para 2 ou 3 xícaras, 0,88 (IC 95%, 0,84 a 0,93) para 4 ou 5 xícaras e 0,90 (IC 95% 0,85 a 0,96) para 6 ou mais xícaras de café por dia ($p < 0,001$ para tendência); as respectivas. Razões de risco entre as mulheres foram de 1,01 (IC 95%, 0,96 a 1,07), 0,95 (IC 95%, 0,90 a 1,01), 0,87 (IC 95%, 0,83 a 0,92), 0,84 (IC 95%, 0,79 a 0,90) e 0,85 (95% CI, 0,78 a 0,93) ($p < 0,001$ para tendência).
Doenças cardiovasculares (DCV)	Lopez-Garcia (35)	2011	Coorte – <i>Nurses' Health Study</i> . O estudo incluiu 11.697 mulheres com doenças cardiovasculares, que consumia de 1 a 7 xícaras de café filtrado (240 mL). Foi avaliado o efeito do café e da cafeína em relação às DCV.	O consumo de café filtrado com cafeína não foi associado com DCV ou mortalidade por todas as causas de DCV em mulheres. Além disso, as mulheres que bebiam mais café tinham menor probabilidade de ter história familiar de infarto do miocárdio, hipertensão, hipercolesterolemia ou diabetes tipo 2.
Doenças cardiovasculares (DCV)	Mesas (36)	2011	Revisão sistemática e meta-análise. 15 estudos, 85 participantes hipertensos. Consumiam de 200 a 300 mg de cafeína por dia.	O consumo de 200 a 300 mg de cafeína produziu um aumento médio de 8,1 mmHg (IC 95%: 5,7 10,6 mmHg) na pressão arterial sistólica e de 5,7 mmHg (IC 95% 4,1 7,4 mmHg) na PA diastólica. O aumento foi observado após a ingestão de cafeína. Em 3 estudos sobre o efeito de longo prazo (2 semanas) de café, nenhum aumento na PA foi observado depois que o café foi comparado com uma dieta livre de cafeína ou foi comparado com café descafeinado. Por fim, sete estudos de coorte não encontraram evidências de uma associação entre o consumo habitual de café e um maior risco de DCV.
Doenças cardiovasculares (DCV)	Zhang (37)	2011	Meta-análise de ensaios clínicos randomizados. 6 estudos de coorte prospectivos, 172.567 participantes e 37.135 casos de hipertensão. Foi comparado com o menor consumo de café (1 xícara) consumo moderado (1 a 3 xícaras) e o maior consumo (3 a 5 xícaras)	O consumo habitual de café de 0,3 xícara/dia não foi associado a um risco aumentado de hipertensão em comparação com 1 xícara/dia; no entanto, um risco levemente elevado pareceu estar associado ao consumo moderado de 1 a 3 xícaras/dia.

Tabela 2. Continuação.

Doença	Referência	Ano	Delineamento do estudo	Resultados do estudo
Doenças cardiovasculares (DCV)	Mineharu (38)	2010	Estudo prospectivo de coorte. 76979 japoneses de ambos os sexos (40 a 79 anos) foram estratificados segundo o consumo de café (< 1 xícara/semana; 1-6 xícaras/semana; 1-2 xícaras/dia e $\geq$ 3 xícaras/dia) e acompanhados por 13,1 anos.	Observou-se associação inversa entre consumo de café e risco de mortalidade por acidente vascular cerebral; 1 a 2 xícaras/dia reduziu em 16 a 23 % o risco de mortalidade por DCV, porém o maior consumo o aumentou.
Doenças cardiovasculares (DCV)	Kempf (39)	2010	Estudo clínico. 47 consumidores habituais de café consumiram 600 mL de café filtrado/dia por 1 mês e 1200 mL de café por mais 1 mês.	O consumo de café não se associou à glicemia, insulinemia e ao índice <i>homeostasis model assessment for insulin resistance</i> (HOMA-IR); 1200 mL/dia reduziu a concentração de IL-18, adiponectina e 8-isoprostano. Não houve alteração significativa na concentração plasmática de IL-6, fator inibidor da migração de macrófagos, antagonista do receptor de IL-1, proteína soro amiloide A leptina, nitrosamina e PCR.
Doenças cardiovasculares (DCV)	Wu (40)	2009	Revisão. 21 estudos de coorte independente. 407,806 participantes com 15,59 caso. Consumo de café baixo (<2 xícaras/dia) moderado (1-3 ou 3-4 xícaras / dia) alto (4-5 ou 5-6 xícaras/dia) ou muito alto (>6 ou >7 xícaras/dia).	Alta ingestão de café (>6 xícaras/dia) café aumentou o risco de doença coronariana a longo prazo. O consumo moderado de café mostrou redução significativa de doença cardíaca coronariana (CHR) com risco relativo (RR) (95% CI) de 0,82 (0,73-0,92) ($p = 0,001$) em mulheres e de 0,87 (0,80-0,86) ($p = 0,001$) em homens. O consumo moderado habitual de café foi associado a um menor risco de doença arterial coronariana (DAC) nas mulheres.

* concentração = []. Diabetes mellitus = (DM), diabetes mellitus tipo 1= (DM1), diabetes mellitus tipo 2 =(DM2), diabetes gestacional = (DMG). Pressão arterial = (PA). Risco relativo = (RR). Doença arterial coronariana (DAC). Doença cardiovascular (DCV). Doença cardíaca coronariana = (CHR). Infarto agudo do miocárdio = (IAM). Avaliação do

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo é considerado um distúrbio no equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN) e as defesas antioxidantes formando os radicais livres (Tabela 3), o que pode levar à lesão tecidual (41). A oxidação é a transferência de elétrons de um átomo para outro e representa uma parte essencial da vida aeróbica do nosso metabolismo, uma vez que o oxigênio é o principal aceptor de elétrons no sistema de fluxo de elétrons produzindo energia na forma de ATP (42).

Tabela 3. Espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies não reativas livres.

Espécie reativa de oxigênio		Espécie não reativa livre	
Radical superóxido	$O_2^{\cdot -}$	Peróxido de hidrogênio	H_2O_2
Radical hidroxila	$HO^{\cdot}$	Oxigênio singlete	1O_2
Radical hidroperoxil	$HOO^{\cdot}$	Ozônio	O_3
Radical lipídico	$L^{\cdot}$	Hidroperóxido lipídico	$LOOH$
Radical peroxil lipídico	$LOO^{\cdot}$	Hipoclorito	$HOCl$
Radical peroxil	$ROO^{\cdot}$	Peroxinitrito	$ONOO^{\cdot -}$
Radical alcóxido lipídico	$LO^{\cdot}$	Trióxido de dinitrogênio	N_2O_3
Dióxido de nitrogênio	NO_2	Ácido nitroso	HNO_2
Óxido nítrico	$NO^{\cdot}$	Cloreto de nitrila	NO_2Cl
Cátion nitrosilo	NO^+	Ânion nitroxil	$NO^{\cdot -}$
Radical tiilo	$RS^{\cdot}$	Ácido peroxinitrito	$ONOOH$
Radical proteico	$P^{\cdot}$	Óxido nitroso	N_2O

Fonte: GÜLÇİN (42), adaptado.

As ERO são radicais que contêm pelo menos um elétron desemparelhado ou compostos não-radicais reativos, capazes de oxidar biomoléculas. Portanto, esses intermediários também são chamados de oxidantes ou pró-oxidantes (43).

Os radicais livres são formados em grandes quantidades e são normalmente produzidos como um subproduto do metabolismo celular, que são capazes de inibir bactérias, danificar biomoléculas, provocar respostas imunológicas, ativar oncogenes, causar aterogênese e acelerar o processo de envelhecimento (44). Eles podem levar diretamente à mutação do DNA, à alteração da expressão gênica, à modificação da transdução do sinal celular, à apoptose celular, à peroxidação lipídica e à degradação protéica (45, 46). Além disso, os radicais livres podem ser gerados no corpo em resposta à radiação eletromagnética do meio ambiente e adquiridos diretamente como fontes internas e externas.

De acordo com LOBO et al. (47), os radicais livres e outros EROs são derivados de processos metabólicos essenciais normais no corpo humano ou de fontes externas, tais como:

Fontes de radicais livres internamente geradas são:

- Mitocôndria;
- Xantina oxidase;
- Peroxissomas;
- Inflamação;
- Fagocitose;
- Caminhos de araquidonato;
- Exercício;
- Lesão por isquemia/reperfusão.

Fontes de radicais livres geradas externamente são:

- Fumaça de cigarro;
- Poluentes ambientais;
- Radiação;

- Solventes industriais;
- Ozônio.

As EROs também são produzidas no organismo como parte da defesa imunológica primária. Células fagocíticas como neutrófilos, monócitos ou macrófagos defendem contra organismos estranhos ao sintetizar grandes quantidades de O_2^- ou NO como parte de seu mecanismo de eliminação. Várias doenças são acompanhadas por ativação excessiva de fagócitos, resultando em dano tecidual que é, pelo menos em parte, devido à atividade de EROs (42, 45, 48). A produção de EROs excessiva no organismo é responsável por muitas alterações degenerativas crônicas, como doenças cardiovasculares, artrite reumatoide e outras doenças neurodegenerativas, bem como osteoporose, diabetes tipo 2, hipertensão e câncer (44, 46, 48, 49), doenças essas que estão entre as principais contribuintes para a mortalidade global, representando um importante problema de saúde pública (50). As EROs foram implicadas em mais de 100 doenças, incluindo malária, síndrome da imunodeficiência adquirida, doença cardíaca, acidente vascular cerebral, arteriosclerose, diabetes e câncer (42). Se as defesas antioxidantes são deficientes, então o dano pode ocorrer em uma variedade de tecidos. Além disso, eles podem causar danos no DNA que podem levar à mutações (51).

2.2 ANTIOXIDANTES

Antioxidantes são substâncias que neutralizam os radicais livres e previnem os danos causados por eles (52). Os antioxidantes são capazes de eliminar os radicais livres com o mecanismo de inibição das enzimas responsáveis pela produção de ROS e redução de ROS altamente oxidados (45), atuando na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, inibindo a peroxidação lipídica (53).

Os antioxidantes podem ser divididos em duas categorias (Figura 1): os enzimáticos e os não enzimáticos. Os enzimáticos fazem parte do nosso sistema de defesa antioxidante endógeno e são enzimas que sequestram e neutralizam as espécies reativas de oxigênio (EROs), interrompendo a cadeia da reação pela doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre. Os não enzimáticos são moléculas orgânicas ou elementos minerais provenientes da dieta ou dos nossos processos metabólicos, que interagem com as EROs, retardando a etapa de iniciação da autoxidação, por diferentes mecanismos que incluem complexação de metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio *singlete* ou com os compostos que intervêm na sua formação, transformando-os em moléculas mais estáveis e portanto com menos tendência para provocar a oxidação das biomoléculas (52, 54).

Figura 1. Classificação dos antioxidantes.

Fonte: RATNAM *et al* (54), adaptado.

Os antioxidantes enzimáticos incluem a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx). As enzimas antioxidantes, SOD e CAT, não são consumidas e têm alta afinidade e taxa de reação com EROs. Desta forma, pode-se supor que as enzimas proporcionam proteção mais eficaz contra estresse oxidativo agudo, como hiperóxia ou inflamação. A SOD e CAT estão entre os antioxidantes mais potentes conhecidos na natureza. Existem três tipos de SOD em humanos, a saber: CuZn-SOD citosólico, Mn-SOD mitocondrial e SOD extracelular (55). A CAT ocorre abundantemente no corpo, com a maior atividade no fígado, seguida pelos eritrócitos e depois pelos pulmões. A SOD catalisa a dismutação do superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio e é difundida na natureza em organismos eucarióticos e procarióticos. O CAT protege as células catalisando a decomposição do peróxido de

hidrogênio em oxigênio molecular e água, sem produção de radicais livres. Além disso, a CAT atua sobre compostos tóxicos, como ácido fórmico, formaldeído e álcoois por reação peroxidativa (56, 57).

O sistema de defesa antioxidante humano é incompleto sem antioxidantes dietéticos. Os seres humanos não têm a capacidade de sintetizar o ácido ascórbico endogenamente, além de outros antioxidantes como a vitamina E, CoQ10, carotenóides e polifenóis. Desta forma são obtidos de fontes externas e desempenham um papel importante na manutenção da saúde humana. Estima-se que mais de dois terços dos cânceres em humanos, que são contribuídos por mutações em múltiplos genes, poderiam ser evitados pela modificação do estilo de vida, incluindo a modificação da dieta (58).

A generalidade da ação antioxidante dos ácidos fenólicos e dos flavonoides pode ser representada por duas reações:

R. - Radical livre reativo

* O. - Composto fenólico após doar elétron (59, 60)

A primeira reação representa o grupo hidroxila (OH) do composto fenólico a reagir com o radical livre, transferindo-lhe um H e obtendo-se desta reação o radical livre neutralizado (59). A segunda reação ilustra o grupo metoxila (OCH₃) do composto fenólico a reagir com o radical livre, transferindo-lhe um metila (CH₃), alcançando-se um radical estável (59, 60).

O poder antioxidante dos compostos fenólicos é geralmente superior quando comparado com os antioxidantes restantes provenientes da alimentação, como o α -tocoferol, o ácido ascórbico e os carotenoides. Contudo, existe uma atividade sinérgica entre os diversos compostos antioxidantes presentes (61).

Os antioxidantes provenientes da dieta podem ser encontrados em alimentos vegetais, frutas, folhas, flores, raízes, grãos, sementes, chá e café, os quais apresentam vitaminas e polifenóis, que são considerados responsáveis por trazer benefícios para a saúde, considerados com uma alta capacidade antioxidante e capacidade de eliminação de radicais livres (45, 46).

2.3 CAFÉ

O café é a segunda bebida mais consumida do mundo (depois da água) (62), sendo uma das mais importantes “commodities” alimentares e o principal produto de exportação agrícola. O café é cultivado em mais de cem países tropicais diferentes, e é a única mercadoria tropical mais importante comercializado a nível mundial, sendo responsável por quase metade das exportações totais de produtos tropicais (63).

A produção mundial de café na safra 2016-2017 alcançou 154 milhões de sacas de 60 quilos (64). O Brasil participou com aproximadamente 53,2 milhões de sacas de 60 kg, sendo 2,5 milhões de toneladas, ou 41,4 milhões de sacas de 60 kg de café arábica e 707,1 mil toneladas de café robusta (*Coffea canephora*) (65), além disso, apresenta uma forte importância histórica, cultural, social e econômica (9, 66). Entre mais de 100 espécies do gênero de *Coffea*, apenas duas são de grande importância comercial: *Coffea arabica* (arábica) e *Coffea canephora* (robusta) (66).

O café arábica (*Coffea arabica*) tem sabor mais pronunciado e mais fino do que o café robusta; eles são considerados de melhor qualidade por causa das suas propriedades organolépticas; portanto, eles são os mais caros. Já o café robusta (*Coffea canephora*) tem sido caracterizado como um café neutro, com sabor fraco e, ocasionalmente, com um amargor forte e pronunciado; ele tem a vantagem de permitir a extração de grandes

quantidades de sólidos solúveis, o que permite a sua utilização nas misturas na indústria do café solúvel e nos grãos de café expresso (63, 66, 67).

2.3.1 Formas de preparo da bebida de café

O café é uma bebida de grande popularidade, consumida mundialmente, com aroma e sabor característico (68) sendo preparada em uma ampla variedade. As pessoas consomem café em diferentes formas: com ou sem leite, com espuma de leite, com ou sem açúcar, creme, gelo e aromas (Figura 2) (69).

Figura 2. Variedade de consumo de café.

Fonte: VIX (70), adaptado.

A técnica de preparação tem uma influência significativa sobre o sabor, aroma e composição da bebida de café (71). O preparo correto é fundamental, pois é nesta etapa que todo esforço de produzir um café de boa qualidade é realizado (72).

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC) (73), o método de preparação da bebida de café pode ocorrer por filtragem, percolação, prensagem ou pressão, sendo que cada um destes produz tipos de bebidas distintas, conforme descrito na figura 3.

Figura 3. Métodos de preparo do café.

<p>Filtragem: O pó é acondicionado em um filtro, de papel ou de pano, com adição de água quente não fervente por cima. Este método é muito utilizado na cultura brasileira de preparo, através de coadores caseiros e cafeteiras elétricas, dando origem ao tradicional cafezinho.</p>
<p>Percolação: Método onde se coloca o pó de café no centro de um equipamento moka, que posicionado em um fogão faz a água entrar em ebulição e pressionar café líquido para um recipiente. É a forma mais utilizada para consumo de café na Europa.</p>
<p>Prensagem: em um recipiente de vidro se coloca o pó de café misturado com água quente não fervente e em seguida introduz-se um filtro que é pressionado por um êmbolo que separa o pó do café já pronto para consumo. O método, que virou moda entre os norte-americanos, é conhecido como Prensa Francesa.</p>
<p>Pressão: conhecido como café expresso, neste preparo o café é moído na hora e acondicionado em um filtro que sofre uma pressão de água a 90 °C e 9Kg de pressão durante 30 segundos em média, gerando uma bebida cremosa e aromática. Criado pelos franceses, o café expresso é considerado o método mais apropriado para apreciação desta bebida.</p>

Fonte: ABIC (74), adaptado.

O café expresso é uma forma altamente popular de preparação de café, onde o café torrado e moído é extraído sob alta pressão para um volume de cerca de 25-40 mL curto e 60-100 mL longo (75). Pode ser feito utilizando grãos frescos moídos na hora em

doses individuais ou por meio de cápsula com quantidade certa de café moído (5g) envolvido por uma embalagem hermeticamente fechada (72) (76).

O crescimento do público consumidor de café torrado e moído é notável; estes consomem a bebida de diferentes maneiras, como o expresso encontrado em cafeterias ou as cápsulas que são preparadas nos equipamentos domésticos. Consequentemente, registrou-se uma alta na quantidade de importação da “commodity” no país nos últimos anos (77).

2.3.2 Café em cápsula

As cápsulas chegaram ao Brasil em 2006. As vendas de máquinas de café expresso aumentaram em 29 % de 2010 a 2015, com estimativa de crescimento na ordem de 18 % de 2015 até 2020 (78).

De acordo com ABIC (79), o consumo de café em mono doses, seja na forma de cafés expressos, cafés em sachês ou em cápsulas, está crescendo acentuadamente. Apesar de estar presente em apenas 1 % dos lares no final de 2014 (474 mil lares), a expectativa das empresas que atuam neste segmento é de crescer até 20 % dos lares nos próximos 10 anos. O volume total de cápsulas vendidas no mercado brasileiro cresceu 52,4 % de 2013 para 2014. Esse produto tornou-se mais acessível em nível de preço, e o aparecimento das marcas de distribuição fez com que as máquinas de café em cápsula se tornassem acessível para vários grupos sociais (76).

Como resultado de sua popularidade, vários tipos de cápsulas foram desenvolvidas. A mais simples consiste em uma câmara e um filme que fornece a resistência necessária quando a água é adicionada. Cápsulas mais sofisticadas são equipadas com dispositivos que devem levar à produção de café expresso de alta qualidade (80). De acordo com a NESPRESSO (2016) (81), as embalagens de café em

cápsula são feitas de alumínio ou resinas plásticas recicláveis, hermeticamente fechadas. Essa cápsula tem um lacre pressurizado que preserva os 900 aromas do café recém-moído por 12 meses. A embalagem do café envolve a colocação da quantidade certa de café moído em cápsulas de alumínio revestidas internamente com uma película protetora. A cápsula é fechada hermeticamente com uma folha de alumínio, que protege o café recém-moído contra o ar, a luz e a umidade.

O método tradicional para extrair a bebida por meio de máquinas conhecidas consiste tipicamente em um primeiro passo de fusão da água em 90°C que é reduzido durante um certo intervalo de tempo; um segundo passo de penetração (contato da água com o pó); e um terceiro passo de extração, em que o pó de café é atravessado por uma corrente de água quente a $90 + 2^{\circ}\text{C}$ a uma pressão constante de 9 bar à entrada do bolo de café em pó (Figura 4) (82).

Figura 4. Modelo da preparação da bebida de café em cápsula em máquina doméstica.

*1) cápsula de café hermeticamente vedada, 2) receptor de armazenamento da cápsula e 3) reservatório de água.

Fonte: CASTELLANI (82), INDERBITZIN (82, 83). adaptado

A bebida obtida a partir de máquinas de café expresso tradicionais é normalmente distinguível da bebida obtida em casa por filtros ou dispositivos de infusão não apenas porque as propriedades de sabor, aroma e corpo são diferentes, mas também porque a bebida obtida de máquinas de café expresso tradicionais é caracterizada por uma camada superficial de espuma, esta conhecida como crema. A crema é um atributo da bebida de café que é particularmente apreciada pelo consumidor sendo um indicador da correta preparação da bebida; nela se dá o aroma e a nota, além das características organolépticas (75, 83).

2.4 DESCAFEINAÇÃO

O café descafeinado responde por 10 % do consumo mundial (84). A descafeinação é realizada nos grãos crus inteiros, antes do processo de torrefação. A maioria dos métodos de descafeinação existentes utiliza solventes para extração da cafeína, como diclorometano, clorofórmio, álcool, acetona, água e outros. No Brasil o diclorometano é o solvente mais utilizado (68) (84). É utilizado vapor antes e depois da extração para lavar as sementes e abrir os poros. Após a remoção da cafeína, as sementes são secas até atingirem teor de umidade semelhante ao dos grãos em processamento (85).

Durante a extração da cafeína há perda de outros componentes e, embora existam vários estudos sobre a atividade antioxidante do café integral faltam estudos que avaliem essa atividade na bebida de café descafeinado (84). A cafeína extraída do grão verde de café pode ser recuperada e usada para produtos comerciais, tais como bebidas à base de cola e drogas farmacêuticas (85).

2.5 AROMA, SABOR E INTENSIDADE

O aroma do café é formado por uma mistura extremamente complexa de inúmeros compostos voláteis que apresentam qualidades de aroma, intensidades e concentrações diferentes (86). O café pode ter o aroma frutado e depende da acidez e o tipo da torra do café (clara, média, escura) (Tabela 4) (87). A sensação do sabor, por sua vez, é relativamente simples, sendo normalmente classificada em quatro qualidades (doce, salgado, amargo e azedo).

Tabela 4. Tipos de torras e suas características.

Grau de torra	Características	Equipamento
Clara	Acentuada acidez, suavidade do aroma e sabor, menos amargor	Ideal para máquinas de café expresso
Média	Acentua o aroma e o sabor	Ideal para coador de pano ou filtro de papel
Escura	Diminui a acidez, acentua sabor amargo, bebida mais escura	-

Fonte: ABIC (88) , adaptado

Segundo a ABIC (72), a nota e a intensidade do café acontecem no processo de torrefação, onde compostos originais do grão são degradados e novos compostos são formados garantindo a presença de substâncias nutritivas, bioativas e suas características de sabor e aroma. A seleção do grão ocorre em tanques, seguido por imersão e fermentação. Durante a fermentação, podem ser adicionadas enzimas, a pele é removida e aumenta a acidez; o pH pode ser reduzido para 4,5. As sementes de café são, então, extensivamente lavadas, polidas, e secas ao sol e/ou secas ao ar (85), desta forma produzindo um café de boa qualidade e de diferentes notas e intensidades.

2.6 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO CAFÉ

A composição química do café depende da espécie e da variedade em questão, e também de outros fatores como práticas agrícolas, grau de maturação do fruto do café, processamento primário e condições de estocagem e torrefação (89).

O café é uma mistura de inúmeros compostos, incluindo compostos nitrogenados, lipídeos, carboidratos, vitaminas, minerais e substâncias com efeito antioxidante, tais como ácido hidroxicinâmico (caféico, clorogênico, cumárico, ferúlico e ácido sinápico), que contribuem significativamente para a ingestão de cafeína, (ácido nicotínico, trigonelina, ácido quinolínico, ácido tânico, ácido pirogálico), os quais podem estar naturalmente presentes nos grãos, ou serem formados durante o processo de torrefação (produtos da reação de Maillard - PRM) (90).

Segundo VIGNOLI *et al.* (91), as bebidas feitas a partir de diferentes grãos de café tiveram uma maior capacidade antioxidante. O *Coffea canephora* representa uma menor atividade antioxidante, em relação ao *Coffea arabica*; isto foi correlacionado com o grau de torrefação, principalmente associada com a degradação do ácido clorogênico.

A qualidade do café usado para a preparação de uma bebida está relacionada com a composição química dos grãos torrados, o qual, por sua vez, é afetado pela composição química dos grãos verdes e pelas condições de processamento pós-colheita (secagem, armazenamento, torra) (9, 92). O grau da torra dos grãos e da forma de preparo, a incorporação dos compostos presentes no grão de café ocorre em concentrações variáveis (7). A classificação das torras é realizada segundo padronização da *Specialty Coffee Association of America* (SCAA) e da empresa Agtron (Agtron-SCAA, Reno, NV, 1995) (Figura 5).

Figura 5. Classificação das torras segundo Sistema Agtron.

*As cores servem como ilustração, pois na tela do computador podem haver variações se comparado com os discos originais Agtron.

Fonte: CLUBE DO CAFÉ (93).

Durante o processo de torra ocorre a degradação dos compostos fenólicos e outros componentes termolábeis (85). Temperaturas acima de 180-200 °C, leva a profundas modificações na composição química e nas atividades biológicas de café como um resultado da geração de compostos provenientes das reações de Maillard (9, 91). A torra é uma etapa essencial para a produção de compostos que conferem as características de aroma e sabor ao café, entre os quais destacam-se algumas substâncias biologicamente ativas, ou seja, que exercem benefícios à saúde humana, como ácidos fenólicos tais como ácido clorogênico, e outras substâncias como a triгонelina e a cafeína (63, 68, 94).

A cafeína destaca-se como composto com atividade pouco afetada pela torrefação (7). Já os fenólicos que ocorrem naturalmente no café diminuem durante o processo de torrefação. Esta diminuição de compostos fenólicos está associada à degradação de ácido clorogênico, o que influencia a capacidade antioxidante do café torrado. No entanto, o teor de antioxidantes e sua eficiência pode ser mantida no café torrado, ou mesmo aumentada, pela formação de outros compostos como as melanoidinas (9).

2.6.1 ÁCIDOS FENÓLICOS

Os ácidos fenólicos são compostos que possuem atividade antioxidante e ocupam aproximadamente 30% dos compostos fenólicos presentes em plantas. Aparecem tanto

na sua forma livre, como na forma conjugada (42). A estrutura base dos ácidos fenólicos é composta por um anel aromático fenólico de baixo peso molecular, um grupo funcional carboxílico e um ou mais grupos hidroxila e metoxila (Figura 6) (95).

Figura 6. Estrutura geral dos ácidos fenólicos a) ácido hidroxicinâmico e b) ácido hidroxibenzóico.

Fonte: RAMALHO E JORGE (96)

Os ácidos fenólicos apresentam um grupo funcional carboxila e são divididos em duas classes: os ácidos hidroxibenzóicos e os hidroxicinâmicos (95, 97). Os ácidos hidroxibenzóicos são componentes das complexas estruturas dos taninos hidrolisáveis com sete átomos de carbono e configuração C6-C1 e são menos abundantes nos vegetais consumidos pelos humanos, exceto em frutos vermelhos, chá e cebola (95). Os ácidos hidroxicinâmicos são compostos aromáticos com nove átomos de carbono, organizados sob a forma C6-C3 e estão presentes em vários alimentos e bebidas de origem vegetal, como o café, erva mate, maçã, ameixa e outras frutas, crucíferas, cereais, entre outros (59, 95, 98). Exemplos desta classe de compostos são o ácido cafeico, *p*-cumárico, ferúlico e sinápico que, na maioria dos alimentos, se encontram esterificados ao ácido quínico, ácido tartárico ou carboidratos e derivados. Os ácidos cafeico, *p*-cumárico, ferúlico e quínico se combinam com o ácido clorogênico para formar os ácidos (cafeoilquínico, dicafeoilquínico, ferulilquínico e cumaroilquínico) (98, 99).

De acordo com TRESSERRA-RIMBAU *et al.* (100) ácidos hidroxicinâmicos representam 33 % do total de polifenóis ingeridos na dieta da população espanhola, tendo

sido fornecido principalmente pelo café. O café é considerado o alimento individual que mais contribui para a ingestão de ácidos fenólicos na dieta (Tabela 5).

Tabela 5. Ácidos fenólicos encontrados no café.

Bebidas de café	mg/100 mL de bebida	Ácido fenólico
Bebidas de café – Arábica	3,53	Ácido 3,4-dicafeoilquinico
	2,65	Ácido 3,5-dicafeoilquinico
	1,54	Ácido 4,5-dicafeoilquinico
	19,00	Ácido 4-dicafeoilquinico
	13,26	Ácido 4-ferulilquinico
	43,09	Ácido 5-cafeoilquinico
	4,64	Ácido 5-ferulilquinico
Bebida de café – Robusta	5,96	Ácido 3,4-dicafeoilquinico
	4,42	Ácido 3,5-dicafeoilquinico
	32,26	Ácido 3-cafeoilquinico
	3,09	Ácido 4,5-dicafeoilquinico
	36,46	Ácido 4-cafeoilquinico
	30,05	Ácido 4-ferulilquinico
	75,80	Ácido 5-cafeoilquinico
Bebida de café – Filtrada	16,57	Ácido 5-ferulilquinico
	2,66	Ácido 3,4-dicafeoilquinico
	1,55	Ácido 3,5-dicafeoilquinico
	51,80	Ácido 3-cafeoilquinico
	4,17	Ácido 3-ferulilquinico
	2,05	Ácido 4,5-dicafeoilquinico
	59,60	Ácido 4-cafeoilquinico
Bebida de café – Filtrada Descafeinado	8,57	Ácido 4-ferulilquinico
	70,03	Ácido 5-cafeoilquinico
	11,69	Ácido 5-ferulilquinico
	0,03	Ácido Cafeico
	7,55	Ácido 3,4-dicafeoilquinico
	6,34	Ácido 3,5-dicafeoilquinico
	57,91	Ácido 3-cafeoilquinico
	2,74	Ácido 3-ferulilquinico
	8,34	Ácido 4,5-dicafeoilquinico
	60,29	Ácido 4-cafeoilquinico
	9,51	Ácido 4-ferulilquinico
	116,85	Ácido 5-cafeoilquinico
	8,98	Ácido 5-ferulilquinico

Fonte: PHENOL-EXPLORE (101), adaptado.

2.6.2 Ácido clorogênico

O ACG é capaz de gerar efeitos biológicos importantes como antiglicante, anticarcinogênico, anti-hipertensivo, antibiótico, dentre outros (7) e está presente na dieta humana por meio do café. Há relatos que mostram sua atividade antioxidante *in vitro*. O

grupo de ácidos clorogênicos incluem alguns subgrupos como ácidos cafeoilquínicos e dicafeoilquínicos (9). Os ácidos clorogênicos (CGAs) são formados pela esterificação do ácido quínico com um dos seguintes ácidos trans-cinâmicos: o ácido cafeico (3,4-dihidroxicinâmico), o ferúlico (3-metoxi, 4-hidróxi), sinápico (3,5-dimetóxi, 4-hidróxi) ou o p-cumárico (4-hidróxi). Podem ser classificados de acordo com o tipo, número e posição dos resíduos acila: mono ésteres (ácidos cafeoilquínicos, CQA; cumaroilquínicos, pCoQA e feruloilquínicos, FQA); di (diCQA), tri (triCQA) e tetra ésteres (tetraCQA) e ainda ésteres mistos dos ácidos cafeico e ferúlico (ácidos cafeiol-feruloilquínicos, CFQA) (Figura 5) (86, 102, 103). Os mais comuns e conhecidos são os mono ésteres do ácido cafeoilquínico, principalmente o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA) (9).

Figura 7. Estruturas químicas ácidos 5-CQA e dos ácidos que compõem os CGAs.

Fonte: REGAZZONI *et al* (104), adaptado.

A fonte alimentar mais rica em CGAs na dieta é o café; em uma xícara (200 mL) de café pode conter de 70 a 350 mg de ácidos clorogênicos. Esta relação vai depender da torra do café (clara ou escura), podendo, deste modo, ser ingerido diariamente até 1 g CGAs. (105).

2.6.3 Trigonelina

A trigonelina (Figura 8) é uma N-metil betaína que tem recebido considerável atenção, tanto no ponto de vista sensorial como nutricional, pois tem efeito sobre o sistema nervoso central, e sobre a secreção da bile e a motilidade intestinal (106).

Figura 8. Estrutura química da trigonelina.

Fonte: ALLRED *et al* (107).

Durante a torrefação, a trigonelina se converte em vitamina do complexo B (niacina), o que faz do café um dos únicos alimentos que aumentam seu valor nutricional após o processamento térmico (68, 106). O consumo diário de 3 xícaras de café pode suprir um terço da exigência diária mínima dessa vitamina (vitamina B3) (108). Segundo Farah (2009), uma xícara de café de 200 mL de torra média fornece 40 % de niacina, ficando dentro das recomendações de ingestão diárias das DRIs (109). A deficiência de niacina causa a doença pelagra; sendo assim, o café é um alimento nutricionalmente importante para contribuir na ingestão diária de niacina.

2.6.4 Cafeína

A cafeína é um alcaloide metilxantina (1,3,7-trimetilxantina) (Figura 9) de ocorrência natural que é encontrado em quantidades variáveis nos grãos, folhas e frutos de mais de 60 plantas. Algumas fontes comuns de cafeína são: cacau (*Theobroma cacao*),

erva-mate (*Ilex paraguariensis*), guaraná (*Paullinia cupana*), grãos de café torrado (*Coffea Arabica* e *Coffea robusta*) e chá (*Camelia siniensis*) (110).

Figura 9. Estrutura química da cafeína.

Cafeína

Fonte: BUTT AND SULTAN (3), adaptado

A principal fonte mundial de cafeína dietética é a bebida de café, principalmente para população adulta. Seu teor é altamente variável, dependendo do conteúdo da matéria prima, da torra, da extração e do método de preparo (111) (Tabela 6), variando de 30 mg a 175 mg em um copo de 150 mL, considerando uma bebida de café filtrado (12).

Tabela 6. Concentração de cafeína em bebidas de café.

Fonte de cafeína	Cafeína (mg)			Cafeína Intervalo (mg)
	28 mL	224 mL	336 mL	224 mL
Café				
Descafeinado		5		3 a 12
Instantâneo	12	93	140	27 a 173
Fresco	17	133	200	102 a 200
Expresso	40	320	480	240 a 720

Fonte: HECKMAN *et al* (110), adaptado.

Fisiologicamente, a cafeína é excitatória sendo capaz de melhorar as deficiências cognitivas transitórias e a fadiga (112). A cafeína é metabolizada pelo citocromo microssomal P450 e eliminada pelo fígado. Duas das isoenzimas cP450, a 1A2 e a 2C9 são importantes para desmetilar a cafeína dando origem a paraxantina, teobromina e teofilina. A cafeína atinge o pico de concentração no plasma após 30 a 120 minutos e a meia-vida de cafeína no sangue é de 3 a 6 horas (113, 114). A cafeína é reconhecida por ser um composto bioativo presente no café e no chá (111).

2.6.5 Diterpenos

2.6.5.1 Cafestol e kahweol

O cafestol e kahweol são dois diterpenos com estruturas químicas semelhantes, diferenciados somente pela presença de dupla ligação em um anel da molécula de cafestol (Figura 10), encontrados no óleo de café apenas na fração lipídica não saponificada (113) que são liberados durante a fervura e retidos no processo de filtração (16, 115-117).

Figura 10. Estrutura química do cafestol e kahweol.

Fonte: GUZZO *et al.* (117).

Os níveis relativamente altos de cafestol e kahweol são presentes em bebidas de café não filtradas, como café expresso, prensa francesa, cafés cozidos ou café turco/café grego, enquanto café filtrado e café instantâneo contêm níveis baixos de cafestol e kahweol (115). A variedade do café também interfere na quantidade de diterpenos; o cafestol e o kahweol estão presentes em diferentes concentrações no *Coffea canephora* e *Coffea arabica* (116).

Evidências mostram que o consumo de café não filtrado aumenta a concentração de colesterol sérico e, conseqüentemente, o risco de DCV, ao passo, que o filtrado apresenta pequeno ou nenhum efeito sobre essa concentração (118, 119). O diterpenos apresentam efeito hipercolesterolêmico (120), no entanto outros estudos mostraram os

efeitos antioxidantes, anticarcinogênicos e anti-inflamatórios desses compostos (116, 117).

2.7 BIODISPONIBILIDADE E ABSORÇÃO DOS ÁCIDOS FENÓLICOS

Quando se trata de biodisponibilidade é sempre bom deixar bem claro a definição correta entre biodisponibilidade e bioacessibilidade.

A bioacessibilidade é a proporção de um componente alimentar específico liberado da matriz alimentar no trato-gastrointestinal (TGI) em forma absorvível (influenciado pela composição dos produtos digeridos na matriz alimentar, sinergismo e antagonismo dos diferentes componentes, das propriedades físicoquímicas como pH, temperatura e textura da matriz alimentar) (121).

A biodisponibilidade, por sua vez, é um termo que vem da farmacologia e define a fração da dose administrada de uma substância na qual atinge a circulação sistêmica e a velocidade com que este processo ocorre (121, 122). Esta definição trata do processo de liberação da substância da matriz, absorção pelo organismo, distribuição, metabolismo e excreção (99). Em alimentos, a biodisponibilidade é definida como a proporção de um nutriente ou substância do alimento que é digerido, absorvido e metabolizado (121).

A biodisponibilidade dos compostos bioativos nos alimentos pode ser afetada por vários fatores, sendo estes exógenos e endógenos. Dentre os fatores exógenos podemos citar a sua forma química, a estrutura, a complexidade da matriz alimentar e a quantidade de outros compostos ingeridos concomitantemente. Já os fatores endógenos incluem o esvaziamento gástrico, o trânsito intestinal, a microbiota intestinal, possíveis interações com proteínas na circulação sanguínea e tecidos, e o perfil genético do indivíduo (123-126).

Apesar da extensa literatura descrevendo os efeitos biológicos de ácidos fenólicos provenientes da dieta, pouco se sabe sobre como eles são absorvidos (98). Alguns estudos mostram a absorção dos ácidos hidroxicinâmicos ingeridos sob forma livre, rapidamente absorvidos pelo estômago e ou pelo intestino delgado e conjugados pelas enzimas de desintoxicação intestinal e ou hepática (127). Já outros estudos mostram que a absorção dos ácidos clorogênicos no trato gastrointestinal proximal é inferior à dos ácidos hidroxicinâmicos livres. A mucosa gastrointestinal humana não possui esterases capazes de hidrolisar os ácidos esterificados, o que reduz significativamente a eficiência da absorção dos ácidos clorogênicos no lúmen gástrico e no intestino delgado (4, 98, 128, 129). Embora alguns ensaios em animais com infusão gástrica *in situ* de 5-CQA e outros ácidos hidroxicinâmicos isolados (ácidos ferúlico, p-cumárico e cafeico) indicam que a absorção inicia no estômago, onde uma pequena parcela é absorvida intacta (130, 131). Os compostos não absorvidos no estômago seguem para o intestino delgado, onde os ácidos hidroxicinâmicos livres provenientes dos alimentos são rapidamente absorvidos (Figura 11) (98, 126, 132, 133).

Figura 11. Possível rota de absorção dos ácidos fenólicos.

Fonte: WILLIAMSON (126), adaptado.

Os ácidos hidroxicinâmicos (cafeico, ferúlico e p-cumárico) que não são absorvidos e permanecem no cólon, dão origem a derivados hidroxilados do ácido fenilpropionico (3,4 di-hidroxifenilpropionico, 3 e 4 hidroxifenilpropionico) por ação da microbiota (125, 126, 134). Uma pequena parte dos ácidos clorogênicos é absorvida sem hidrólise e aproximadamente 1 % dos ácidos clorogênicos ingeridos são encontrados intactos na urina de humanos (135, 136) e animais (134). A maior parte é metabolizada e absorvida no cólon, onde estes compostos sofrerão hidrólise por esterases de origem microbiana e subsequente absorção ou metabolização adicional dos ácidos fenólicos livres (quínico, cumárico, cafeico e ferúlico) (4, 98).

Assim, uma parte do ácido clorogênico poderia ser absorvida do estômago sem modificação; outra parte poderia ser absorvida pelo intestino delgado, hidrolisada pelos enterócitos antes de atingir a circulação geral. Deste modo, a última fração de ácido clorogênico que não foi absorvida na parte superior do trato gastrointestinal atinge o ceco, e sofrem uma metabolização da microflora, sendo hidrolisado em ácido cafeico e posteriormente degradado em ácidos fenólicos de baixo peso molecular, como ácido m-cumárico, ácido 3-hidroxifenilpropionico ou ácido 3-hidroxibenzóico (Figura 12) (127, 131).

Figura 12. Esquema das supostas vias de metabolismo dos ácidos clorogênicos.

Fonte: DE OLIVEIRA *et al* (137), adaptado.

3 JUSTIFICATIVA

O café é rico em fonte de fitoquímico bioativo, ácidos fenólicos e metilxantina que contribuem na diminuição do risco do desenvolvimento de doenças crônicas degenerativas.

O consumo de café em cápsulas no Brasil é uma tendência que veio para ficar e se consolidar nos lares e fora dele, tanto em cafeterias como em bares, restaurantes, escritórios e demais ambientes de trabalho. Determinar quais as concentrações de compostos fenólicos presentes e quantificá-las em cápsulas de café de diferentes intensidades (torra), se faz necessário, bem como avaliar a capacidade antioxidante, associado ou não a outros ingredientes comumente utilizados na ingestão e avaliar sua bioacessibilidade após digestão *in vitro*.

4. HIPÓTESE

O presente projeto propôs testar algumas hipóteses:

- a) A intensidade (torra) das cápsulas de café expresso interferem na capacidade antioxidante das bebidas de café?
- b) A adição de ingrediente tem efeito sobre o perfil fenólico e os compostos fenólicos totais na bebida de café expresso e sobre a capacidade antioxidante antes e após digestão *in vitro*?

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da adição de ingredientes sobre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante de cápsula de café expresso e sua bioacessibilidade.

5.2 Objetivos específicos

- ❖ Verificar a atividade antioxidante total das bebidas de café expresso de acordo com sua intensidade (torra) e os fenólicos totais;
- ❖ Comparar quantitativamente a concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas de café expresso com ingredientes adicionados (leite e/ou açúcar) em relação às bebidas sem adição;
- ❖ Determinar a concentração de compostos fenólicos totais e caracterizar o perfil de fenólicos;
- ❖ Avaliar a bioacessibilidade dos compostos fenólicos após digestão *in vitro* das bebidas de café expresso com e sem adição de ingredientes;

Verificar a capacidade de inibição da peroxidação lipídica do café.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Material

Foram adquiridas quatorze amostras de cápsulas de café expresso, sendo treze cápsulas tradicionais e uma descafeinada. As cápsulas foram escolhidas aleatoriamente por sua composição (Arábica e Robusta), notas (frutas, cereais, vinho, pimenta, cacau, especiarias e baunilha) e intensidade (3,4,5,6,8,10,11 e 12) (Tabela 7). As cápsulas foram adquiridas no comércio local da cidade de São Paulo/SP, no ano de 2017.

Tabela 7. Descrição geral das cápsulas analisadas no presente estudo.

TIPO DE CÁPSULA	COMPOSIÇÃO	NOTA	INTESIDADE	DENOMINAÇÃO
Expresso (E)	Arábica 100%	Torrado e caramelizado (TC)	6	ETC6
	Arábica com toque de robusta	Cereal (C)	5	EC5
	Arábica 100%	Fruta (F)	4	EF4
	Arábica e robusta	Citrus e limão (CL)	4	ECL4
Intenso (I)	Arábica 100%	Pimenta (P)	12	IP12
	Arábica com robusta	Cacau e cereal (CC)	11	ICC11
	Arábica com robusta	Frutas ácidas (FA)	10	IFA10
	Robusta and arábica	Torrado (T)	8	IT8
Pura origem (P)	Arábica 100%	Vinho frutado (VF)	6	PVF6
	Arábica 100%	Cereal, malte, mel (CH)	4	PCM4
	Arábica with robusta touch	Especiarias (S)	10	PE10
Descafeinado (D)	Arábica 100%	Biscoito (B)	4	DB4
Variados (V)	Arábica 100%	Chocolate Dark (DC)	6	VDC6
	Arábica 100%	Baunilha (B)	6	VB6

6.1.1 Preparo das bebidas

As bebidas de cápsula de café foram divididas em dois ensaios. No primeiro e no segundo ensaio, as bebidas de café foram preparadas de acordo com a descrição das embalagens.

Foi utilizado uma cafeteira doméstica modelo F411 BR 127 ~ 60Hz 1350W da marca Nespresso, apropriadas para cápsulas de café (Figura 13). No primeiro ensaio, cada cápsula de café contendo 5g foram adicionadas no compartimento da máquina que sofria uma pressão da água produzindo uma bebida de 40mL com uma temperatura de 64 °C. No segundo ensaio, à três bebidas foram adicionadas ingredientes (leite e/ou açúcar), sendo 20 mL de leite e/ou 5 g de açúcar, produzindo, desta forma, uma bebida de 40 a 60 mL. O controle foi preparado da mesma forma, passando apenas a água pela máquina sem a presença da cápsula, obtendo 40 mL e adicionando 20 mL de leite e/ou 5 g de açúcar.

Figura 13. Modelo de máquina utilizada.

As bebidas foram preparadas com ausência de luz, no Laboratório de Componentes Alimentares e Saúde (LACAS) da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, nos anos de 2017 e 2018.

6.2 SEGUNDO ENSAIO

Após a realização do primeiro ensaio, foram escolhidas duas amostras a partir da maior concentração de fenólicos totais (mg de ácido clorogênico/40 mL de bebida) e uma amostra descafeinada para realização do segundo ensaio. De acordo com o desenho do estudo na Figura 14.

Figura 14. Desenho do estudo

6.3 MÉTODOS

6.3.1 Produtos químicos e reagentes

Todos os reagentes, padrões e enzimas foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil). Os padrões utilizados foram cafeína, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico. Os reagentes utilizados foram, metanol grau HPLC, acetonitrila grau HPLC, ácido fórmico, reagente de *Folin-Ciocalteu* (Merck), persulfato de potássio, 6- hidroxí-2,5,7,8-tetrametil-cromano-2-carbonos (Trolox) e 2,20-azinobis- (3-etilbenztiazolino- 6-sulfonato) (ABTS), 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC), solução de fluoresceína, AAPH (dicloridrato de 2, 2'-azobis (2- amidinopropano). As enzimas utilizadas foram α -amilase, pepsina porcina, pancreatina porcina e bile porcina.

6.3.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

6.3.2.1 Quantificação de compostos fenólicos totais

A determinação dos fenólicos totais foi realizada pelo método descrito por SINGLETON e ROSSI, (1965) (138), adaptado para microplaca em triplicata.

As bebidas de café foram diluídas em água deionizada (1:400, v/v), alíquotas de 120 μ L foram misturadas a 50 μ L de reagente *Folin-Ciocalteu* (Merck) em microplaca de poliestireno transparente (Greiner Bio One). A microplaca foi agitada por 5 segundos e incubada por 3 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente, 30 μ L de carbonato de sódio (200 g/L) foram adicionados à mistura, sendo incubada à 37°C por 1 hora. A cor azul produzida pela redução do reagente *Folin-Ciocalteu* pelos fenólicos foi medida em leitor de placas *Molecular Devices* (*SPECTRA max*) em 765 nm.

A quantificação dos fenólicos totais foi realizada empregando-se curva analítica do padrão ácido clorogênico, em concentrações de 0,0016 a 0,0250 mg/mL e um R^2 0,9978. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido clorogênico/mL de bebida.

6.3.2.2 Determinação do perfil de compostos fenólicos.

As análises do perfil de compostos fenólicos foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em cromatógrafo líquido Agilent, modelo 12000 SL, equipamento com detector de arranjo de diodos (DAD).

As bebidas foram desproteinizadas e diluídas (1:10, v/v) em triplicata, 150 μ L da bebida foi filtrada com filtro para seringa de 0,22 μ m (Millipore) e foi adicionado 150 μ L de ácido fórmico 0,1% (v/v) em microplaca e imediatamente injetado no cromatógrafo.

A fase móvel foi constituída de ácido fórmico (Merck) 0,1% (v/v) em água deionizada (A) e metanol grau HPLC (Gold, CER Brasil) (B). O solvente foi filtrado com membrana de 0,45 μ m (Millipore) e degaseificados em ultrassom por 20 minutos antes de serem acoplados ao sistema cromatográfico. Antes do início da análise, o sistema foi equilibrado com mistura de 85:15 dos eluentes A e B, respectivamente. A programação do gradiente foi a seguinte: 15% de B aos 13 minutos e mantendo por mais 7 minutos nesta condição para equilibrar a coluna (Tabela 8). O fluxo de fase móvel foi de 320 μ L.min⁻¹ e a temperatura de forno mantido a 40°C. A coluna utilizada foi a Zorbax SB-C1850x21.x1.8 μ m e pré-coluna 822700-902 S/N: uswx005854.

Tabela 8. Gradiente de concentração

Tempo	Parâmetro
	Fluxo 320 $\mu\text{L min}^{-1}$
1,5	Solvente A: 85%
	Solvente B: 15%
5	Solvente A: 70%
	Solvente B: 30%
6	Solvente A: 65%
	Solvente B: 35%
12	Solvente A: 65%
	Solvente B: 35%
13	Solvente A: 85%
	Solvente B: 15%

A identificação do ácido clorogênico, cafeína, ácido cafeico, *p*-cumárico e ferúlico foi realizada com base no tempo de retenção, espectro de absorção UV, em comparação com os padrões de referência, com base em dados da literatura (103). A quantificação foi realizada pelo DAD, por meio de curvas de calibração externas de 5 pontos com o padrão de referência. Para a cafeína foram considerados ponto baixo a 272 nm (0,0036 a 0,0572 mg/mL, $r^2=0,999$) e ponto alto a 272 nm (0,0285 a 0,4572 mg/mL, $r^2=0,999$); para o ácido clorogênico, ponto baixo a 324 nm (0,0001 a 0,0054 mg/mL, $r^2=0,999$) e ponto alto a 324 nm (0,0027 a 0,0434 mg/mL, $r^2=0,999$); para o ácido cafeico, ponto baixo a 324 nm (0,0004 a 0,0063 mg/mL, $r^2=0,999$) ponto alto a 324 nm (0,0063 a 0,2036 mg/mL, $r^2=1$), ácido *p*-cumárico ponto baixo a 324 nm (0,0001 a 0,0026 mg/mL, $r^2=0,999$) e ponto alto a 324 nm (0,0013 a 0,0213 mg/mL, $r^2=1$) e para o ácido ferúlico, ponto baixo a 324 nm (0,0001 a 0,0027 mg/mL, $r^2=0,998$) e ponto alto a 324 nm (0,0013 a 0,0217 mg/mL, $r^2=0,999$).

A metodologia foi validada no DAD, utilizada para quantificação dos compostos do café. Foram determinados o tempo de retenção do ácido clorogênico, cafeína, ácido cafeico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico e a precisão das áreas, por meio de análise de três replicatas das bebidas de café intra-dia (repetibilidade) e inter-dia (precisão intermediária). Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados com base nos parâmetros das curvas de calibração dos compostos, conforme metodologia proposta pela *International Conference on Harmonisation* e avalizada por (139), com valores de $LD = 3,3 * (s/S)$ e $LQ = 10 * (s/S)$, sendo s o desvio padrão residual da equação de regressão e S o coeficiente angular.

6.3.2.3 Determinação da capacidade antioxidante por redução do radical DPPH

A atividade antioxidante por meio da redução do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) foi avaliada utilizando o método descrito por BRAND-WILLIAMS *et al.* (140), com modificações. O grau de descoloração do DPPH foi medido em 515 nm, durante 1 hora, em intervalo de 5 minutos entre cada leitura. O efeito dos antioxidantes sobre a redução do DPPH foi atribuído à habilidade destes compostos de doar hidrogênio, causando alteração da coloração do meio reacional de violeta para amarelo.

As amostras foram diluídas em metanol para obtenção de três diferentes concentrações (1:25, 1:50, 1:100) no primeiro ensaio e três (1:16, 1:25, 1:50) no segundo ensaio. Uma alíquota de 20 µL de cada concentração foi misturada com 200 µL do reagente DPPH (180 µmol/L) em microplaca OS da Greiner Bio-one. A análise foi realizada em espectrofotômetro Shimadzu modelo UV/VIS-1650PC, o qual foi zerado com 20 µL da amostra, nas mesmas diluições, misturados com 200 µL de metanol. Um controle contendo 20 µL de metanol e 200 µL do reagente DPPH foi preparado e o valor

de sua absorbância determinado, zerando-se o equipamento com metanol. A capacidade antioxidante da amostra foi calculada utilizando-se uma curva padrão de DPPH nas seguintes concentrações: 0, 20, 40, 60, 120 e 180 µM/L. Os valores de concentração eficiente (EC₅₀), que representam a concentração de antioxidantes da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH, foram calculados plotando-se a porcentagem DPPH (absorbância 515 nm) reagido em função das concentrações das bebidas.

$$\text{DPPH reagido (\%)} = \frac{(\text{Absorbância controle} - \text{Absorbância amostra}) \cdot 100}{\text{Absorbância controle}}$$

Para curva padrão foi utilizado a solução de Trolox 2,5 mM em crescentes concentração (0,125, 0,250, 0,375, 0,500, 0,625, 0,750, 0,875, 1,000, 1,250, 1,500 e 2,000 mM/L r²=0,998) de acordo com o método descrito por YUE (141) modificado.

6.3.2.4 Determinação da atividade *scavenger* do radical ABTS^{•+}

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método do radical ABTS^{•+} [2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico], foi utilizada a metodologia descrita por RE *et al.* (142), com modificações. Este método foi escolhido por ser aplicável para o estudo de compostos antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis, compostos puros e extratos de alimentos (142).

Inicialmente, foi preparado o radical ABTS^{•+} a partir da reação de 7 mmol/L do sal ABTS com 140 mmol/L de persulfato de potássio, os quais foram incubados à temperatura ambiente (37 °C) e na ausência de luz por 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorbância de 0,70 nm (± 0,01) a 734 nm. Para realizarem-se as análises foram pipetados em microplaca de poliestireno com 96 cavidades (fundo plano, transparente, Greiner Bio-one GmbH) 10 µL

da amostra (convenientemente diluída 1:4000, v,v) e 200 μ L da solução contendo o radical. Após 6 minutos a 30 °C, foi determinado a absorbância a 734 nm em leitor de placas (modelo SpectraMax M5, Molecular Devices Inc).

Foi elaborada uma curva de calibração com o padrão Trolox nas seguintes concentrações: 0, 25, 50, 100, 200, 300 e 700 μ mol/L ($r^2= 0,998$).

A porcentagem de inibição da amostra foi calculada em função da concentração de compostos antioxidantes e de Trolox, tendo como referência a curva do padrão. Os resultados foram expressos como TEAC (Trolox Equivalent antioxidant capacity) mmol Trolox/mL de bebida.

6.3.2.5 Capacidade de absorbância de radical oxigênio (ORAC)

A capacidade de absorbância de radical oxigênio (ORAC) mede a inibição de oxidação induzida pelo radical peroxila e reflete a atividade antioxidante de quebra da cadeia do radical pela transferência de hidrogênio.

Esse ensaio foi realizado segundo método descrito por OU *et al.* (143), modificado. Todas as soluções foram preparadas em tampão fosfato a 75 mmol/L (pH 7,4), pois a fluorescência da Fluoresceína (3',6'-dihidroxi-espiro[isobenzofurano-1[3H],9'[9H]-xanten]-3-ona) é sensível ao pH; quando é inferior a 7,0 a intensidade da fluorescência diminui consideravelmente. A solução estoque de Fluoresceína (1,17 mmol/L) foi preparada e armazenada a 4 °C, protegida da luz, por um mês. As demais soluções foram preparadas diariamente e mantidas em gelo por período inferior a 8 horas, sendo posteriormente descartadas.

A análise foi realizada em microplacas pretas com 96 poços Fluotrac 200 (Greiner Bio One). Foram pipetados 50 μ L da amostra (1:50000) em tampão fosfato 75 mmol/L

(pH 7,4), 150 µL de Fluoresceína (93,54 nmol/L) e 50 µL de AAPH (2,2'-azobis(2-aminopropano)) (221 mmol/L) (Sigma-Aldrich, EUA). Para minimizar a variabilidade do ensaio, visto que pequenas diferenças de temperatura nos poços podem reduzir a reprodutibilidade (144), a placa foi incubada a 37 °C por 15 minutos anterior à adição do AAPH. Pelo período de 1 hora, o decaimento da fluorescência foi medido à 37 °C (λ excitação = 493 nm; λ emissão = 515 nm) a cada minuto, em leitor de placas *Molecular Devices* (*SPECTRAmax*). Os antioxidantes presentes na amostra protegem a Fluoresceína da oxidação pelo AAPH, aumentando a área sob a curva (AUC). O resultado foi comprovado com a AUC de um padrão de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (Sigma-Aldrich, EUA) a 20 µmol/L. Tampão fosfato 75 mmol/L (pH 7,4) foi utilizado como branco. Para verificação da linearidade do teste, foi preparada uma curva de calibração com Trolox nas seguintes concentrações: 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 µmol/L). Os resultados foram expressos em µmol de equivalentes de Trolox/mL de bebida.

O Cálculo da AUC da amostra, do branco e do padrão foi realizado por meio da seguinte equação:

$$AUC = (0,5 + f1/f0 + f2/f0 + f3/f0 + \dots + f59/f0 + f60/f0)$$

Sendo: f0 = Fluorescência no tempo 0 min e f60 = fluorescência em 60 min

$$ORAC = C \text{ Trolox } (AUC_{\text{amostra}} - AUC_{\text{branco}}) / (AUC_{\text{Trolox}} - AUC_{\text{branco}}) \cdot K$$

Onde: C Trolox = concentração de Trolox (20 µmol/L)

AUC = área sob a curva de redução da Fluoresceína

K = fator de diluição da amostra.

6.4 MELANOIDINAS

A concentração de melanoidinas foram estimadas pela medida de absorbância a 420 nm de acordo com o método descrito por DEL CASTILLO (145) em espectrofotômetro.

As bebidas foram diluídas (1:400, v.v) em água deionizada, e foram aliqüotadas 200 µL em microplacas transparente com 96 poços (Greiner Bio One) e colocadas em espectrofotômetro Shimadzu modelo UV/VIS-1650PC e avaliado a absorbância a 420 nm.

6.5 DESPROTEINIZAÇÃO

Para desproteinação da bebidas foi utilizado o método descrito por ZHIYONG *et al.* (146), modificado. Em um microtubo “eppendorf” de 2 mL foi adicionado 750 µL da bebida e misturado com 750 µL de ácido fórmico 1% (v.v) em metanol. A solução foi sonicada em ultrassom por 3 minutos e centrifugada a 10.000 g por 10 minutos a 4 °C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi recolhido e filtrado com seringa em filtro de 0,22 µm e armazenado a -80°C.

6.5.1 Preparo das bebidas com antioxidante sintético

As bebidas desproteinizadas que posteriormente foram injetadas no CLAE-DAD, foram armazenadas com a solução de 200 µL de ácido ascórbico + EDTA para proteger

as bebidas de acordo com o método descrito por CHOW *et al.*, adaptado. O preparo da solução foi 1 g de ácido ascórbico e 0,05 g Na₂EDTA completos com 50 mL de água deionizada; a solução foi solubilizada e filtrada em filtro milopore de 0,22 µm.

6.6 DIGESTÃO *IN VITRO*

A digestão *in vitro* foi realizada de acordo com o consenso de MINEKUS (147), com modificações. As bebidas passaram pela fase oral, fase gástrica e fase intestinal da digestão *in vitro*.

Na fase oral, as bebidas foram aliquotadas em um tubo falcon de 40 mL com diferentes concentrações (5,8, 7,3 e 12,3 mL) de acordo com a quantidade de sólido e solúvel. Foram adicionados 1 mL de solução de fase salivar (SSF) com os reagentes cloreto de potássio (KCL), fosfato monopotássico (KH₂PO₄), bicarbonato de sódio (NaHCO₃), cloreto de magnésio hexahidratado (MgCl₂(H₂O)₆), carbonato de amônio ((NH₄)₂CO₃)) e ajustado o pH para 7; Foi pipetado 75 µL de cloreto de cálcio (CaCl₂) em cada tubo e 307 µL de enzima amilase, sendo solubilizado e ajustado o volume para 15 mL com água deionizada. Os tubos foram colocados em banho maria com agitação à 37 °C por 10 minutos (simulando a mastigação). Foram retirados 5 mL de uma das triplicatas e armazenado em frasco âmbar para posteriores análises. As triplicadas restantes foram reservadas para dar continuidade com a fase gástrica.

Na fase gástrica, foram dadas continuidade com o mesmo tubo da fase oral. Foi adicionado 1 mL de solução de fase gástrica (SGF) com os reagentes (KCL, KH₂PO₄, NaHCO₃, MgCl₂(H₂O)₆ (NH₄)₂CO₃ e cloreto de sódio (NaCl)) e ajustado o pH para 3 com ácido clorídrico (HCl). Foi pipetado 15 µL de CaCl₂ e 100 µL de enzima pepsina, sendo solubilizado e ajustado o volume para 30 mL com água deionizada. Os tubos foram

colocados no banho maria com agitação à 37 °C por 2 horas e resfriada com gelo; foram retirados 5 mL de uma das triplicatas para análises posteriores o restante foi reservado para dar continuidade na fase intestinal.

Na fase intestinal, foram dadas continuidades no mesmo tubo falcon da fase gástrica. Foi pipetado 500 µL de solução de fase intestinal (SIF) com reagentes (KCL, KH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl e $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$) e ajustado o pH para 7 com hidróxido de sódio (NaOH). Foi pipetado 80 µL de CaCl_2 e 500 µL de bile (a bile utilizada foi bile de porco da Sigma) e 100 µL de enzima pancreatina. O volume foi ajustado para 40 mL com água deionizada e os tubos foram colocados em banho maria com agitação à 37 °C por 2 horas. Foram resfriados com gelo e alíquotas de 5 mL de uma das triplicatas foram colocadas em frasco âmbar e armazenadas a -4 °C para posteriores análises, o restante foram armazenados em freezer à -80 °C.

6.7 INIBIÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (TBARS)

A inibição da peroxidação lipídica foi avaliada de acordo com as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) utilizando o método descrito por TAMURA (148), com modificações.

Em um microtubo de 2 mL foi pipetado 480 µL do tampão com o ácido linoleico e 10 µL da bebida (não digerida e/ou digerida) e 10 µL da solução aquosa de sulfato ferroso (20 mM). O microtubo foi agitado em vortex e incubado por 16 horas à 37 °C para induzir a peroxidação lipídica na incubadora. Após as 16 horas foi pipetado 10 µL da solução STOPPER de BHT (91 mM), e retirado 150 µL em triplicatas e colocados em um microbuto de 2 mL e adicionado 150 µL da solução TBA e 450 µL de HCl 0,05 N. Foi agitado em vortex e incubado durante 30 minutos a 100 °C com trava de vedação,

resfriado em banho de gelo e adicionado 750 μL de n-butanol e agitado em vortex vigorosamente. Após a agitação foi centrifugado por 10 minutos a 2500 rpm sem temperatura; foi retirado 200 μL da camada n-butanol (camada superior), e colocado em microplaca transparente de 96 poços, e levada para fazer a leitura com leitor de placa (espectrofotômetro) em absorvância de 535 nm. Para a curva padrão foi utilizado o padrão 1,1,3,3-tetraethoxypropane. A peroxidação lipídica foi expressa em nmol de MDA por 1 mg de ácido linoleico (nmol MDA/mg ácido linoleico).

7 ANÁLISE DOS DADOS

7.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram repetidos 2 vezes e as amostras das análises foram retiradas em triplicatas. Os resultados das diferentes análises foram apresentados como média e desvio padrão. Estas avaliações foram realizadas por meio do programa Microsoft Excel, versão 2016.

Os dados de análises químicas foram submetidos à análise multivariada empregando-se as técnicas de análise de componentes principais e agrupamento hierárquico. A análise de componentes principais e de agrupamento hierárquico são técnicas complementares, onde a primeira reduz as variáveis analisadas através de critérios objetivos a um novo conjunto de parâmetros, permitindo a construção de gráficos bidimensionais contendo maior informação estatística. A segunda técnica interliga as amostras por suas similaridades, produzindo um dendograma onde as amostras semelhantes, segundo os parâmetros escolhidos, são agrupadas entre si.

Foi utilizado análise de variância (ANOVA) e teste tukey. O nível de significância estabelecido para todos os testes estatísticos aplicados foi de $\alpha = 5 \%$. Todos estes procedimentos foram realizados com o “software” *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 24.0 para Windows.

8 RESULTADO E DISCUSSÃO

8.1 ENSAIO 1

8.1.1 Atividade antioxidante das bebidas de café em cápsulas de acordo com sua intensidade (torra)

A bebida de café é bastante estudada e já foi bem caracterizada quanto a sua composição química, sendo considerada uma bebida bioativa (149). Além disso, estudos *in vivo* e *in vitro* já comprovaram que a bebida de café apresenta excelente atividade antioxidante (150). Este efeito é atribuído ao conteúdo de ácidos fenólicos presentes no café e das melanoidinas provenientes da reação de *Maillard*, entretanto, até o momento não há relatos a respeito da atividade antioxidante da bebida de café expresso em cápsula em relação a sua intensidade/torra. Neste estudo, identificamos os fenólicos totais, melanoidinas e a atividade antioxidante das bebidas de café expresso em cápsula de acordo com a sua intensidade (Tabela 9).

Tabela 9. Fenólicos totais, melanoidinas e atividade antioxidante das bebidas de café expresso em cápsulas, conforme sua intensidade ou torra (I).

Cápsulas	I	Fenólicos totais mg CQA / mL	Melanoidinas (abs 420 nm)	ORAC μmol equiv Trolox / mL	ABTS mmol equiv Trolox/ mL	DPPH EC ₅₀
DB4	4	246,3 ± 10,2 ^b	0,209 ± 0,00 ^{abc}	52787,2 ± 44,22 ^a	15,22 ± 2,35 ^a	1,24 ± 0,06 ^a
ECL4		282,1 ± 11,6 ^{bc}	0,221 ± 0,03 ^{abc}	93335,6 ± 92,35 ^{ab}	14,22 ± 2,42 ^a	1,20 ± 0,03 ^a
EF4		247,5 ± 20,5 ^b	0,216 ± 0,01 ^{bcd}	15257,8 ± 13,86 ^a	15,07 ± 3,25 ^a	1,22 ± 0,08 ^a
PCM4		191,4 ± 15,2 ^a	0,197 ± 0,04 ^a	51444,8 ± 16,02 ^a	17,68 ± 5,44 ^a	1,27 ± 0,03 ^a
EC5	5	267,6 ± 7,9 ^{bc}	0,205 ± 0,01 ^{ab}	22946,3 ± 9,10 ^a	16,18 ± 4,26 ^a	1,22 ± 0,08 ^a
ETC6	6	280,6 ± 16,1 ^{bc}	0,248 ± 0,07 ^{bcd}	24198,0 ± 8,30 ^a	16,18 ± 8,52 ^a	1,17 ± 0,03 ^a
VB6		274,3 ± 52,5 ^{bc}	0,251 ± 0,05 ^{cde}	67240,1 ± 37,43 ^{ab}	16,0 ± 2,03 ^a	1,28 ± 0,19 ^a
VDC6		243,7 ± 10,1 ^b	0,241 ± 0,01 ^{bcd}	50087,9 ± 54,70 ^a	19,08 ± 2,81 ^a	1,24 ± 0,10 ^a
PVF6		284,3 ± 11,5 ^{bc}	0,249 ± 0,01 ^{bcd}	38700,2 ± 24,85 ^a	16,48 ± 3,73 ^a	1,19 ± 0,03 ^a
IT8	8	252,9 ± 11,4 ^{bc}	0,222 ± 0,01 ^{abc}	36855,3 ± 24,28 ^{ab}	14,67 ± 6,66 ^a	1,17 ± 0,03 ^a
IFA10	10	290,5 ± 42,1 ^{bc}	0,292 ± 0,00 ^e	80204,2 ± 26,28 ^a	15,10 ± 1,80 ^a	1,18 ± 0,08 ^a
PE10		295,1 ± 3,7 ^c	0,338 ± 0,03 ^f	33784,5 ± 7,23 ^a	22,80 ± 13,66 ^a	1,20 ± 0,03 ^a
ICC11	11	276,0 ± 14,9 ^{bc}	0,279 ± 0,01 ^{de}	16988,2 ± 8,46 ^b	13,82 ± 1,28 ^a	1,16 ± 0,06 ^a
IP12	12	374,3 ± 24,3 ^d	0,372 ± 0,02 ^f	168932,5 ± 138,61 ^b	15,88 ± 2,57 ^a	1,15 ± 0,06 ^a

*I= intensidade, CQA= equivalente de ácido clorogênico. Equiv = equivalente. Os resultados são expressos em sexplicata com média e ± desvio padrão. As diferentes letras na coluna (a,b,c,d,e,f) representam diferenças estatísticas, a nível de significância de 5 %. **p* < 0,05 (ANOVA seguido de teste Tukey).

A intensidade da bebida de café está relacionada com o seu grau de torrefação; as intensidades 3, 4 e 5 são consideradas uma torra clara, enquanto que as intensidades 6, 7 e 8 são denominadas torra média e as intensidades 10, 11 e 12 são caracterizadas com uma torra escura (151).

Ao analisar os fenólicos totais das bebidas de café expresso em cápsulas pelo método de *Folin-Ciocalteu* (138), foi possível observar que houve um aumento do teor de fenólicos totais ($p < 0,05$), conforme o maior grau de torrefação. A amostra IP12 caracterizada como uma bebida de torra escura (intensidade 12) obteve maior concentração de fenólicos totais (374,3 mg equivalente ácido clorogênico/ 40mL), quando comparada com as outras bebidas. Já a amostra PCM4 caracterizada como uma bebida de torra clara (intensidade 4), foi a bebida que obteve menor concentração de fenólicos totais (191,4 mg equivalente ácido clorogênico/40 mL) (Figura 15).

Figura 15. Teores de fenólicos totais determinados pelo método de *Folin-Ciocalteu*

* resultados expressos em média e desvio padrão a nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

Os teores de fenólicos totais encontrados neste estudo foram diferentes aos valores descritos na literatura relacionados às bebidas de café solúvel (9, 152) e bebidas de café expresso (153). De acordo com KURNIAWAN (152), os teores de fenólicos totais

diminuíram nas bebidas de café solúvel que sofreram maior torrefação. Já para ALVES (153) independentemente do tipo de grão, seja arábica ou robusta, na bebida de café expresso, houve uma diminuição no teor de fenólicos totais de acordo com a torra. O grão robusta teve uma diminuição significativa, já o grão arábica teve uma diminuição, porém não foi tão significativa; isto é explicado pelo fato de que o grão robusta pode conter quase o dobro da quantidade de compostos fenólicos comparado com o arábica.

O resultado do presente estudo, por ser diferente da literatura, pode ser explicado pela seguinte hipótese: a matéria prima utilizada no estudo (cápsulas) contém notas em sua composição (fruta, cereal, cacau, pimenta e especiarias), notas estas que poderiam influenciar juntamente com a torra no teor de fenólicos totais. Porém, essas notas podem ser formadas através dos compostos voláteis ou adicionadas no processo de torrefação, como adição frutos, galhos ou enzimas, sendo esta informação restrita a cada produtor/cafeicultor. Outra hipótese poderia ser explicada pelo fato de as cápsulas de café serem formadas através de *blends* ou misturas de grãos arábica e robusta, aumentando assim o teor de fenólicos totais na bebida de café. Desta maneira, o consumo de café em cápsula com intensidade alta seria melhor indicado para população, pois iria aumentar o consumo de fenólicos totais na dieta contribuindo para redução do risco do desenvolvimento de DCNTs.

A alta temperatura no processo de torrefação pode degradar polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos, especialmente o ácido clorogênico, que é responsável pela formação do sabor final do café. Por outro lado, ao mesmo momento em que alguns compostos são degradados, outros compostos são formados durante o processo de torrefação, como a trigonelina e as melanoidinas, que são produtos da reação de *Maillard* (92).

A melanoidina é o produto final da Reação de *Maillard*, de elevado peso molecular; é um composto marrom com nitrogênio (154) formada como resultado da interação entre açúcares redutores e aminoácidos. Este composto é relatado por ter atividade antioxidante, anti-inflamatória, anticarcinogênica, anti-hipertensiva e atividade prebiótica (155, 156).

No presente estudo, foi possível observar a quantidade de melanoidina medida em absorbância de 420 nm em espectrofotômetro. Os resultados das bebidas que possuíam maior absorbância também tinham uma maior intensidade (Tabela 8). A bebida de café que mais se destacou foi a amostra IP12 de intensidade 12 com uma absorbância de 0,372 nm e a PE10 de intensidade 10 com uma absorbância de 0,338 nm ($p < 0,05$) em relação às outras bebidas. A amostra PCM4 de intensidade 4 apresentou a menor absorbância de 0,197 nm (Figura 16).

Figura 16. Melanoidinas (absorbância) em espectrofotômetro de acordo a intensidade da bebida de café.

* resultados expressos em média e desvio padrão a nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

Os resultados obtidos no presente estudo foram similares aos resultados encontrados na literatura tanto para café solúvel quanto para café expresso (145, 154, 157,

158). Independentemente do modo de preparo ou do grão, as bebidas de café que sofreram maior torrefação (torra escura e intensidade alta) obtiveram em sua composição maior teor de melanoidinas. As quantidades de melanoidinas correspondem por até 25 % dos grãos de café torrados, e sua presença aumenta com a severidade da torrefação (159). Já na bebida de café os dados indicam que a ingestão de melanoidinas podem variar entre 0,5 e 2,0 g por dia para consumidores moderados de café. Estes dados sugerem que uma estimativa realista da ingestão dietética de melanoidinas para a população em geral seria próxima de 10 g por dia, considerando todas as possíveis fontes alimentares (154).

As diferentes frações de melanoidinas exercem uma grande variedade de atividades biológicas de acordo com sua composição e/ou estrutura química (159). Esse feito biológico pode ser explicado pelo fato de as melanoidinas não passarem pelo processo de digestão e chegarem intactas ao trato gastrointestinal; sugere-se que elas atuem como uma fibra alimentar que interagem com diferentes espécies microbianas presentes no colón (158).

Dietas ricas em compostos antioxidantes têm sido associadas a diversos benefícios para a saúde humana, incluindo a proteção contra DCNTs, pois atuam em sinergia integrada para proteger o organismo contra danos oxidativos (160). Os métodos para avaliação da atividade antioxidante total (AAT) propostos na literatura são diversos, porém alguns são mais apropriados que outros (161). Neste estudo optamos por utilizar ORAC que remove um radical peroxil, ABTS e DPPH que removem um radical orgânico. Ambos os métodos têm a função de sequestrar os radicais livres, e já foram utilizados em estudos anteriores para avaliar a atividade antioxidante do café.

Os resultados apresentados na Tabela 8 mostram que todas as bebidas de café expresso em cápsulas apresentaram efeito antioxidante ao sequestrar os radicais livres. Isto está relacionado à presença de compostos fenólicos presentes em sua composição

(162). Quando comparadas as bebidas de café expresso em cápsulas com a sua intensidade (torra) e o poder de sequestrar os radicais livres, não houve diferença a nível de significância de 5 % ($p < 0,05$) para o método de ABTS ($r = 0,022$) e DPPH (EC₅₀) ($r = 0,067$). Os resultados pelo ensaio de DPPH foram expressos em termos do coeficiente de inibição (EC₅₀), indicando uma concentração mínima de amostra necessária para reduzir os radicais livres iniciais pela metade, a partir do momento em que se atinge uma estabilidade determinada através de uma cinética de reação que, pode ocorrer de três maneiras distintas, de forma rápida, intermediária ou lenta (140). Resultados similares foram encontrados por POKORNÁ *et al.*, (163) usando o ensaio por ABTS comparando as diferentes torras de grãos e a atividade antioxidante. De acordo com KURNIAWAN *et al.*, (152) a torrefação influenciou na atividade antioxidante; o grão verde de café e a torra clara tinham melhor atividade antioxidante do que a torra escura expressa por IC₅₀, sendo contrário aos resultados obtidos no nosso estudo pelo método do DPPH. Porém, quando avaliada a atividade antioxidante pelo método de ORAC, pode-se observar que há diferenças estatísticas ($p < 0,05$) de acordo com a intensidade. A bebida que obteve maior poder de sequestro dos radicais livres foi a IP12 com intensidade 12 (torra escura), com um valor de atividade antioxidante de 168932,5 $\mu\text{mol Trolox/ 40mL}$; já a bebida que teve menor poder redutor foi a EF4 com intensidade 4 (torra clara) a nível de significância de 5 % ($p < 0,05$). MOJICA *et al.*, (164) encontraram resultados similares que mostraram maior poder redutor nas bebidas de torra média e escura.

Deste modo, foi realizado análise de componentes principais para verificar se a intensidade das bebidas de café em cápsulas possuía efeitos nas atividades antioxidantes, fenólicos totais e melanoidinas. De acordo com os resultados da Figura 17, há forte correlação da intensidade com fenólicos totais ($r = 0,953$) e melanoidinas ($r = 0,909$) e correlação moderada entre intensidade e a atividade antioxidante por ORAC ($r = 0,711$),

porém, não houve correlação entre intensidade e ABTS ($r = 0,127$) e DPPH ($r = 0,132$). Sendo assim, é possível dizer que houve correlação entre intensidade e PC 1 ($r = 0,682$; $p = 0,010$), a nível de significância de 5 % ($p < 0,05$) do mesmo modo que foram encontrados por VIGNOLI *et al.* (91).

Figura 17. Análise de componente principal entre intensidade e os métodos de atividade antioxidante.

* correlação significativa a nível de 5 % ($p < 0,05$).

As bebidas de cápsulas de café do tipo expresso, intenso, pura origem, descafeinado e variados tiveram uma boa correlação entre a atividade antioxidante, fenólicos totais e melanoidinas com a intensidade (grau de torra) das respectivas cápsulas. Esta correlação foi comprovada tanto pelo método *in vitro* quanto pela análise estatística; os métodos utilizados foram eficazes para determinar a atividade antioxidante destas bebidas de café expresso em cápsulas, sendo o ensaio de ORAC o que demonstrou melhor captura do radical livre e melhor significância estatística entre as diferentes cápsulas e suas intensidades. Já o ensaio por DPPH e ABTS mostraram boa atividade antioxidante

das bebidas de café expresso em cápsulas tanto nas bebidas com cafeína quanto nas descafeinizadas, independentemente da sua intensidade. Por outro lado, se faz necessário avaliar os diferentes *blends* ou misturas em relação ao seu tipo de grão (arábica e/ou robusta) e suas notas (cacau, especiarias, pimenta, cereal entre outras) e se há alguma correlação entre a atividade antioxidante, total de fenólicos e melanoidinas com a intensidade das cápsulas.

Deste modo, a importância de verificar a atividade antioxidante das bebidas de café expresso em cápsula é fundamental para poder indicar para a população uma nova opção de consumo de café com intensidade alta e/ou média, que possam contribuir com a ingestão de antioxidante natural na dieta, aumentando as chances de diminuir o risco do desenvolvimento de DCNTs, atuando contra o estresse oxidativo.

8.2 ENSAIO 2

8.2.1 Atividade antioxidante das bebidas não digeridas e digeridas com e sem adição de ingrediente.

O café é o principal contribuinte de antioxidante da dieta do brasileiro com 66 % dessa capacidade, independentemente da renda familiar ou padrões alimentares. Isto se deve pelo fato do consumo de café estar na cultura brasileira, devido à sua alta produção, e por ser acessível a todos, desempenhando um papel importante na ingestão de alimentos antioxidantes no Brasil (165). O consumo de café em casa é geralmente acompanhado com leite e/ou açúcar, independentemente do tipo: coado, instantâneo, expresso e cápsula. Fora de casa, o café coado e o expresso tendem a ser consumidos puros e o instantâneo tende ao consumo com leite, no intervalo das refeições (88).

Ensaaios experimentais simples *in vitro* podem ser realizados para examinar a atividade antioxidante em alimentos; os resultados dos métodos *in vitro* podem permitir a avaliação da eficácia do potencial *in vivo* (166).

Sendo assim, o presente estudo avaliou a atividade antioxidante das bebidas de cápsulas de café expresso pura (feita apenas com água) e quando adicionado de leite e/ou açúcar após o seu preparo. O ensaio foi realizado por diferentes métodos de atividade antioxidante, tais como ORAC, ABTS e DPPH, como mostra a Tabela 10.

Tabela 10. Atividade antioxidante das bebidas de cápsulas de café, puras (P), com açúcar (A), com leite e açúcar (LA) e leite (L).

Cápsula	Não digerida			Fase oral			Fase gástrica			Fase intestinal		
	ORAC μmol Trolox/dose	ABTS mmol Trolox/dose	DPPH (EC ₅₀)	ORAC μmol Trolox/dose	ABTS mmol Trolox/dose	DPPH (EC ₅₀)	ORAC μmol Trolox/dose	ABTS mmol Trolox/dose	DPPH (EC ₅₀)	ORAC μmol Trolox/dose	ABTS mmol Trolox/dose	DPPH (EC ₅₀)
EI(P)	21019±19 ^{abcd}	22,25±1,0 ^h	0,550±0,3 ^a	15916±14 ^a	31,85±1,1 ^{ef}	1,4±1,2 ^k	23132±56 ^{ab}	45,22 ±3,9 ^{fg}	3,3±1,9 ^l	117917±81 ^{ab}	26,6±3,0 ^{bc}	4,375±1,2 ^k
EI(A)	19993±66 ^{abcd}	9,63±1,2 ^{bcdefg}	0,558±0,5 ^b	34101±10 ^{ab}	32,30±1,1 ^{ef}	1,4±2,5 ^l	19972±26 ^{ab}	46,81±0,1 ^{fgh}	3,2±2,5 ^k	216271±29 ^{abc}	17,5±15,9 ^{ab}	4,399±2,1 ^l
EI(LA)	46192±53 ^f	12,17±0,8 ^{efg}	0,826±1,2 ^h	14142±76 ^a	52,54±1,8 ^h	2,2±2,6 ^p	98998±42 ^c	72,08±0,7 ⁱ	4,8±1,6 ^p	331970±19 ^{cd}	18,7±13,7 ^{ab}	6,527±1,8 ^p
EI(L)	22283±19 ^{bcd}	12,43±2,8 ^{efg}	0,836 ±1,5 ^j	25078±17 ^{ab}	53,62±1,6 ^h	2,2±1,6 ^o	69866±40 ^{abc}	64,73±4,8 ⁱ	4,8±1,4 ^o	127773±17 ^{abc}	20,1±1,4 ^{ab}	6,453±1,5 ^o
EP(P)	14818±12 ^{ab}	24,87±1,8 ^h	0,563±0,5 ^c	9492±26 ^a	27,51±0,8 ^{de}	1,1±0,9 ^g	8610±36 ^a	40,47±4,7 ^{ef}	2,4±2,5 ⁱ	102877±37 ^{ab}	19,7±3,4 ^{ab}	3,399±4,5 ⁱ
EP(A)	16584±39 ^{abc}	7,77±0,9 ^{bcde}	0,564 ±0,9 ^d	14574±95 ^a	27,62±0,9 ^{de}	1,1±1,3 ^h	32849±11 ^{ab}	36,50±1,4 ^e	2,5±1,6 ^j	85231±24 ^{ab}	13,3±4,7 ^{ab}	3,456±2,3 ^j
EP(LA)	24132±29 ^{cd}	8,87±0,15 ^{bcdef}	0,845±2,0 ^k	9896±52 ^a	42,04±1,9 ^g	1,7±1,5 ^m	70260±24 ^{bc}	50,58±1,9 ^{gh}	3,8±3,6 ^m	204785±15 ^{abc}	21,0±3,7 ^{ab}	5,194±1,4 ^m
EP(L)	24060±34 ^{cd}	12,79±1,2 ^{fg}	0,834 ±1,5 ⁱ	22689±11 ^a	33,67±1,6 ^f	1,7±3,6 ⁿ	33682±10 ^{ab}	54,34±5,8 ^h	3,9±3,2 ⁿ	263005±18 ^{bcd}	17,0±12,9 ^{ab}	5,262±2,3 ⁿ
ED(P)	20481±32 ^{abcd}	14,30±2,4 ^g	0,577±0,6 ^f	9929±38 ^a	17,47±5,0,9 ^{bc}	0,71±1,7 ^b	26595±36 ^{ab}	22,30±1,1 ^{abc}	1,5±1,1 ^b	47010±14 ^a	11,2±2,8 ^{ab}	2,069±1,3 ^d
ED(A)	12759±10 ^a	6,73±0,8 ^{bcd}	0,574±0,8 ^e	2061±11 ^a	17,68±0,8 ^c	0,73±0,6 ^c	18017±18 ^{ab}	24,09±1,3 ^{cd}	1,4±1,6 ^a	30616±25 ^a	10,9±0,7 ^{ab}	2,036±2,3 ^b
ED(LA)	36700±33 ^e	10,31±2,8 ^{cdefg}	0,895±1,3 ^m	67623±32 ^{ab}	23,33±1,3 ^d	0,68±0,8 ^a	15872±12 ^{ab}	32,18±2,7 ^{de}	1,5±1,3 ^c	452153±51 ^d	45,9±10,4 ^c	2,044±1,6 ^c
ED(L)	36790±24 ^e	12,61±2,6 ^{fg}	0,891 ±2,1 ^l	9010±85 ^a	24,36±2,7 ^d	0,98±1,0 ^f	36230±12 ^{ab}	33,01±1,1 ^e	2,3±0,5 ^f	189800±15 ^{abc}	21,5±2,3 ^{ab}	3,063±1,8 ^g
(L)	42794±43 ^{ef}	6,55±0,5 ^{bc}	1,007±3,2 ^o	16513±10 ^a	12,40±0,9 ^a	1,1±1,1 ^j	47633±21 ^{abc}	22,91±0,7 ^{bc}	2,3±1,9 ^h	452153±51 ^d	7,8±1,2 ^{ab}	3,153±1,9 ^h
(A)	21224±36 ^{abcd}	4,81±0,9 ^{ab}	0,637±1,2 ^g	10275±37 ^a	7,59±2,3 ^a	0,78±0,7 ^e	26645±14 ^{ab}	14,07±0,6 ^a	1,5±3,2 ^e	67562±63 ^{ab}	2,8±1,2 ^a	2,108±0,9 ^e

* (L) = leite, (A) = açúcar, (P) = Pura, (EI) = expresso intenso, (EP) = expresso pura origem, (ED) = expresso descafeinado, (-) não avaliado. Os resultados são expressos em triplicata com média e ± desvio padrão. As diferentes letras na coluna (a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m,n,o,p) representam diferenças estatísticas, a nível de significância de 5 % * $p < 0,05$ (ANOVA seguido de teste Tukey).

Tabela 10. Continuação

(LA)	37058±16 ^e	11,49±1,2 ^{defg}	0,959±1,6 ⁿ	23136±32 ^a	14,58±3,6 ^{bc}	1,1±3,2 ⁱ	37548±26 ^{ab}	22,13±2,5 ^{abc}	2,3±3,2 ^g	58281±46 ^{ab}	7,8±1,4 ^{ab}	2,943±1,5 ^f
(EZ)	-	-	-	3512±29 ^a	13,13±1,5 ^{bc}	0,74±1,2 ^d	17704±13 ^{ab}	15,25±0,5 ^{ab}	1,5±1,5 ^d	36856±60 ^a	1,7±0,4 ^a	1,965±1,9 ^a

* (L) = leite, (A) = açúcar, (P) = Pura, (EI) = expresso intenso, (EP) = expresso pura origem, (ED) = expresso descafeinado, (-) não avaliado. Os resultados são expressos em triplicata com média e $\pm$ desvio padrão. As diferentes letras na coluna (a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m,n,o,p) representam diferenças estatísticas, a nível de significância de 5 % * $p < 0,05$ (ANOVA seguido de teste Tukey).

Foram comparadas as amostras puras com as que foram adicionados ingredientes (leite e/ou açúcar), nas diversas fases (oral, gástrica e intestinal) da digestão *in vitro* e quando não digeridas, utilizando o método de ORAC. Este método mostra o decaimento da fluoresceína em interação ao APPH, formando um produto não fluorescente, que avalia a atividade antioxidante pela inibição da oxidação, induzida pelo radical peroxil que é um oxidante comumente encontrado em substratos biológicos, por transferência de átomo de hidrogênio (143, 167).

Foi possível observar que as amostras que apresentaram maior atividade antioxidante por este método, foram as amostras com adição de leite com açúcar, independentemente se foi digerida ou não ($p < 0,05$). Porém o resultado foi mais expressivo na fase intestinal (329636 μmol equivalente Trolox/dose), e a menor AA foi observada na amostra pura da fase oral, (11779 μmol equivalente Trolox/ dose), sendo necessário a confirmação destes resultados usando também outros métodos de sequestro de radical livre.

As amostras também foram analisadas pelo ensaio de ABTS, que é um método que se baseia na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion $\text{ABTS}^{+\bullet}$, provocando um decréscimo na absorbância, que é lida a partir da mistura do radical com o antioxidante em diferentes tempos; a reação acontece por meio descoloração da cor azul esverdeado do meio reacional (142). Esse método apresenta vantagens em relação a outros, pois pode ser utilizado tanto para amostras hidrossolúveis quanto lipossolúveis. Os resultados obtidos a partir do ensaio de ABTS foi bastante similar aos resultados encontrados pelo ensaio de ORAC. A fase gástrica se mostrou ligeiramente com melhor atividade antioxidante em todas as amostras ($p < 0,05$). Porém, as bebidas com adição de leite com açúcar e somente leite tiveram maior atividade antioxidante, com valores de

51,61 mmol equivalente Trolox/dose e 50 mmol equivalente Trolox/dose, respectivamente.

A menor AA foi encontrada na fase não digerida da bebida com açúcar (8,04 mmol equivalente Trolox/dose). Esses resultados podem ser explicados pela interação das bebidas com a enzima pepsina, podendo potencializar o seu efeito antioxidante. Verificando os resultados descritos por KOMES (168) foi possível verificar que quando se adicionou 25 % de teor de leite no café, a AA aumentava. Resultados opostos ao de NISETEO (71), que relata uma diminuição AA pelo ensaio de ABTS nas bebidas de café com adição de leite em diferentes preparações (expresso, turco, intenso, descafeinado e filtrado). Sánchez-Gonzalez *et al.* (169) obtiveram resultados semelhantes, e relataram que a atividade antioxidante de diferentes preparações de café (italiano, café expresso e filtrado) diminuiu significativamente com a adição de diferentes quantidades de leite.

Deste modo, pode-se dizer que os resultados encontrados no presente estudo, tanto pelo ensaio de ORAC quanto pelo ABTS, mostraram melhor atividade antioxidante para as amostras com adição de leite com açúcar e somente leite na fase intestinal e gástrica. A provável hipótese para esses resultados são que, no momento que essas bebidas passam pela fase gástrica, há uma clivagem das proteínas, e a alta acidez gástrica e a pepsina provavelmente estão envolvidas na liberação dos peptídeos. Muitos peptídeos são gerados por reações enzimáticas no intestino após a ingestão de alimentos contendo proteínas precursoras (por exemplo, depois de beber um copo de leite) (170). Os peptídeos também podem ser produzidos das seguintes formas: (a) hidrólise enzimática por enzimas digestivas, (b) fermentação de leite com culturas proteolíticas iniciadoras, (c) proteólise por enzimas derivadas de microrganismos ou plantas (171). Esses peptídeos que são provenientes de proteínas alimentares contêm sequências peptídicas biofuncionais latentes dentro de suas estruturas primárias que podem ter a capacidade de exercer uma

resposta fisiológica *in vivo* (172) podendo ser caracterizados como peptídeos bioativos, por terem efeito antioxidante, anti-hipertensivo, anticancerígeno, cardioprotetor e antimicrobiano (173).

Para maior confiabilidade dos resultados também foi realizado o ensaio de DPPH, por ser considerado do ponto de vista metodológico, um dos mais fáceis, precisos e reprodutivos na avaliação da AA de sucos de frutas, extratos vegetais e substâncias puras (174, 175). O DPPH é caracterizado como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda molécula. Essa deslocalização confere a esta molécula uma coloração violeta, e quando uma determinada substância age como doador de átomo de hidrogênio, esta muda a coloração de violeta para amarelo (174). De acordo com a Tabela 10, foi possível observar por EC_{50} que as amostras não digeridas apresentaram maior atividade antioxidante ($p < 0,05$), principalmente as bebidas puras ($EC_{50} = 0,60$) e as bebidas com açúcar. A menor AA estava presente nas bebidas com leite ($EC_{50} = 4,9$) na fase intestinal. Os valores de EC_{50} expressam a quantidade de antioxidante necessário para diminuir a concentração de radicais livres em 50%. Portanto, quanto menor o valor de EC_{50} , maior será a atividade antioxidante de um composto (174, 176). Os resultados encontrados pelo ensaio DPPH foi diferente dos resultados obtidos pelo ensaio de ORAC e ABTS. Isto pode estar relacionado ao tipo de ensaio e a concentração do solvente pode ter influência semelhante na reatividade de um determinado antioxidante, seja puro ou como parte da matriz complexa (175). KOMES (168), encontrou o mesmo resultado para bebidas de café com adição de leite que diminuíram a AA, quando adicionou-se 25 %, 50 % e 75 % de leite na bebida de café. Deste modo, a bebida com maior teor de leite (75 %) forneceu a menor capacidade antioxidante tanto para o ensaio com DPPH quanto para o ABTS. Já SHARMA (177) observou a AA pelo ensaio de DPPH nas amostras de chá preto, chá preto com açúcar e

chá preto com leite e açúcar e chá preto com leite. O chá preto apresentou a maior atividade antioxidante seguida de chá preto com açúcar e a menor AA no chá preto com açúcar e leite e chá preto e leite. Por outro lado, o ensaio de AA por β -caroteno mostrou efeito inverso: a adição de leite e/ou açúcar aumenta e estabiliza a atividade antioxidante no chá. Segundo SERAFINI (178) a atividade antioxidante das bebidas de chá puro ou com leite não foi modificado quando avaliado *in vitro*, porém quando avaliado *in vivo* observou-se que a AA plasmática aumentou quando consumido o chá com leite, pelo fato da interação da proteína do leite com os polifenóis do chá na parte superior do sistema gastrointestinal. Assim, é necessário a realização de diversos tipos de ensaios para caracterizar a amostra como antioxidante ou não, afim de ressaltar os seus efeitos fisiologicamente ativos na saúde humana.

8.3. FENÓLICOS TOTAIS

Após a digestão *in vitro* houve uma redução do teor de fenólicos totais, sendo 61,21 % nas bebidas puras, 69,15 % nas bebidas de café com açúcar, 46,54 % das bebidas de café leite com açúcar e 59,21 % das bebidas de café com leite. A adição de leite com açúcar nas bebidas de café em cápsulas aumentou 108,38 % dos fenólicos totais no geral. O teor de fenólicos totais variou estatisticamente em todas as amostras ($p < 0,05$). A amostra não digerida que obteve maior teor de fenólicos totais foi EI(LA) com 532,04 mg equivalente 5-CQA / dose e a menor foi EI(A) com 225,32 mg equivalente 5-CQA / dose. Na fase oral a maior foi a amostra EI(A) com 483,81 mg equivalente 5-CQA / dose a menor ED(L) com 160,66 mg equivalente 5-CQA /dose. Na fase gástrica o maior teor foi na amostra EI(A) com 287,18 mg equivalente 5-CQA / dose e o menor ED(LA) com 161,22 mg equivalente 5-CQA / dose. Já na fase intestinal, o maior teor de fenólicos totais

foi na amostra EI(L) com 351,11 mg equivalente 5-CQA / dose e o menor ED(LA) com 129,40 mg equivalente 5-CQA / dose, como descrito na Tabela 13.

Tabela 11. Teor de fenólicos totais nas bebidas de café puras e com ingredientes adicionados antes e após digestão *in vitro*.

Fenólico total				
mg equivalente 5-CQA / dose				
Cápsula	Não digerida	Fase oral	Fase gástrica	Fase intestinal
EI(P)	369,61 ± 3,8 ^{gh}	410,85 ± 13,6 ^f	240,89 ± 2,4 ^{gh}	184,63 ± 5,6 ^g
EI(A)	225,32 ± 27,8 ^d	483,81 ± 6,3 ^g	287,18 ± 2,4 ^j	212,69 ± 5,6 ^h
EI(LA)	532,04 ± 9,2 ⁱ	483,11 ± 6,4 ^g	254,92 ± 2,4 ^{hi}	270,68 ± 8,5 ^j
EI(L)	397,38 ± 45,5 ^{gh}	394,72 ± 13,5 ^{ef}	282,98 ± 8,3 ^j	351,11 ± 3,2 ^k
EP(P)	366 ± 3,5 ^{fg}	308,02 ± 10,6 ^d	260,19 ± 2,7 ⁱ	250,84 ± 5,1 ⁱ
EP(A)	339,78 ± 2,6 ^{ef}	381,19 ± 5,3 ^e	252,43 ± 3,3 ^{hi}	206,49 ± 5,1 ^h
EP(LA)	368,08 ± 15,4 ^{fg}	388,95 ± 11,6 ^e	232,47 ± 3,3 ^g	169,54 ± 2,5 ^{ef}
EP(L)	439,28 ± 19,6 ^h	415,56 ± 7,2 ^f	210,3 ± 12,5 ^f	157,72 ± 2,5 ^{de}
ED(P)	270,81 ± 2,7 ^{cd}	173,89 ± 3,7 ^c	195,62 ± 2,2 ^f	180,56 ± 1,5 ^{fg}
ED(A)	260,03 ± 9,5 ^{cd}	177,86 ± 1,5 ^c	179,08 ± 2,2 ^e	151,45 ± 6,1 ^d
ED(LA)	323,73 ± 5,5 ^{ef}	166,94 ± 2,0 ^c	161,22 ± 6,0 ^d	129,4 ± 0,0 ^c
ED(L)	306,65 ± 4,6 ^{de}	160,66 ± 0,9 ^c	173,79 ± 2,4 ^{de}	168,21 ± 1,5 ^e
(L)	57,7 ± 0,7 ^b	32,32 ± 0,5 ^b	8,4 ± 1,1 ^b	30,61 ± 1,5 ^b
(A)	35,3 ± 14,8 ^{ab}	2,22 ± 0,5 ^a	2,45 ± 1,1 ^{ab}	-4,67 ± 1,5 ^a
(LA)	13,4 ± 3,2 ^a	30 ± 0,5 ^b	26,93 ± 1,1 ^c	1,5 ± 1,5 ^a
(EZ)	-	-3,08 ± 0,0 ^a	-8,14 ± 0,0 ^a	-3,79 ± 1,5 ^a

*(L) = leite, (A) = açúcar, (P) = puro, (EI) = expresso intenso, (EP) = expresso pura origem, (ED) = expresso descafeinado, (EZ) = enzima (-) = não avaliado. 5-CQA = equivalente de ácido clorogênico. Os resultados são expressos em sexplicata com média e $\pm$ desvio padrão. As diferentes letras na coluna (a,b,c,d,e,f, g, h, i, j, k) representam diferenças estatísticas, a nível de significância de 5 % $*p < 0,05$ (ANOVA seguido de teste Tukey).

Os resultados obtidos foram similares aos descritos na literatura. Segundo OTEMUYIWA *et al.* (160), o leite aumentou a disponibilidade de compostos fenólicos em todas as amostras (chá e cacau), com exceção do café. O resultado mostrou um

aumento consistente na disponibilidade fenólica à medida que a quantidade de leite aumenta quando comparada à infusão sem leite. A adição de 8 e 12 mg/dose de açúcar aumentou a disponibilidade dos fenólicos totais, porém 4 mg/dose de açúcar diminuiu o teor de fenólicos totais. NISETEO *et al.* (71), encontraram resultados similares em café expresso, instantâneo e cappuccino quando adicionado leite; as bebidas de cappuccino com leite obtiveram maior teor de fenólicos totais quando comparadas com as outras bebidas. No estudo de KOMES *et al.* (168), diferentes concentrações de leite (25, 50 e 75 %) puderam influenciar no teor de fenólicos totais; as bebidas de café com 25 % aumentou o teor de FT e a bebida com 75 % de café diminuiu o teor de fenólicos totais. Apesar do método de *Folin-Ciocalteu* ser bastante utilizado para avaliar a concentração de fenólicos totais, o mesmo não reage apenas com fenóis, mas também com outros compostos redutores como carotenoides, aminoácidos, açúcares e vitamina C, podendo subestimar o teor de fenólicos totais encontrados.

Os resultados do presente estudo sugerem a hipótese de que os polifenóis interagem com as proteínas por meio de interação hidrofóbicas e /ou hidrofílicas, levando à formação de complexos solúveis ou insolúveis, que afetam a biodisponibilidade de ambos, e que o leite pode ser usado como antioxidante natural no aumento das propriedades antioxidantes dos alimentos funcionais e na prevenção da reação de oxidação no processamento de alimentos. O leite poderia ter interagido com os fenólicos devido à interação fenólico-proteína; há também a possibilidade de interação proteína-proteína, especialmente quando a quantidade de leite é aumentada, e o comprimento de colisão das moléculas de proteína é diminuído (196). Também se sabe que o lipídio aumenta a absorção fenólica; a presença de lipídios no leite poderia ajudar no transporte dos compostos fenólicos (apolares) até as micelas, e ajudar na estabilização e solubilização (160). A disponibilidade dos fenólicos totais podem ter interferência da

matriz alimentar, uma vez que os fenólicos podem se ligar covalentemente à açúcares por O-glicosídicos ou menos comumente por ligações C-glicosídicas que formam agregados de complexos poliméricos de glicosídeos (195). A redução da captação fenólica pelo açúcar é um desafio, embora vários estudos tenham investigado o efeito da liberação de polifenóis à base de açúcar de alimentos ricos em carboidratos e, portanto, poucos estudos examinaram o impacto do açúcar ou de ingredientes ricos em açúcar na disponibilidade de fenólicos em bebidas.

Em vista disso, a adição de leite na bebida de café em cápsula preserva o teor de fenólicos totais do café após a digestão, deixando os fenólicos bioacessíveis para serem disponíveis no enterócito e no colón, promovendo efeitos fisiologicamente ativos que podem reduzir os riscos de desenvolvimento de doenças crônicas, que é um dos principais problemas de saúde pública do mundo.

8.3.1 PERFIL DE FENÓLICOS

O café é uma fonte rica de ácidos clorogênicos, um grupo de compostos que contém hidroxicinamas, como ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido *p*-cumárico, ligados ao ácido quínico para formar uma variedade de estruturas conjugadas conhecidas como ácidos cafeoilquínicos (CQA), ácidos feruloilquínicos (FQA) e ácidos *p*-coumaroilquínicos (*p*-CoQA) (102).

Com base no espectro de absorção UV, foram identificados cinco compostos nas amostras não digeridas e digeridas das bebidas puras e com adição de leite e/ou açúcar, de acordo com os cromatogramas (Figura 18 A e B), sendo a) cafeína e b) quatro compostos fenólicos na sua forma livre (ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico e ácido ferúlico) caracterizados como ácidos hidroxicinâmicos.

Figura 18. Cromatogramas CLAE-DAD ($\lambda = 272$ nm e 324 nm) nas bebidas de café não digeridas e digeridas puras e com adição de ingrediente (leite e/ou açúcar).

* Os compostos fenólicos apresentados no cromatograma A e B, foram encontrados tanto nas amostras puras quanto as amostras com adição de (leite e/ou açúcar) nas fases não digeridas e digeridas. As bebidas descafeinadas puras e com adição de leite e/ou açúcar não obtiveram pico no cromatograma (A). A) pico 1: cafeína. B) pico 2: ácido clorogênico, 3: ácido cafeico, 4: ácido *p*-cumárico e 5: ácido ferúlico. Os picos não numerados não foram identificados.

A identificação desses compostos fenólicos no DAD é apresentada na Tabela 11. Não foi possível a confirmação destes compostos utilizando espectrofotômetro de massas, porém a confirmação dos mesmos foi realizada utilizando os padrões de cafeína e dos ácidos hidroxicinâmicos separadamente (ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico e ácido ferúlico), para identificação do pico de acordo o tempo de retenção. Após esta identificação, foi realizado um mix de padrões para contaminar as amostras que já haviam sido injetadas no CLAE-DAD, e o aumento do pico no cromatograma confirmava o composto encontrado nas amostras. Também foi utilizado embasamento da literatura para a autenticação dos resultados.

Tabela 12. Identificação dos compostos fenólicos e cafeína nas bebidas de café pura e com leite e/ou açúcar nas diferentes fases (não digerida e digerida).

Pico	Tempo de retenção (min) DAD	Compostos
1	5,9	Cafeína
2	3,26	Ácido clorogênico
3	3,48	Ácido cafeico
4	6,48	Ácido p-cumárico
5	6,75	Ácido ferúlico

Os compostos encontrados no presente estudo foram similares aos da literatura. NAVEEN *et al.* (179) identificaram cafeína no detector de UV a 272 nm utilizando CLAE coluna C18 no grão de café arábica. RAMIREZ *et al.* (180) identificaram no detector de UV, cafeína e ácidos hidroxicinâmicos em polpas de café fresco (café arábica), e ROSTAGNO *et al.* (181) identificaram a 270 nm a cafeína e a 320 nm o ácido clorogênico, o ácido cafeico e o ácido *p*-cumárico na suas formas livres em café instantâneo. O estudo de TAGLIAZUCCHI *et al.* (182), usando cromatografia líquida de alta performance por ionização por electrospray em espectrometria de massa HPLC-ESI-MS/MS, identificaram os ácidos hidroxicinâmicos na sua forma ligada, sendo 5-CQA, 3-CQA, 4-CQA, 3-FQA, 4-FQA, 5-FQA, 3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4,5-diCQA e 5-CoQA na bebidas de café puro e café com leite com diferentes concentrações e diferentes tipos (integral e semidesnatado) antes e após digestão gastrointestinal *in vitro*. O café contém muitos isômeros que depende se o hidroxicinamato está ligado à posição 3-, 4- ou 5-O da porção ácido quínico. Existem também os ácidos di-cafeoilquínicos (di-CQA) e lactonas de ácido cafeoilquínico (CQAL). O principal ácido clorogênico no café é o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-O-CQA) (102). As bebidas de café expresso em cápsulas tanto pura quanto com adição de ingrediente apresentaram positivamente o perfil dos compostos fenólicos e cafeína, sendo que alguns compostos não foram identificados por falta de padrões, sendo necessário a investigação destes compostos por meio de espectrometria de massas. Desta forma a substituição da bebida de café solúvel e/ou expresso para bebida de café em cápsula pode ser feita sem problemas, pois as cápsulas podem também fazer

parte da dieta habitual para contribuir com o consumo de diário de polifenóis, sendo o café o principal alimento contribuinte de 33% ácidos fenólicos (hidroxicinâmicos) da dieta da população (100).

8.3.2 Bioacessibilidade das bebidas de café em cápsula puras e adicionadas com leite e/ou açúcar

Para entender completamente as implicações dos ácidos fenólicos da dieta na saúde humana, é essencial determinar sua biodisponibilidade em humanos em particular, devido ao fato de que os ácidos fenólicos raramente estão presentes em alimentos em formas livres. O conhecimento sobre a absorção de ácidos fenólicos nas suas formas conjugadas em humanos é essencial para avaliar possíveis efeitos *in vivo* (183). Os polifenóis interagem com a matriz alimentar, são fortemente ligados a carboidratos, proteínas, lipídeos, ácidos orgânicos ou entre si. As interações entre polifenóis e moléculas dos alimentos foram baseadas principalmente em diferentes interações hidrofóbicas não covalentes e as ligações de hidrogênio (184).

Sendo assim, o presente estudo avaliou os teores de cafeína, ácidos fenólicos e compostos fenólicos totais nas bebidas de café puras e adicionadas (leite e/ou açúcar) não digeridas e digeridas respectivamente em cada fase (oral, gástrica e intestinal). Os resultados estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 13. Teor de cafeína e compostos fenólicos presentes nas bebidas de café pura e com adição de leite e/ou açúcar) antes e após digestão *in vitro*.

Cafeína mg/dose					ACG mg/dose				Ác cafeico mg/dose				Ác <i>p</i> -Cumárico mg/dose				Ác Ferúlico mg/dose			
Cápsula	FND	FO	FG	FI	FND	FO	FG	FI	FND	FO	FG	FI	FND	FO	FG	FI	FND	FO	FG	FI
EI(P)	130±0,0 ^d	120±1,0 ^d	75±0,5 ^d	64±0,3 ^e	3,3±0,9 ^b	2,5±1,2 ^{ab}	1,1±2,3 ^{ab}	Nd	9,8±0,2 ^a	9,1±0,3 ^b	5,1±0,2 ^a	4,7±0,2 ^b	2,1±0,5 ^a	2,1±0,0 ^{cd}	2±1,5 ^c	Nd	2,5±1,2 ^b	2,2±0,2 ^e	2±0,1 ^e	Nd
EI(A)	103±0,0 ^c	88±0,9 ^b	86±1,2 ^e	71±0,6 ^f	2,2±1,3 ^a	1,8±0,8 ^a	1,7±0,6 ^b	1,5±0,0 ^{ab}	9,6±1,5 ^a	7,2±1,5 ^a	5,7±1,5 ^{ab}	5,0±1,1 ^b	2,6±0,5 ^{bc}	2,4±0,1 ^e	2±3,2 ^c	Nd	2,7±0,9 ^c	2,2±0,1 ^e	2±0,1 ^d	Nd
EI(LA)	237±0,9 ^g	210±0,6 ^g	115±0,6 ^g	115±0,9 ^h	42,3±2,5 ^h	26,1±0,9 ^g	2,9±0,8 ^{cd}	2,0±0,5 ^c	120±2,5 ^g	17±0,6 ^d	7,2±2,3 ^b	6,8±0,0 ^c	9,2±0,2 ^f	7,7±0,8 ⁱ	3±1,5 ^f	Nd	8,4±1,2 ^j	7,7±0,8 ^h	Nd	Nd
EI(L)	163±05 ^f	155±1,0 ^f	100±2,1 ^f	89±1,2 ^g	4,7±0,6 ^c	2,2±1,0 ^{ab}	1,6±0,9 ^b	Nd	15±1,3 ^b	12±1,2 ^c	11,8±2,6 ^{de}	10,1±1,5 ^d	2,4±0,8 ^b	1,5±0,9 ^a	Nd	Nd	3,6±0,9 ^d	1,7±0,9 ^c	Nd	Nd
EP(P)	82±0,6 ^a	82±0,5 ^a	41±0,5 ^a	33±1,3 ^b	6,9±0,7 ^d	6,3±0,9 ^d	0,9±0,2 ^a	Nd	20±1,1 ^c	23±0,9 ^f	10,2±0,3 ^c	9,7±2,2 ^d	2,8±1,5 ^c	2,7±0,1 ^{fg}	2±0,5 ^c	Nd	2,6±1,2 ^{bc}	2,0±0,6 ^d	1±0,9 ^c	Nd
EP(A)	88±0,3 ^b	88±0,8 ^b	48±0,9 ^b	37±0,5 ^c	48,2±0,9 ^j	5,8±1,5 ^d	2,5±0,1 ^c	2,4±0,9 ^d	186±2,6 ^h	26±1,1 ^g	12,1±1,6 ^e	10,2±1,5 ^d	10,8±1,9 ^g	1,9±0,8 ^{bc}	Nd	Nd	5,8±0,9 ^g	1,6±0,8 ^c	Nd	Nd
EP(LA)	163±1,0 ^f	140±1,2 ^e	61±0,4 ^c	48±1,0 ^d	68,8±1,6 ^k	10,2±1,6 ^f	3,6±0,0 ^{de}	1,7±0,8 ^{bc}	263±2,8 ^k	34±1,6 ^j	17,6±0,5 ^g	15±0,6 ^f	21,5±2,3 ^j	3,3±1,9 ^h	3±0,9 ^e	Nd	25,2±0,3 ^k	3,0±1,1 ^g	Nd	Nd
EP(L)	147±1,0 ^e	98±0,0 ^c	77±0,7 ^d	19±0,6 ^a	6,9±0,8 ^d	4,7±0,2 ^c	4,2±0,1 ^e	Nd	25±0,3 ^d	23±0,9 ^f	22,4±1,2 ^h	15±0,6 ^f	2,8±0,3 ^c	2,8±0,9 ^g	2±0,8 ^d	Nd	2,3±0,9 ^a	2,2±0,1 ^e	Nd	Nd
ED(P)	Nd	Nd	Nd	Nd	14,2±1,2 ^f	3,1±0,6 ^b	0,8±0,3 ^a	Nd	96±1,6 ^f	17±1,3 ^d	10,5±2,3 ^{cd}	3,1±2,5 ^a	8,8±2,5 ^e	1,7±0,6 ^{ab}	1±0,7 ^b	Nd	8,2±1,6 ⁱ	1,2±0,8 ^b	1±0,7 ^b	Nd
ED(A)	Nd	Nd	Nd	Nd	39,8±0,9 ^g	6,5±1,0 ^d	3,1±1,2 ^{cd}	1,3±0,2 ^a	210±2,5 ⁱ	22±0,3 ^e	14±2,8 ^f	10±1,5 ^d	14,5±1,2 ⁱ	2,5±0,9 ^{ef}	1±0,4 ^a	Nd	5,2±0,2 ^f	2,5±0,9 ^f	1±0,9 ^a	Nd
ED(LA)	Nd	Nd	Nd	Nd	42,8±1,2 ⁱ	8,3±2,3 ^e	5,1±2,5 ^f	1,5±0,0 ^{ab}	224±3,2 ^j	31±0,5 ⁱ	17±1,1 ^g	12±0,5 ^e	11,4±0,6 ^b	2,8±0,6 ^g	2±0,9 ^d	Nd	6,1±0,5 ^h	2,3±0,8 ^e	Nd	Nd
ED(L)	Nd	Nd	Nd	Nd	7,4±0,3 ^e	4,5±1,3 ^c	0,8±0,0 ^a	Nd	47±0,9 ^e	29±1,5 ^h	24±1,2 ⁱ	22±2,1 ^g	4,2±0,1 ^d	2,1±0,7 ^d	1±1,2 ^{bc}	Nd	3,2±1,6 ^e	0,8±2,8 ^a	Nd	Nd
(L)	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
(A)	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
(LA)	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
(EZ)	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd

*Fase não digerida =(FND), fase oral = (FO), fase gástrica = (FG), fase intestinal = (FI). (L) = leite, (A) = açúcar, (P) = puro, (EI) = expresso intenso, (EP) = expresso pura origem, (ED) = expresso descafeinado, (EZ) = enzima, (Nd) = não detectado. Os resultados são expressos em triplicatas (n=3) com média e ± desvio padrão. As diferentes letras na coluna (a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k) representam diferença estatística, a nível de significância de 5 %. * *p* < 0,05 (ANOVA seguido de teste Tukey).

A digestão *in vitro* foi potencialmente capaz de liberar os compostos fenólicos e a cafeína das bebidas de café em cápsula puro e quando adicionado leite e/ou açúcar, com diferença estatística para todas as amostras ($p < 0,05$) (Tabela 12). Observou-se que após a fase intestinal da digestão *in vitro* com as enzimas pancreatina e sais biliares, o teor de cafeína aumentou em 67,09 % nas bebidas de café com adição de leite e açúcar, 11,24 % nas bebidas de café com açúcar e 09,32 % nas bebidas de café com leite em relação à bebida pura, com diferença estatisticamente significativa. Não foi detectada presença de cafeína nas amostras descafeinadas, resultado esperado pelo fato do processo de descafeinização que ocorre no grão para preparação da bebida descafeinada. Já para as bebidas de café cafeinadas, a cafeína foi melhor bioacessível na bebida de café com leite e açúcar. O resultado do presente estudo pode ser explicado pela seguinte hipótese: houve interação proteína-cafeína, proteína-açúcar e açúcar-cafeína, na qual ocorreu uma força intermolecular entre as substâncias apolares (cafeína, açúcar e leite) e polar (leite). O átomo com maior eletronegatividade, puxou o par de elétrons para si, resultando em uma ligação covalente polar e ao mesmo tempo ocorreu uma ligação covalente apolar entre os átomos com valores de eletronegatividade próximos. Devido à movimentação dos elétrons, estes podem gerar um pequeno dipolo temporário que podem induzir dipolos opostos em moléculas vizinhas conhecidos como força de Van der Waals (ou London). Tais dipolos temporários alteram-se constantemente, mas o resultado de sua existência é produzir a força atrativa entre moléculas apolares. Sendo assim, a cafeína por ser uma substância apolar poderia ter sofrido uma “potencialização” ficando mais bioacessível quando adicionado leite com açúcar na bebida de café em cápsula, aumentando sua biodisponibilidade para ser usada fisiologicamente.

O resultado encontrado foi oposto ao de TAGLIAZUCCHI *et al.* (185), os quais avaliaram bebidas de café puro e café com leite, e observaram que a bioacessibilidade da cafeína diminuiu nas bebidas de café com leite. Os mesmos autores sugeriram a existência das interações proteína-cafeína, provavelmente ligações não covalentes mais fracas, do ponto de vista nutricional entre moléculas hidrofóbicas e hidrofílicas.

Quando avaliada a bioacessibilidade dos compostos fenólicos, observou-se que na fase intestinal o ácido clorogênico foi bioacessível apenas para as amostras com adição de leite e açúcar 99,3 %. As amostras puras e com adição de leite não apresentaram a presença de ácido clorogênico na fase intestinal da digestão *in vitro*. Por outro lado, observou-se a presença dos ACGs na fase gástrica da digestão *in vitro*. O presente resultado pode ser explicado pela hipótese de que o ácido clorogênico poderia interagir com a enzima pepsina na fase gástrica facilitando sua quebra na forma livre, chegando na fase intestinal na sua forma conjugada (170); outra hipótese seria que houve interação proteína-ACG-açúcar havendo uma força intermolecular na qual ocorreu uma interação hidrofóbica e hidrofílica aumentando a bioacessibilidade do ACG após a adição de 33,33 % de leite na bebida de café, podendo levar ao aumento da disponibilidade ACGs no enterócitos contribuindo com efeitos fisiológicos a saúde humana.

Já pensando no sistema fisiológico, o presente resultado poderia ser explicado pela seguinte hipótese: o ácido clorogênico tem sua maior absorção no estômago, onde uma pequena parcela é absorvida intacta (130, 131) e os compostos não absorvidos no estômago seguem para o intestino delgado. Os resultados são similares aos de LAFAY *et al.* (131), que suplementaram ratos com ácido clorogênico e observaram que a hidrólise menor de ácido clorogênico (1 %) ocorreu no conteúdo do estômago e do intestino delgado, enquanto 15 a 32 % do ácido clorogênico ingerido foi hidrolisado em ácido cafeico no ceco, sendo o ácido cafeico um metabolito do ácido clorogênico (186). DE

OLIVEIRA *et al.* (137) mostraram que o mecanismo de absorção dos ácidos hidroxycinâmicos na sua forma livre e conjugada começam no estômago e lá sofrem metabolização por esterases e enzimas de fase I e II (COMT, sulfotransferases e UDP-glucosiltransferases), e depois passam para o intestino delgado e pela ação da microbiota no cólon. Foi possível observar neste estudo a presença do ácido clorogênico e dos diversos ácidos fenólicos, tanto livres como conjugados, no plasma, urina, tecido gástrico e fígado de ratos suplementados com chá. Em relação a adição de leite, o resultado obtido no presente estudo foi oposto ao de TAGLIAZUCCHI *et al.* (182), no qual observaram que a adição de leite no café causou uma diminuição imediata na bioacessibilidade da cafeína, ácidos clorogênico e seus metabolitos devido à ligação de CGAs a proteínas. DUARTE *et al.* (2011) mostraram que o consumo simultâneo de leite e café podem prejudicar a biodisponibilidade de CGA em humanos (187). Este efeito inibitório pode estar relacionado à ligação de polifenóis às caseínas do leite por meio de interações covalentes e não covalentes. Essas interações podem ser multissítio (muitos polifenóis ligados à uma proteína) ou interações multidentadas (um polifenol ligado em vários locais de uma ou várias proteínas) (177). Ambos os tipos levam à precipitação de proteínas e, portanto, restringem a interação através da difusão entre os polifenóis ligados e os oxidantes livres em solução (71). O ácido clorogênico também pode interagir com os peptídeos obtidos da digestão, sendo que 17 % do CQA parece permanecer ligado as proteínas do leite no final do processo de digestão *in vitro* (188). Os parâmetros definidos que podem afetar interações proteína-fenólicos são basicamente temperatura, pH, tipo e concentração de proteínas, e tipo e estrutura dos compostos fenólicos, segundo TUGBA OZDAL (189).

O presente estudo também observou que o ácido cafeico foi mais bioacessível nas bebidas de café com leite (169 %), leite e açúcar (93 %) e as bebidas de café com açúcar

(44 %), comparadas com a bebida pura. Observou-se que não houve a presença do ácido *p*-cumárico e o ácido ferúlico na sua forma livre na fase intestinal de todas as amostras (pura e com adição leite e/ou açúcar). Por outro lado, esses compostos foram observados em outras fases da digestão *in vitro*. O maior teor de ácido *p*-cumárico foi encontrado nas bebidas de café com leite e açúcar (160 %) e o menor foi na bebida com açúcar (60 %) na fase gástrica. O maior teor de ácido ferúlico foram encontrados nas amostras leite com açúcar (140 %) na fase oral. As outras fases obtiveram menores teores e/ou não foram detectados nas amostras. De acordo com LAFAY e GIL-IZQUIERDO (127), a ingestão dos ácidos hidroxicinâmicos na sua forma livre representa de 5 a 24 % do total de metabólitos, sendo rapidamente absorvida no estômago e no intestino delgado. Os resultados foram similares aos do estudo de NARDINI *et al.* (183), que mostraram que o ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico), uma forma ligada de ácido cafeico, estava presente no café puro em níveis elevados, enquanto que os ácidos fenólicos livres eram indetectáveis. Após a hidrólise alcalina, que liberou ácidos fenólicos ligados, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico e altos níveis de ácido cafeico foram detectados. DUPAS *et al.* (188), encontraram resultados similares para café com leite após fazer uma hidrólise alcalina, e observaram a presença de ácido cafeico, ácido ferúlico, e *p*-cumárico na sua forma livre e esterificadas. Para NISETEO *et al.* (71) os resultados foram opostos, pois houve uma diminuição na bioacessibilidade dos ácidos hidroxicinâmicos no café quando adicionado leite. A investigação sobre o efeito da matriz alimentar na biodisponibilidade de compostos fenólicos do café é limitada. Alguns relatos investigaram o efeito potencial das proteínas, especialmente do leite, sobre a capacidade biológica dos fenólicos do café (190). Segundo DUPA *et al.* (188), a α -lactoglobulina e os CQA e seu metabólitos parecem interagir durante o processo de digestão, podendo modificar levemente a absorção dos ácidos fenólicos do café no organismo, diminuindo o seu teor, porém não

desaparecendo. A β -caseína interage fortemente mais com os polifenóis do que a α -caseína, devido à natureza mais hidrofóbica da β -caseína. A interação polifenol-caseína é mais hidrofóbica que hidrofílica podendo ser um fator importante no efeito do leite sobre a atividade antioxidante dos polifenóis (191). Um dos principais fatores que afetam o grau de interação dos ácidos fenólicos com as proteínas é a quantidade de aminoácidos que reagem facilmente com os ácidos fenólicos. Tais aminoácidos incluem lisina, triptofano, metionina e cisteína (que reagem principalmente por interações covalentes), bem como fenilalanina, arginina e histidina, que reagem hidrofobicamente ou por ligação de hidrogênio (192, 193). O pH (alto ou baixo), a temperatura e as enzimas digestivas (194) a quantidade de leite (177) também interferem na bioacessibilidade dos polifenóis. A interação direta da matriz alimentar (proteínas e polissacarídeos) entre os compostos fenólicos podem ocorrer e, conseqüentemente, interferir na absorção. A quantidade de compostos fenólicos presentes no café não reflete necessariamente a quantidade absorvida e metabolizada pelo organismo. Mesmo o café sendo alvo de muitos estudos avaliando a bioacessibilidade e a biodisponibilidade da cafeína e do ácido clorogênico e seus metabolitos, ainda não existe um consenso sobre a biodisponibilidade relativa dos ácidos clorogênicos e seus metabolitos correlacionados com a interação de compostos alimentares (macronutrientes e micronutrientes).

8.4 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os antioxidantes são substâncias que, quando presentes nos alimentos ou no corpo em concentrações muito altas, atrasam, controlam ou previnem processos oxidativos que levam à deterioração da qualidade dos alimentos ou à iniciação e propagação de doenças degenerativas no organismo (167). A oxidação lipídica recebeu atenção renovada com evidências crescentes mostrando que a peroxidação lipídica é um dos eventos primários

importantes no dano oxidativo mediado por radicais livres de membranas e tecidos biológicos.

Para determinar se a bebida de café expresso em cápsulas pura e com ingrediente adicionado é capaz de reduzir o estresse oxidativo, foi analisada a peroxidação lipídica determinada pela formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) e produzem os compostos denominados malonaldeído ou malondialdeído (MDA) (Tabela 14)

Tabela 14. Inibição da peroxidação lipídica pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Cápsula	TBARS nmol MDA/dose			
	Não digerido	Fase oral	Fase gástrica	Fase intestinal
EI(P)	9,10 ± 1,58 ^a	24,77 ± 1,36 ^f	98,52 ± 1,58 ^d	184,98 ± 7,98 ^h
EI(A)	9,23 ± 3,09 ^a	14,88 ± 1,30 ^c	112,67 ± 7,69 ^d	113,97 ± 1,17 ^{fg}
EI(LA)	10,39 ± 7,76 ^a	34,12 ± 1,48 ^h	438,30 ± 1,38 ^h	118,28 ± 1,52 ^g
EI(L)	13,65 ± 1,58 ^a	23,33 ± 2,50 ^f	172,72 ± 6,78 ^f	262,78 ± 1,43 ^k
EP(P)	8,75 ± 1,24 ^a	12,02 ± 2,56 ^b	144,43 ± 5,01 ^e	221,38 ± 0,24 ⁱ
EP(A)	8,40 ± 3,22 ^a	16,02 ± 2,54 ^{cd}	225,56 ± 1,87 ^g	93,54 ± 6,95 ^e
EP(LA)	11,37 ± 8,43 ^a	18,57 ± 2,15 ^e	78,69 ± 1,76 ^c	180,35 ± 2,96 ^h
EP(L)	12,54 ± 3,76 ^a	18,04 ± 2,56 ^{de}	75,50 ± 3,82 ^c	52,06 ± 4,73 ^c
ED(P)	9,44 ± 2,56 ^a	8,76 ± 5,23 ^a	43,06 ± 7,98 ^b	30,66 ± 0,51 ^{ab}
ED(A)	11,22 ± 4,77 ^a	8,39 ± 2,89 ^a	50,90 ± 1,57 ^b	20,08 ± 0,78 ^a
ED(LA)	12,02 ± 3,57 ^a	11,64 ± 3,13 ^b	108,62 ± 6,37 ^d	30,66 ± 3,51 ^{ab}
ED(L)	11,63 ± 3,86 ^a	11,64 ± 2,36 ^b	21,53 ± 1,28 ^a	73,82 ± 6,71 ^d
(L)	69,49 ± 3,76 ^b	24,11 ± 7,29 ^f	103,85 ± 1,28 ^d	100,16 ± 7,50 ^{ef}
(A)	70,07 ± 7,50 ^b	19,78 ± 4,47 ^e	56,20 ± 0,65 ^b	47,86 ± 4,28 ^{bc}
(LA)	90,20 ± 6,95 ^b	29,75 ± 6,22 ^g	110,84 ± 7,24 ^d	240,64 ± 0,10 ^j
(EZ)	-	19,83 ± 1,67 ^e	54,93 ± 4,82 ^b	41,70 ± 6,52 ^{bc}

* (TBARS) = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (L) = leite, (A) = açúcar, (P) = puro, (EI) = expresso intenso, (EP) = expresso pura origem, (ED) = expresso descafeinado, (EZ) = enzima (-) = não avaliado. Os resultados são expressos (n=3) com média e ± desvio padrão. As diferentes letras na coluna (a,b,c,d,e,f, g, h) representam diferença estatísticas, a nível de significância *p<0,05 (ANOVA seguido de teste Tukey).

As amostras puras e com adição de leite e/ou açúcar na fase não digerida não tiveram diferença estatística significativa ($p > 0,05$), uma vez que elas apresentaram valores menores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), com 127,74 µg MDA/dose inibindo a peroxidação lipídica, atuando como antioxidante no combate ao estresse oxidativo. Os valores da peroxidação lipídica após a digestão *in vitro* mostraram

um aumento significativo ($p < 0,05$) em todas as amostras testadas, sendo que as bebidas de café com leite e açúcar aumentaram a produção de MDA 435,31 % em relação às outras bebidas. Quando comparada à peroxidação lipídica entre as fases da digestão, a amostra ED(A) produziu menor valor (8,39 nmol MDA/dose) na fase oral e maior produção na amostra EI(LA) (34,12 nmol MDA/dose). Já na fase gástrica, a menor produção foi na amostra ED(L) com 21,53 µg MDA/dose e a maior EI(LA) com 438,30 nmol MDA/dose e na fase intestinal a amostra ED(A) com 20,08 nmol MDA/dose obteve a menor formação de MDA, e a amostras EI(P) com 184,98 nmol MDA/dose, a maior produção. Os resultados encontrados foram similares aos de FITRI *et al.* (197), quando avaliaram a peroxidação lipídica de frutas tropicais antes e após a digestão *in vitro*. A produção de MDA foi maior nas frutas após a digestão do que nas não digeridas. Para OZERCAN *et al.* (198), ao avaliarem o efeito antioxidante do café instantâneo em ratos, verificaram que o tratamento com café instantâneo reduziu significativamente os níveis de TBARS no tecido hepático dos animais. Já GORELIK *et al.* (199), mostraram que após a digestão gástrica, a carne vermelha aquecida homogeneizada em fluido gástrico humano, em pH 3,0, gerou hidroperóxidos e malondialdeído, porém quando ingerida com vinho tinto houve uma inibição da peroxidação lipídica.

A importância da oxidação no corpo e nos alimentos tem sido amplamente reconhecida. O metabolismo oxidativo é essencial para a sobrevivência das células. Quando um excesso de radicais livres é formado, eles podem sobrecarregar enzimas protetoras como superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, além de causar efeitos celulares destrutivos e letais (por exemplo, apoptose) oxidando lipídios de membrana (200, 201). A peroxidação lipídica é um dos marcadores do estresse oxidativo, e os complexos lipídico-polifenol podem causar uma diminuição na absorção lipídica, o que pode resultar na redução da oxidação lipídica e, conseqüentemente, na redução da

ocorrência de produtos nocivos à oxidação lipídica (193). O sistema matricial de alimentos pode ter a interferência de outros componentes não lipídicos, como proteínas, sacarose, ureia, piridinas e pirimidinas, entre outros (200). A presença de compostos digestivos é decisiva para o desenvolvimento de TBARS pela interação de proteína-enzima e lipídeo-enzima. A oxidação dos ácidos graxos insaturados leva à sua quebra, com consequente formação, dentre outros compostos, do malonaldeído (MDA), que pode ser determinado pelo método TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico), no qual se faz reagir o MDA com o ácido tiobarbitúrico para formar um pigmento rosado, que apresenta um máximo de absorção a 532-535 nm (167). Portanto, é muito importante entender o mecanismo de reação dos antioxidantes com os radicais livres, pois pode ajudar na avaliação da atividade antioxidante de vários compostos dos alimentos e sua matriz alimentar e suas interações após a digestão com as enzimas, pelo fato dos compostos antioxidantes reagirem em reações de um elétron com radicais livres *in vivo/in vitro* e prevenirem danos oxidativos.

9 LIMITAÇÃO DO ESTUDO

Por ser o primeiro trabalho que avalia a intensidade/torra e a adição de ingredientes (leite e/ou açúcar) à bebida de café expresso em cápsula, comparações com os estudos da literatura existente foram limitadas, principalmente por ter resultados publicados tão opostos aos encontrados neste estudo. Outra limitação foi compreender as notas diferenciadas que podem ser adicionadas no processo de torra do café ou a formação de compostos voláteis, e não saber as proporções exatas dos *blends* das cápsulas que tem diferentes grãos (arábica e robusta) que poderiam terem influenciado nos resultados.

Uma limitação adicional foi a impossibilidade de caracterizar os compostos fenólicos encontrados no café em cápsula por espectrofotômetro de massas, que poderia identificar outros ácidos fenólicos como por exemplo o dicafeoilquinico, o ferulilquinico e o cafeoilquinico, além de isômeros menores que o UPLC-DAD não foi capaz de identificar.

10 CONCLUSÃO

As bebidas de café expresso em cápsulas apresentaram efeito antioxidante ao sequestrar os radicais livres.

A maior intensidade/torra das cápsulas de café influenciaram positivamente na atividade antioxidante e no total de fenólicos.

O perfil dos ácidos fenólicos encontrados nas bebidas de cápsula de café expresso foi ácido clorogênicos, ácido cafeico, ácido *p*-cúmarico e ácido ferúlico.

O conteúdo de ácidos fenólicos e cafeína e a atividade antioxidante das bebidas de café expresso em cápsula aumentam quando ingredientes são adicionados à preparação.

Os compostos são mais bioacessíveis em bebidas de café em cápsulas com adição leite e leite e açúcar, em comparação às bebidas puras (sem adição).

As bebidas não digeridas tiveram uma maior atividade de inibição da peroxidação lipídica, produzindo menor quantidade de TBARS e a digestão estimulou a formação de substâncias reativas ao TBA nas fases gástrica e intestinal.

11 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consumo habitual de bebidas de café expresso em cápsula com intensidade alta e/ou média podem ser um aliado na saúde pública para diminuir o risco do desenvolvimento DCNTs.

Estudos futuros devem levar em conta as interações entre ácidos fenólicos e outros compostos, porque o contato deles é inevitável, principalmente pela miscigenação alimentar, e entender suas complexidades para ser possível explicar os efeitos benéficos dos ácidos fenólicos na saúde pública.

São necessários estudos *in vivo* para demonstrar os possíveis efeitos biológicos para confirmar os achados encontrados *in vitro* no presente estudo.

12 CONFLITO DE INTERESSES

O presente estudo não possui conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. World Health O, World Health Organization. Management of Substance Abuse U. Global status report on alcohol and health, 2014: World Health Organization; 2014.
2. Malta DC, Oliveira TP, Santos MAS, Andrade SSCdA, Silva MMAd. Progress with the Strategic Action Plan for Tackling Chronic Non-Communicable Diseases in Brazil, 2011-2015. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2016;25(2):373-90.
3. Butt MS, Sultan MT. Coffee and its consumption: benefits and risks. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2011;51(4):363-73.
4. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American journal of clinical nutrition*. 2005;81(1):230S-42S.
5. Milner JA. Functional foods and health promotion. *The Journal of nutrition*. 1999;129(7):1395S-7s.
6. Torres T, Farah A. Coffee, maté, açaí and beans are the main contributors to the antioxidant capacity of Brazilian's diet. *European journal of nutrition*. 2016:1-11.
7. de Oliveira Paula RA, Santos ES, Pinto LF, Paula FBA, Rodrigues MR, Salles BCC, et al. Determinação da atividade antioxidante In vitro das bebidas de café e chás verde e preto. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciencies*. 2015;36(2).
8. Higdon JV, Frei B. Coffee and health: a review of recent human research. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2006;46(2):101-23.
9. Hečimović I, Belščak-Cvitanović A, Horžić D, Komes D. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food chemistry*. 2011;129(3):991-1000.
10. Ludwig IA, Clifford MN, Lean MEJ, Ashihara H, Crozier A. Coffee: biochemistry and potential impact on health. *Food & Function*. 2014;5(8):1695-717.
11. Hayakawa S, Oishi Y, Tanabe H, Isemura M, Suzuki Y. Tea, Coffee and Health Benefits. *Bioactive Molecules in Food*. 2018:1-58.
12. Bae J-H, Park J-H, Im S-S, Song D-K. Coffee and health. *Integrative medicine research*. 2014;3(4):189-91.
13. Watanabe T, Arai Y, Mitsui Y, Kusaura T, Okawa W, Kajihara Y, et al. The blood pressure-lowering effect and safety of chlorogenic acid from green coffee bean extract in essential hypertension. *Clinical and experimental hypertension*. 2006;28(5):439-49.
14. Van Dijk AE, Olthof MR, Meeuse JC, Seebus E, Heine RJ, Van Dam RM. Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2009;32(6):1023-5.
15. Olthof MR, van Dijk AE, Deacon CF, Heine RJ, van Dam RM. Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on incretin hormones. *Nutrition & metabolism*. 2011;8(1):10.
16. Cano-Marquina A, Tarín JJ, Cano A. The impact of coffee on health. *Maturitas*. 2013;75(1):7-21.
17. Alperet DJ, Rebello SA, Khoo EY-H, Tay Z, Seah SS-Y, Tai B-C, et al. The Effects of Coffee Consumption on Insulin Sensitivity and Other Risk Factors for Type 2 Diabetes. *Am Heart Assoc*; 2018.
18. Aubin H-J, Berlin I. Re: "Coffee Consumption and Mortality From all Causes, Cardiovascular Disease, and Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis". *American journal of epidemiology*. 2015;181(9):734-5.
19. Schmit SL, Rennert HS, Rennert G, Gruber SB. Coffee consumption and the risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2016;25(4):634-9.

20. Wierzejska R. Coffee Consumption and Cardiovascular Diseases - Has the Time Come to Change Dietary Advice? A Mini Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2016;66(1):5-10.
21. Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American journal of medicine*. 2002;113(9):71-88.
22. Ding M, Bhupathiraju SN, Chen M, van Dam RM, Hu FB. Caffeinated and decaffeinated coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review and a dose-response meta-analysis. *Diabetes care*. 2014;37(2):569-86.
23. Jiang X, Zhang D, Jiang W. Coffee and caffeine intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of prospective studies. *European journal of nutrition*. 2014;53(1):25-38.
24. Whitehead N, White H. Systematic review of randomised controlled trials of the effects of caffeine or caffeinated drinks on blood glucose concentrations and insulin sensitivity in people with diabetes mellitus. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 2013;26(2):111-25.
25. Muley A, Muley P, Shah M. Coffee to reduce risk of type 2 diabetes?: a systematic review. *Current diabetes reviews*. 2012;8(3):162-8.
26. Floegel A, Pischon T, Bergmann MM, Teucher B, Kaaks R, Boeing H. Coffee consumption and risk of chronic disease in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)–Germany study. *Am J Clin Nutr*. 2012;95:901-8.
27. Boggs DA, Rosenberg L, Ruiz-Narvaez EA, Palmer JR. Coffee, tea, and alcohol intake in relation to risk of type 2 diabetes in African American women. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(4):960-6.
28. Huxley R, Lee CMY, Barzi F, Timmermeister L, Czernichow S, Perkovic V, et al. Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis. *Archives of internal medicine*. 2009;169(22):2053-63.
29. Van Dieren S, Uiterwaal CSPM, Van der Schouw YT, van der A DL, Boer JMA, Spijkerman A, et al. Coffee and tea consumption and risk of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2009;52(12):2561-9.
30. Odegaard AO, Pereira MA, Koh WP, Arakawa K, Lee HP, Yu MC. Coffee, tea, and incident type 2 diabetes: the Singapore Chinese Health Study. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(4):979-85.
31. Shaposhnikov S, Hatzold T, El Yamani N, Stavro PM, Lorenzo Y, Dusinska M, et al. Coffee and oxidative stress: a human intervention study. *European journal of nutrition*. 2018;57(2):533-44.
32. Poole R, Kennedy OJ, Roderick P, Fallowfield JA, Hayes PC, Parkes J. Coffee consumption and health: umbrella review of meta-analyses of multiple health outcomes. *bmj*. 2017;359:j5024.
33. Brown OI, Allgar V, Wong KYK. Coffee reduces the risk of death after acute myocardial infarction: a meta-analysis. *Coronary artery disease*. 2016;27(7):566-72.
34. Freedman ND, Park Y, Abnet CC, Hollenbeck AR, Sinha R. Association of coffee drinking with total and cause-specific mortality. *New England Journal of Medicine*. 2012;366(20):1891-904.
35. Lopez-Garcia E, Rodriguez-Artalejo F, Li TY, Mukamal KJ, Hu FB, van Dam RM. Coffee consumption and mortality in women with cardiovascular disease—. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;94(1):218-24.
36. Mesas AE, Leon-Muñoz LM, Rodriguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E. The effect of coffee on blood pressure and cardiovascular disease in hypertensive individuals: a systematic review and meta-analysis—. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;94(4):1113-26.
37. Zhang Z, Hu G, Caballero B, Appel L, Chen L. Habitual coffee consumption and risk of hypertension: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies—. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;93(6):1212-9.

38. Mineharu Y, Koizumi A, Wada Y, Iso H, Watanabe Y, Date C, et al. Coffee, green tea, black tea and oolong tea consumption and risk of mortality from cardiovascular disease in Japanese men and women. *Journal of Epidemiology & Community Health*. 2010;jech-2009.
39. Kempf K, Herder C, Erlund I, Kolb H, Martin S, Carstensen M, et al. Effects of coffee consumption on subclinical inflammation and other risk factors for type 2 diabetes: a clinical trial-. *The American journal of clinical nutrition*. 2010;91(4):950-7.
40. Wu J-n, Ho SC, Zhou C, Ling W-h, Chen W-q, Wang C-l, et al. Coffee consumption and risk of coronary heart diseases: a meta-analysis of 21 prospective cohort studies. *International journal of cardiology*. 2009;137(3):216-25.
41. Li S, Li S-K, Gan R-Y, Song F-L, Kuang L, Li H-B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. *Industrial Crops and Products*. 2013;51:289-98.
42. Gülçin I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*. 2012;86(3):345-91.
43. Ferrari CKB, Torres E. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2003;57(5):251-60.
44. Li Y, Zhang J-J, Xu D-P, Zhou T, Zhou Y, Li S, et al. Bioactivities and health benefits of wild fruits. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(8):1258.
45. Fu L, Xu B-T, Xu X-R, Gan R-Y, Zhang Y, Xia E-Q, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food chemistry*. 2011;129(2):345-50.
46. Frei B. *Natural antioxidants in human health and disease*: Academic Press; 2012.
47. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*. 2010;4(8):118.
48. Contini M, Baccelloni S, Frangipane MT, Merendino N, Massantini R. Increasing espresso coffee brew antioxidant capacity using phenolic extract recovered from hazelnut skin waste. *Journal of Functional Foods*. 2012;4(1):137-46.
49. Mussatto SI, Ballesteros LF, Martins S, Teixeira JA. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*. 2011;83:173-9.
50. Buscemi S, Marventano S, Antoci M, Cagnetti A, Castorina G, Galvano F, et al. Coffee and metabolic impairment: an updated review of epidemiological studies. *NFS Journal*. 2016;3:1-7.
51. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism*. 2000;49(2):3-8.
52. Oroian M, Escriche I. Antioxidants: characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*. 2015;74:10-36.
53. Durak A, Gawlik-Dziki U, Pecio Ł. Coffee with cinnamon–Impact of phytochemicals interactions on antioxidant and anti-inflammatory in vitro activity. *Food chemistry*. 2014;162:81-8.
54. Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MNVR. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*. 2006;113(3):189-207.
55. Cotinguiba GG, do Nascimento Silva JR, de Sá Azevedo RR, Rocha TJM, dos Santos AF. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. *Journal of Health Sciences*. 2015;15(3).
56. McCord JM. Superoxide dismutase: rationale for use in reperfusion injury and inflammation. *Journal of free radicals in biology & medicine*. 1986;2(5-6):307-10.
57. Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*. 2010;48(12):909-30.
58. Nishikimi M, Yagi K. Molecular basis for the deficiency in humans of gulonolactone oxidase, a key enzyme for ascorbic acid biosynthesis. *The American journal of clinical nutrition*. 1991;54(6):1203S-8S.
59. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;79(5):727-47.
60. Prates JAM, Mateus CMR. Componentes com atividade fisiológica dos alimentos de origem animal. *Revista portuguesa de ciências veterinárias*. 2002;97(541):3-12.

61. Dicko MH, Gruppen H, Traoré AS, Voragen AGJ, van Berkel WJH. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. 2006;1(1):20-37.
62. Wang X, William J, Fu Y, Lim L-T. Effects of capsule parameters on coffee extraction in single-serve brewer. *Food Research International*. 2016;89:797-805.
63. Alonso-Salces RM, Serra F, Reniero F, Héberger Kr. Botanical and geographical characterization of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*): chemometric evaluation of phenolic and methylxanthine contents. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2009;57(10):4224-35.
64. EMBRAPA. Produção mundial de café do ano-safra 2016/17 contabiliza 154 milhões de sacas 2017 [Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/26030763/producao-mundial-de-cafe-do-ano-safra-201617-contabiliza-154-milhoes-de-sacas>.
65. IBGE. IBGE prevê safra de grãos 6,8% menor em 2018 2018 [Available from: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2013-agencia-de-noticias/releases/19474-ibge-preve-safra-de-graos-6-8-menor-em-2018.html>.
66. Rubayiza AB, Meurens M. Chemical discrimination of arabica and robusta coffees by Fourier transform Raman spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(12):4654-9.
67. Farah A. 2 Coffee Constituents. *Coffee: Emerging health effects and disease prevention*. 2012;59.
68. Abrahão SA, Pereira R, Duarte SMdS, Lima AR, Alvarenga DJ, Ferreira EB. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*. 2010;34(2):414-20.
69. Saad HH, Elmaadawy AA, Al-Qahiz NM. Medicinal & Aromatic Plants. *diabetes*. 2015;10:11.
70. VIX. Receitas de café 2017 [Available from: <https://www.vix.com/pt/bdm/receitas/receitas-de-cafe-capuccino-mocha-cremoso-e-mais-tipos-conheca>.
71. Niseteo T, Komes D, Belščak-Cvitanović A, Horžić D, Budeč M. Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation technique and milk addition. *Food chemistry*. 2012;134(4):1870-7.
72. Dicas de preparação de café Associação Brasileira da indústria de café: ABIC; 2016 [Available from: <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=39>.
73. Dicas de preparação de café Associação Brasileira da indústria de café: ABIC; 2016 [Available from: <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=39>.
74. ABIC. Dicas de preparação de café Associação Brasileira da indústria de café: ABIC; 2016 [Available from: <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=39>.
75. Labbe D, Sudre J, Dugas V, Folmer B. Impact of crema on expected and actual espresso coffee experience. *Food Research International*. 2016;82:53-8.
76. Carrêlo MVP. A influência da marca Nespresso no comportamento de compra da máquina e cápsulas de café. 2014.
77. Relatório internacional de tendências do café. Bureau de inteligência competitiva do café. 28 de março de 2016:15.
78. Relatório internacional de tendências do café. Bureau de inteligência competitiva do café. 30 de maio de 2016:16.
79. Associação Brasileira da indústria de café: ABIC; 2015 [Available from: <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=59&infoid=4134>.
80. Parenti A, Guerrini L, Masella P, Spinelli S, Calamai L, Spugnoli P. Comparison of espresso coffee brewing techniques. *Journal of Food Engineering*. 2014;121:112-7.
81. Nespresso. Cápsula de alumínio 2017 [Available from: <https://www.nespresso.com/br/pt/our-choices/qualidade-sustentavel/aluminium>.

82. Castellani A. Delivery head for espresso coffee machines. Google Patents; 2008.
83. Inderbitzin M. Capsule for coffee. Google Patents; 2013.
84. Lima AR, Pereira R, Abrahao SA, Duarte SMD, Paula FBD. COFFEE BIOACTIVE COMPOUNDS: IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GREEN AND ROASTED COFFEES BEFORE AND AFTER DECAFFEINATION. *Química Nova*. 2010;33(1):20-4.
85. Farah A, de Paulis T, Trugo LC, Martin PR. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(5):1505-13.
86. Moreira RFA, Trugo LC, De Maria CAB. Componentes voláteis do café torrado. Parte II: compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos. *Química nova*. 2000;23(2):195-203.
87. Normas de classificação do café Cafeicultura2007 [Available from: <http://revistacafeicultura.com.br/?mat=13103>.
88. café A-ABdId. TENDÊNCIAS DE CONSUMO DE CAFÉ: Associação Bras; 2010 [Available from: http://consorciopesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/EST_PESQTendenciasConsumo2009_Abic.pdf.
89. Toci AT, Farah A. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. *Food chemistry*. 2014;153:298-314.
90. Almeida MB, Benassi MT. Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais. *Semina: Ciênc Agrárias*. 2011;32(supl. 1):1893-900.
91. Vignoli JA, Bassoli DG, Benassi MT. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*. 2011;124(3):863-8.
92. Vignoli JA, Bassoli DG, Benassi MdT. Antioxidant activity of roasted and instant coffees: standardization and validation of methodologies. *Coffee Science*. 2012;7(1):68-75.
93. café Cd. Régua da ABIC reproduz os discos da Agtron 2008 [Available from: <http://forum.clubedocafe.net/topic/421-r%C3%A9gua-da-abic-reproduz-os-discos-da-agtron/>.
94. Almeida AAP, Naghetini CC, Santos VR, Antonio AG, Farah A, Gloria MBA. Influence of natural coffee compounds, coffee extracts and increased levels of caffeine on the inhibition of *Streptococcus mutans*. *Food Research International*. 2012;49(1):459-61.
95. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*. 2006;99(1):191-203.
96. Ramalho VC, Jorge N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*. 2006:755-60.
97. Herrmann K, Nagel CW. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Critical reviews in food science & nutrition*. 1989;28(4):315-47.
98. Heleno SA, Martins A, Queiroz MJRP, Ferreira ICFR. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry*. 2015;173:501-13.
99. D Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*. 2007;43(4):348.
100. Tresserra-Rimbau A, Medina-Remón A, Pérez-Jiménez J, Martínez-González MA, Covas MI, Corella D, et al. Dietary intake and major food sources of polyphenols in a Spanish population at high cardiovascular risk: the PREDIMED study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2013;23(10):953-9.
101. 3.6 P-E. Database on polyphenol content in food 2018 [Available from: <http://phenol-explorer.eu/compounds>.
102. Stalmach A, Steiling H, Williamson G, Crozier A. Bioavailability of chlorogenic acids following acute ingestion of coffee by humans with an ileostomy. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2010;501(1):98-105.

103. Mullen W, Nemzer B, Ou B, Stalmach A, Hunter J, Clifford MN, et al. The antioxidant and chlorogenic acid profiles of whole coffee fruits are influenced by the extraction procedures. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2011;59(8):3754-62.
104. Regazzoni L, Saligari F, Marinello C, Rossoni G, Aldini G, Carini M, et al. Coffee silver skin as a source of polyphenols: High resolution mass spectrometric profiling of components and antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*. 2016;20:472-85.
105. Clifford MN. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1999;79(3):362-72.
106. Ashihara H. Plant biochemistry: trigonelline biosynthesis in *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *Coffee in Health and Disease Prevention*: Elsevier; 2015. p. 19-28.
107. Allred KF, Yackley KM, Vanamala J, Allred CD. Trigonelline is a novel phytoestrogen in coffee beans. *The Journal of nutrition*. 2009;139(10):1833-8.
108. Mazzafera P. Trigonelline in coffee. *Phytochemistry*. 1991;30(7):2309-10.
109. Farah A. Coffee as a speciality and functional beverage. *Functional and speciality beverage technology*: Elsevier; 2009. p. 370-95.
110. Heckman MA, Weil J, Mejia D, Gonzalez E. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal of food science*. 2010;75(3).
111. Ferruzzi MG. The influence of beverage composition on delivery of phenolic compounds from coffee and tea. *Physiology & behavior*. 2010;100(1):33-41.
112. Zulli A, Smith RM, Kubatka P, Novak J, Uehara Y, Loftus H, et al. Caffeine and cardiovascular diseases: critical review of current research. *European journal of nutrition*. 2016;55(4):1331-43.
113. Grosso G, Godos J, Galvano F, Giovannucci EL. Coffee, caffeine, and health outcomes: an umbrella review. *Annual review of nutrition*. 2017;37:131-56.
114. Azem Chalela W, Vissotto Garchet Santos Reis L, Falcao A, Azouri L, Izaki M, Soares Junior J, et al., editors. Effects of caffeine on ischemia detection in myocardial perfusion scintigraphy associated with adenosine stress 2011: AMER THORACIC SOC 61 BROADWAY, FL 4, NEW YORK, NY 10006 USA.
115. Lee K-A, Chae J-I, Shim J-H. Natural diterpenes from coffee, cafestol and kahweol induce apoptosis through regulation of specificity protein 1 expression in human malignant pleural mesothelioma. *Journal of biomedical science*. 2012;19(1):60.
116. Dias RCE, de Faria-Machado AF, Mercadante AZ, Bragagnolo N, de Toledo Benassi M. Roasting process affects the profile of diterpenes in coffee. *European Food Research and Technology*. 2014;239(6):961-70.
117. Guzzo LS, e Castor MGM, de Castro Perez A, Duarte IDG, Romero TRL. Natural Diterpenes from Coffee, Cafestol, and Kahweol Induce Peripheral Antinociception by Adrenergic System Interaction. *Planta medica*. 2016;82(01/02):106-12.
118. Ranheim T, Halvorsen B. Coffee consumption and human health - beneficial or detrimental? - Mechanisms for effects of coffee consumption on different risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Mol Nutr Food Res*. 2005;49(3):274-84.
119. Ricketts ML. Does coffee raise cholesterol? *Future Lipidol*. 2007;2(4):373-7.
120. Lima FA, Sant'ana AEG, Ataíde TR, Omena CMB, Menezes MES, Vasconcelos SML. Coffee and human health: a focus on the substances of the beverage related to cardiovascular disease. *Rev Nutr*. 2010;23(6):1063-73.
121. Cozzolino SMF. Biodisponibilidade de nutrientes: Editora Manole; 2005.
122. Morais JAG, Lobato MdR. The new European Medicines Agency guideline on the investigation of bioequivalence. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2010;106(3):221-5.
123. Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural product reports*. 2009;26(8):1001-43.
124. Scholz. Interactions affecting the bioavailability of dietary polyphenols in vivo. *International journal for vitamin and nutrition research*. 2007;77(3):224-35.

125. Holst B, Williamson G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current opinion in biotechnology*. 2008;19(2):73-82.
126. Williamson G. The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutrition bulletin*. 2017;42(3):226-35.
127. Lafay S, Gil-Izquierdo A. Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*. 2008;7(2):301.
128. Rechner AR, Pannala AS, Rice-Evans CA. Caffeic acid derivatives in artichoke extract are metabolised to phenolic acids in vivo. *Free radical research*. 2001;35(2):195-202.
129. Plumb GW, Garcia-Conesa MT, Kroon PA, Rhodes M, Ridley S, Williamson G. Metabolism of chlorogenic acid by human plasma, liver, intestine and gut microflora. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1999;79(3):390-2.
130. Konishi Y, Zhao Z, Shimizu M. Phenolic acids are absorbed from the rat stomach with different absorption rates. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2006;54(20):7539-43.
131. Lafay S, Gil-Izquierdo A, Manach C, Morand C, Besson C, Scalbert A. Chlorogenic acid is absorbed in its intact form in the stomach of rats. *The Journal of nutrition*. 2006;136(5):1192-7.
132. Olthof MR, Hollman PCH, Katan MB. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of nutrition*. 2001;131(1):66-71.
133. Williamson G, Manach C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *The American journal of clinical nutrition*. 2005;81(1):243S-55S.
134. Gonthier M-P, Verny M-A, Besson C, Rémésy C, Scalbert A. Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats. *The Journal of nutrition*. 2003;133(6):1853-9.
135. Duarte G, Monteiro M, Marques V, Farah A. Variability on urinary excretion of chlorogenic acid compounds and metabolites in humans after overnight fasting and under controlled diets. *The FASEB Journal*. 2012;26(1 Supplement):646-9.
136. Farah A, Monteiro M, Donangelo CM, Lafay S. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *The Journal of Nutrition*. 2008;138(12):2309-15.
137. de Oliveira DM, Sampaio GR, Pinto CB, Catharino RR, Bastos DHM. Bioavailability of chlorogenic acids in rats after acute ingestion of maté tea (*Ilex paraguariensis*) or 5-caffeoylquinic acid. *European journal of nutrition*. 2017;56(8):2541-56.
138. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 1965;16(3):144-58.
139. Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim I, Melo LFC. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química nova*. 2004;27:771-80.
140. Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*. 1995;28(1):25-30.
141. Yue X, Xu Z. Changes of anthocyanins, anthocyanidins, and antioxidant activity in bilberry extract during dry heating. *Journal of Food Science*. 2008;73(6).
142. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 1999;26(9-10):1231-7.
143. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2001;49(10):4619-26.
144. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(10):4290-302.
145. del Castillo MD, Ames JM, Gordon MH. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(13):3698-703.

146. He Z, Tao Y, Zeng M, Zhang S, Tao G, Qin F, et al. High pressure homogenization processing, thermal treatment and milk matrix affect in vitro bioaccessibility of phenolics in apple, grape and orange juice to different extents. *Food chemistry*. 2016;200:107-16.
147. Minekus M, Alming M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus. *Food & Function*. 2014;5(6):1113-24.
148. Tamura H, Yamagami A. ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF MONOACYLATED ANTHOCYANINS ISOLATED FROM MUSCAT-BAILEY-A GRAPE. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1994;42(8):1612-5.
149. Delgado-Andrade C, Rufián-Henares JA, Morales FJ. Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(20):7832-6.
150. Dybkowska E, Sadowska A, Rakowska R, Dębowska M, Świdorski F, Świąder K. Assessing polyphenols content and antioxidant activity in coffee beans according to origin and the degree of roasting. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*. 2017;68(4):347-53.
151. Azevedo BM, Schmidt FL, Bolini H. High-intensity sweeteners in espresso coffee: ideal and equivalent sweetness and time–intensity analysis. *International Journal of Food Science & Technology*. 2015;50(6):1374-81.
152. Kurniawan MF, Andarwulan N, Wulandari N, Rafi M. Metabolomic approach for understanding phenolic compounds and melanoidin roles on antioxidant activity of Indonesia robusta and arabica coffee extracts. *Food Science and Biotechnology*. 2017:1-6.
153. Alves RC, Costa ASG, Jerez Ma, Casal S, Sineiro J, Núñez MaJ, et al. Antiradical activity, phenolics profile, and hydroxymethylfurfural in espresso coffee: influence of technological factors. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010;58(23):12221-9.
154. Fogliano V, Morales FJ. Estimation of dietary intake of melanoidins from coffee and bread. *Food & function*. 2011;2(2):117-23.
155. Pastoriza S, Rufián-Henares JA. Contribution of melanoidins to the antioxidant capacity of the Spanish diet. *Food chemistry*. 2014;164:438-45.
156. Mesías M, Delgado-Andrade C. Melanoidins as a potential functional food ingredient. *Current Opinion in Food Science*. 2017;14:37-42.
157. Bekedam EK, Loots MJ, Schols HA, Van Boekel MAJS, Smit G. Roasting effects on formation mechanisms of coffee brew melanoidins. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;56(16):7138-45.
158. Borrelli RC, Visconti A, Mennella C, Anese M, Fogliano V. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(22):6527-33.
159. Rufián-Henares JA, Pastoriza S. Melanoidins in coffee. *Coffee in health and disease prevention*: Elsevier; 2015. p. 183-8.
160. Otemuyiwa IO, Williams MF, Adewusi SA. Antioxidant activity of health tea infusions and effect of sugar and milk on in-vitro availability of phenolics in tea, coffee and cocoa drinks. *Nutrition & Food Science*. 2017;47(4):458-68.
161. Sanchez-Moreno C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*. 2002;8(3):121-37.
162. Bresciani L, Calani L, Bruni R, Brighenti F, Del Rio D. Phenolic composition, caffeine content and antioxidant capacity of coffee silverskin. *Food research international*. 2014;61:196-201.
163. Pokorná J, Venskutonis PR, Kraujalyte V, Kraujalis P, Dvořák P, Tremlová B, et al. Comparison of different methods of antioxidant activity evaluation of green and roast C. Arabica and C. Robusta coffee beans. *Acta Alimentaria*. 2015;44(3):454-60.
164. Mojica BE, Fong LE, Biju D, Muharram A, Davis IM, Vela KO, et al. The Impact of the Roast Levels of Coffee Extracts on their Potential Anticancer Activities. *Journal of food science*. 2018;83(4):1125-30.

165. Torres T, Farah A. Coffee, maté, açaí and beans are the main contributors to the antioxidant capacity of Brazilian's diet. *European journal of nutrition*. 2017;56(4):1523-33.
166. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*. 1998;75(2):199-212.
167. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*. 2015;18:820-97.
168. Komes D, Bušić A, Vojvodić A, Belščak-Cvitanović A, Hruškar M. Antioxidative potential of different coffee substitute brews affected by milk addition. *European Food Research and Technology*. 2015;241(1):115-25.
169. Sánchez-González I, Jiménez-Escrig A, Saura-Calixto F. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). *Food Chemistry*. 2005;90(1-2):133-9.
170. Hartmann R, Meisel H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current opinion in biotechnology*. 2007;18(2):163-9.
171. Korhonen H. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of functional foods*. 2009;1(2):177-87.
172. Murray BA, FitzGerald RJ. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: biochemistry, bioactivity and production. *Current pharmaceutical design*. 2007;13(8):773-91.
173. Tonolo F, Sandre M, Ferro S, Folda A, Scalcon V, Scutari G, et al. Milk-derived bioactive peptides protect against oxidative stress in a Caco-2 cell model. *Food & Function*. 2018.
174. Villano D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso AM, García-Parrilla MC. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*. 2007;71(1):230-5.
175. Abramović H, Grobin B, Ulrih NP, Cigić B. The methodology applied in DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu assays has a large influence on the determined antioxidant potential. *Acta Chimica Slovenica*. 2017;64(2):491-9.
176. Chen Z, Bertin R, Frolidi G. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food chemistry*. 2013;138(1):414-20.
177. Sharma V, Kumar HV, Rao LJM. Influence of milk and sugar on antioxidant potential of black tea. *Food Research International*. 2008;41(2):124-9.
178. Serafini M, Ghiselli A, Ferro-Luzzi A. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *European journal of clinical nutrition*. 1996;50(1):28-32.
179. Naveen P, Lingaraju HB, Deepak M, Medhini B, Prasad KS. Method Development and Validation for the Determination of Caffeine: An Alkaloid from *Coffea arabica* by High-performance Liquid Chromatography Method. *Pharmacognosy research*. 2018;10(1):88.
180. Ramirez-Coronel MA, Marnet N, Kolli VSK, Roussos S, Guyot S, Augur C. Characterization and estimation of proanthocyanidins and other phenolics in coffee pulp (*Coffea arabica*) by thiolysis– high-performance liquid chromatography. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004;52(5):1344-9.
181. Rostagno MA, Manchón N, D'arrigo M, Guillamón E, Villares A, García-Lafuente A, et al. Fast and simultaneous determination of phenolic compounds and caffeine in teas, mate, instant coffee, soft drink and energetic drink by high-performance liquid chromatography using a fused-core column. *Analytica chimica acta*. 2011;685(2):204-11.
182. Tagliazucchi D, Helal A, Verzelloni E, Conte A. The type and concentration of milk increase the in vitro bioaccessibility of coffee chlorogenic acids. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(44):11056-64.
183. Nardini M, Cirillo E, Natella F, Scaccini C. Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(20):5735-41.
184. Bohn T. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutrition reviews*. 2014;72(7):429-52.

185. Tagliazucchi D, Helal A, Verzelloni E, Conte A. Bovine milk antioxidant properties: effect of in vitro digestion and identification of antioxidant compounds. *Dairy Science & Technology*. 2016;96(5):657-76.
186. Sato Y, Itagaki S, Kurokawa T, Ogura J, Kobayashi M, Hirano T, et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International journal of pharmaceutics*. 2011;403(1-2):136-8.
187. Duarte GS, Farah A. Effect of simultaneous consumption of milk and coffee on chlorogenic acids' bioavailability in humans. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2011;59(14):7925-31.
188. Dupas CJ, Marsset-Baglieri AC, Ordonaud CS, Ducept FMG, Maillard MN. Coffee antioxidant properties: Effects of milk addition and processing conditions. *Journal of Food Science*. 2006;71(3):S253-S8.
189. Ozdal T, Capanoglu E, Altay F. A review on protein–phenolic interactions and associated changes. *Food Research International*. 2013;51(2):954-70.
190. Rein MJ, da Silva Pinto M. Improvement of Bioaccessibility and Bioavailability: From Molecular Interactions to Delivery Systems. *Engineering Foods for Bioactives Stability and Delivery*: Springer; 2017. p. 401-16.
191. Hasni I, Bourassa P, Hamdani S, Samson G, Carpentier R, Tajmir-Riahi H-A. Interaction of milk α - and β -caseins with tea polyphenols. *Food Chemistry*. 2011;126(2):630-9.
192. Budryn G, Pałecz B, Rachwał-Rosiak D, Oracz J, Zaczyńska D, Belica S, et al. Effect of inclusion of hydroxycinnamic and chlorogenic acids from green coffee bean in β -cyclodextrin on their interactions with whey, egg white and soy protein isolates. *Food chemistry*. 2015;168:276-87.
193. Jakobek L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*. 2015;175:556-67.
194. He Z, Yuan B, Zeng M, Tao G, Chen J. Effect of simulated processing on the antioxidant capacity and in vitro protein digestion of fruit juice-milk beverage model systems. *Food chemistry*. 2015;175:457-64.
195. Williamson G. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Molecular nutrition & food research*. 2013;57(1):48-57.
196. Lesser S, Cermak R, Wolfram S. Bioavailability of quercetin in pigs is influenced by the dietary fat content. *The Journal of nutrition*. 2004;134(6):1508-11.
197. Fitri A, Andriani M, Sudarman A, Toharmat T, Yonekura L, Tamura H, et al. Screening Of Antioxidant Activities And Their Bioavailability Of Tropical Fruit Byproducts From Indonesia. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2016;8(6):96-100.
198. Ozercan IH, Dagli AF, Ustundag B, Ozercan MR, Bahcecioglu IH, Çelik H, et al. Does instant coffee prevent acute liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄)? *Hepatology Research*. 2006;35(3):163-8.
199. Gorelik S, Lapidot T, Shaham I, Granit R, Ligumsky M, Kohen R, et al. Lipid peroxidation and coupled vitamin oxidation in simulated and human gastric fluid inhibited by dietary polyphenols: health implications. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(9):3397-402.
200. Sudheer AR, Muthukumaran S, Devipriya N, Devaraj H, Menon VP. Influence of ferulic acid on nicotine-induced lipid peroxidation, DNA damage and inflammation in experimental rats as compared to N-acetylcysteine. *Toxicology*. 2008;243(3):317-29.
201. Thomsen MK, Lauridsen L, Skibsted LH, Risbo J. Two types of radicals in whole milk powder. Effect of lactose crystallization, lipid oxidation, and browning reactions. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005;53(5):1805-11.

LATTES

Maiara Jurema Soares

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/1986004087936746>

Última atualização do currículo em 04/06/2018

Resumo informado pelo autor

Mestranda em Nutrição em Saúde Pública (Faculdade de Saúde Pública - USP). Nutricionista formada em 2015 pela Universidade Cruzeiro do Sul, em 2015 (São Paulo). Possui curso de extensão em Prática Clínica em Atendimento Nutricional pela Universidade Cruzeiro do Sul, foi aluna de iniciação científica (PIBIC-Cruzeiro do Sul), no ano de 2013 a 2015, onde teve a oportunidade de trabalhar com o fungo *Aspergillus flavus* e aflatoxina B1 pelo método de análise em CCD (cromatografia em camada delgada), fez parte do programa de monitoria da clínica escola de nutrição da Universidade Cruzeiro do Sul. Possui curso de atualização ABC do Câncer- Abordagens Básicas para o Controle do Câncer, ministrado pelo INCA (2012).

(Texto informado pelo autor)

Nome civil

Nome Maiara Jurema Soares

Dados pessoais

Filiação Geraldo Ribeiro Soares e Divina Candida Dias

Nascimento 19/01/1993 - Itaquaquecetuba/SP - Brasil

Carteira de 487781612 ssp - SP - 05/05/2011

Identidade

CPF 425.819.538-37

Formação acadêmica/titulação

2016 Mestrado em Nutrição em Saúde Pública.
Faculdade de Saúde Pública - USP, FSP, Brasil
Título: "AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ADIÇÃO DE INGREDIENTES SOBRE OS COMPOSTOS FENÓLICOS E A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE CÁPSULAS DE CAFÉ EXPRESSO ESUA BIOACESSIBILIDADE"

Orientador: Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2011 - 2015 Graduação em Nutrição.
Universidade Cruzeiro do Sul, UNICSUL, São Paulo, Brasil
Título: A avaliação de aflatoxina em grãos comercializados na região de São Paulo
Orientador: Andrea Maria Spessoto

2004 - 2010 Ensino Médio (2º grau).
Amélia Maria Dos Santos, AM%20, Brasil

Formação complementar

2016 - 2016 Curso de curta duração em Prescrição de Fitoterápicos em diversas situações clínicas. (Carga horária: 20h).
Centro Integrado de Nutrição, CIn, Brasil

2016 - 2016 Curso de curta duração em Nutrição e Câncer - Tratamento e Prevenção. (Carga horária: 4h).
Escola de Saúde e Administração, ESSA, Brasil

2015 - 2015 Curso de curta duração em Ferramenta de Coaching para Otimizar o Emagrecimento. (Carga horária: 8h).
Quality Food, QF, Brasil

2014 - 2014 Curso de curta duração em Doenças Alimentares e Interpretação das Análises Microbiológicas. (Carga horária: 13h).
Quality Food, QF, Brasil

2014 - 2014 Extensão universitária em Prática Clínica em Atendimento Nutricional. (Carga horária: 100h).
Universidade Cruzeiro do Sul, UNICSUL, São Paulo, Brasil

2012 - 2012 Curso de curta duração em Atualização ABC do Câncer - Abordagens Básicas para o Controle do Câncer. (Carga horária: 30h).
Instituto Nacional de Câncer, INCA, Rio De Janeiro, Brasil

Atuação profissional

1. Universidade Cruzeiro do Sul - UNICSUL

Vínculo Institucional

2015 - 2015 Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Monitora da Clínica escola de Nutrição, Carga horária: 48, Regime: Integral

2014 - 2014 Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Monitora da Clínica escola de Nutrição, Carga horária: 152, Regime: Integral

2013 - 2015 Vínculo: Iniciação científica, Enquadramento funcional: Aluna de Iniciação Científica, Regime: Parcial

Produção

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. SOARES, M. J.
A AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE AFLATOXINA EM GRANOLAS COMERCIALIZADAS NA REGIÃO DE SÃO PAULO In: Conic- Semsép, 2014, São Paulo.
Anais do Conic-Semsép., 2014. v.2.
2. SOARES, M. J.
A AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE AFLATOXINA EM GRANOLAS COMERCIALIZADAS NA REGIÃO DE SÃO PAULO In: XVIII ENIC- Encontro de Iniciação Científica, 2014, São Paulo.
Caderno de Resumos., 2014. v.1. p.74 - 74
3. SOARES, M. J.
A AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE AFLATOXINA EM GRANOLAS COMERCIALIZADAS NA REGIÃO DE SÃO PAULO In: ENIC - Encontro de Iniciação Científica, 2013, São Paulo.
Caderno ENIC., 2013. v.1.

Apresentação de trabalho e palestra

1. SOARES, M. J.
Mitos e Verdades em Nutrição, 2014. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
2. SOARES, M. J.
Alimentação Saudável, 2012. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. Apresentação de Poster / Painel no(a) 8th International Conference on polyphenols and health, 2017. (Congresso)
INFLUENCE OF NOTES AND INTENSITY IN CAPSULE ESPRESSO COFFEE ON ANTIOXIDANT ACTIVITY.
2. International Workshop - Lipids in 21 Century: Where we are, 2017. (Outra)
3. Apresentação de Poster / Painel no(a) 8th Simpósio Latino Americano de Clénios dos Alimentos, 2017. (Simpósio)
Effect of leeks (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*) and garlic (*Allium sativum* L.) as natural antioxidants in fish burgers during frozen storage.
4. Apresentação de Poster / Painel no(a) 8th Simpósio Latino Americano de Clénios dos Alimentos, 2017. (Simpósio)
EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DOMESTIC USE ESPRESSO COFFEE CAPSULE.
5. 2nd Metabolite Programming Workshop, 2016. (Outra)
6. International Workshop Bioactive Compounds, 2016. (Outra)
7. Foro - Food Research Center, 2015. (Simpósio)
8. Apresentação Oral no(a) Conic - Semsép, 2014. (Congresso)
A avaliação de aflatoxina em granolas comercializadas na região de São Paulo.
9. Apresentação de Poster / Painel no(a) Enio, 2014. (Encontro)
A avaliação de aflatoxina em granolas comercializadas na região de São Paulo.
10. Apresentação de Poster / Painel no(a) Enio, 2013. (Encontro)
A avaliação de aflatoxina em granolas comercializadas na região de São Paulo.
11. 16º Congresso da Associação de Diabéticos, 2012. (Congresso)
12. 1º Workshop de Nutrição da Liga Solidária, 2012. (Outra)
13. Hospitalar, 2012. (Feira)
14. Vitafoods South America, 2012. (Exposição)
15. II Simpósio Netix Nestlé, 2011. (Simpósio)

Organização de evento

1. Lopes, L.B.; SOARES, M. J.
Feira guia do estudante, 2014. (Feira, Organização de evento)
2. Lopes, L.B.; SOARES, M. J.
XIX OFICINA CULINÁRIA DE NUTRIÇÃO- Alimentos Integrais: Como prepará-los?, 2012. (Outro, Organização de evento)
3. Lopes, L.B.; SOARES, M. J.
XX OFICINA CULINÁRIA DE NUTRIÇÃO- Delícias para o seu arraiá!, 2012. (Outro, Organização de evento)
4. Lopes, L.B.; SOARES, M. J.
Evento em Comemoração ao Dia das Crianças, 2011. (Outro, Organização de evento)

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 04/06/2018 às 12:07:24.