

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

WINSTON PINHEIRO CLARO GOMES

Caracterização química dos compostos majoritários
em grãos verdes de café

Piracicaba
2022

WINSTON PINHEIRO CLARO GOMES

Caracterização química dos compostos majoritários
em grãos verdes de café

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientadora: Profa. Dra. Wanessa Melchert Mattos

Piracicaba

2022

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTA TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Gomes, Winston Pinheiro Claro

Caracterização química dos compostos majoritários em grãos verdes de café / Winston Pinheiro Claro Gomes; Wanessa Melchert Mattos. - - Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2022.

114 p.: il.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2022.

1. Análise de alimentos 2. Café verde 3. Cromatografia 4. Espectrofotometria UV-Vis 5. Química analítica 6. Química dos alimentos 7. Quimiometria 8. Máquina de Vetor de Suporte I. Título.

CDU (543.42 : 641.1)

Elaborada por:

Marília Ribeiro Garcia Henyei

CRB-8/3631

Resolução CFB N° 184 de 29 de setembro de 2017

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me permitir ultrapassar todos os obstáculos, por me dar saúde e determinação para não desanimar durante a realização deste trabalho e por me acompanhar agora e sempre.

Aos meus pais, Natalina Pinheiro Claro Gomes e Windor Claro Gomes, que me incentivaram nos momentos difíceis e demonstraram todo o seu apoio, carinho e dedicação, enquanto me dedicava à realização deste trabalho.

Aos meus irmãos, Marlon Pinheiro Claro Gomes e Talita Pinheiro Claro Gomes, pela amizade e atenção dedicadas ao longo de todos esses anos.

À minha orientadora, Profa. Dra. Wanessa Melchert Mattos, pela confiança, incentivo, compreensão e ensinamentos durante todo o mestrado, os quais me fizeram crescer na vida pessoal e na profissional. Muito obrigado por tudo!

Aos amigos que a vida me deu, em especial a Audrey Jorge Lisboa, Felipe Lisboa Castro, João Paulo Belmonte e Vivian Harumi Yoshizane, que tiveram paciência e compreensão ao longo desses anos de amizade e entenderam minha ausência no período do desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos que a vida acadêmica me proporcionou, principalmente Bianca Martins Benetole, Gabriel Pereira Bragaia, Juliana Angelo Pires, Natalia Navarro Teixeira, Rita de Cássia Malho Alves e Valéria Lopes Ferreira Vianna, os quais sempre me incentivaram a ser alguém melhor. Nos momentos difíceis e alegres, estavam sempre presentes.

Aos amigos que a vida profissional me proporcionou, principalmente Ana Carolina Lopes Marron, Caio Vinicius Gonçalves Fortunato, Deise Consuelo Novato Braz, Marcia Regina Reggiolli, Mariane Barroso Pereira, Nathalia de Andrade de Melo, Pedro Barbanera Neto e Tais Moala, que me aconselharam e incentivaram a buscar crescimento pessoal e profissional. Irei leva-los por toda a vida.

Aos membros do Grupo de Estudo em Química Analítica Verde, pela amizade durante a elaboração deste trabalho e pelo compartilhamento de conhecimento.

Aos professores da banca de qualificação, Dr. Álvaro José dos Santos Neto, Dr. Fábio Rodrigo Piovezani Rocha e Dra. Gisele Gonçalves Bortoleto, pelas contribuições e sugestões oferecidas.

Aos professores da banca de defesa, Dr. Álvaro José dos Santos Neto e Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes, pelas contribuições e sugestões.

Ao departamento de Ciências Exatas - Química da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" pelo espaço e equipamentos cedidos.

À Faculdade de Tecnologia de Piracicaba "Dep. Roque Trevisan", em especial às professoras Dra. Erika Maria Roel Gutierrez e Dra. Gisele Gonçalves Bortoleto, por tornarem possíveis as análises cromatográficas.

À professora MSc. Fabiana Yoshinaga, que me deu a oportunidade de aprender mais sobre cromatografia, permitindo-me desenvolver nesta área.

À Dra. Clíssia Barboza da Silva, do Laboratório de Radiobiologia e Meio Ambiente, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, por possibilitar as análises multiespectrais.

Ao MSc. Luís Fred Gonçalves de Sousa, do Centro de Informática, Universidade Federal de Pernambuco, por contribuir com as análises supervisionadas dos dados multiespectrais.

Ao professor Dr. Fábio Rodrigo Piovezani Rocha por possibilitar as análises no espectrofluorímetro, e à MSc. Samara Soares pela ajuda.

Ao Programa de Excelência Acadêmica - PROEX, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pelo financiamento concedido.

A todos que direta e indiretamente fizeram parte do desenvolvimento deste trabalho.

“Demore o tempo que for para decidir o que você quer da vida, e depois que decidir não recue ante nenhum pretexto, porque o mundo tentará te dissuadir.”

Friedrich Nietzsche

RESUMO

GOMES, W. P. C. **Caracterização química dos compostos majoritários em grãos verdes de café**. 2022. 114 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2022.

O café verde é o grão de café descascado, antes de passar pelo processo de torrefação, rico em compostos químicos que são indicativos de qualidade, permitindo a classificação em especiais ou tradicionais. O objetivo do trabalho foi determinar compostos presentes em grãos verdes de café e encontrar a diferenciação dos grãos verdes de café em especiais ou tradicionais por meio da quimiometria. Além disso, a análise multiespectral foi combinada com modelos de aprendizagem de máquina para discriminar grãos de café verde, em especiais e tradicionais. Para tanto, foram quantificados os teores de compostos fenólicos, açúcares redutores, não redutores e totais por espectrofotometria; cafeína, trigonelina, 5-hidroximetilfurfural, ácidos 3-hidroxibenzoico, 4-hidroxibenzoico, clorogênico, cafeico e nicotínico por HPLC-UV-Vis; acetaldeído, acetona, metanol, etanol e iso-amílico por HS-GC-FID. Análise de componentes principais (PCA) foi utilizada na diferenciação dos grãos de café verde por meio dos teores obtidos nas análises espectrofotométricas e cromatográficas e análise multiespectral. Para avaliação dos dados da análise multiespectral quatro algoritmos de aprendizagem de máquina (SVM, RF, XGBoost e CatBoost) foram empregados. Estatisticamente, os teores de compostos fenólicos totais, cafeína, açúcares não redutores, açúcares totais, ácido nicotínico, 5-hidroximetilfurfural, acetaldeído, etanol e etanol/metanol apresentaram diferenças significativas. A PCA possibilitou a classificação dos grãos verdes de café, em especiais e tradicionais, além do entendimento dos atributos que influenciaram na diferenciação entre os cafés. Os atributos cafeína, ácido nicotínico, ácido cafeico, trigonelina, ácido 3-hidroxibenzoico e o álcool iso-amílico foram que descreveram melhor as amostras tradicionais e estão ligadas as características indesejadas para o café. Enquanto, as amostras especiais foram descritas pelos atributos açúcares não redutores, açúcares totais, altitude, etanol/metanol, etanol, acetona, 5-hidroximetilfurfural, compostos fenólicos totais, ácido clorogênico, 4-hidroxibenzoico, acetaldeído e metanol, que conferiram características desejadas para o café. Na análise multiespectral, o modelo de aprendizagem de máquina SVM demonstrou

melhor precisão para o conjunto de dados de teste (0,96) e os dados de autofluorescência usando a combinação de excitação/emissão de 405/500 nm contribuíram para discriminar o café verde especial da classe tradicional. A avaliação da composição química, utilizando a quimiometria permitiu a diferenciação das amostras especiais e tradicionais, baseando nos 19 parâmetros e também utilizando apenas os parâmetros das análises espectrofotométricas. A imagem multiespectral baseada em autofluorescência combinada com modelos SVM pode ser ferramenta potencial para futuras aplicações na indústria de alimentos para classificação não destrutiva e em tempo real de café verde especial e tradicional.

Palavras-chave: Análise de alimentos. Café verde. Cromatografia. Espectrofotometria UV-Vis. Química Analítica de Alimentos. Quimiometria. Máquina de Vetor de Suporte.

ABSTRACT

GOMES, W. P. C. **Chemical characterization of major compounds in green coffee beans**. 2022. 114 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2022.

Green coffee is the hulled coffee bean, before going through the roasting process, rich in chemical compounds that are indicative of quality, allowing classification into special or traditional. The objective of this work was to determine compounds present in green coffee beans and find the differentiation of green coffee beans into special or traditional ones through chemometrics. Furthermore, multispectral analysis was combined with machine learning models to discriminate special from traditional green coffee beans. Therefore, the levels of reducing, non-reducing, total sugars and phenolic compounds were quantified by spectrophotometry; caffeine, trigonelline, 5-hydroxymethylfurfural, 3-hydroxybenzoic, 4-hydroxybenzoic, chlorogenic, caffeic and nicotinic acids by HPLC-UV-Vis; acetaldehyde, acetone, methanol, ethanol and iso-amyl by HS-GC-FID. Principal component analysis (PCA) was used to differentiate green coffee beans through the levels obtained in spectrophotometric and chromatographic analysis and multispectral analysis through fluorescence. To evaluate the multispectral analysis data, four machine learning algorithms (SVM, RF, XGBoost and CatBoost) were used. Statistically, the contents of total phenolic compounds, caffeine, non-reducing sugars, total sugars, nicotinic acid, 5-hydroxymethylfurfural, acetaldehyde, ethanol and ethanol/methanol showed significant differences. The PCA made it possible classification of green coffee beans in special and traditional, in addition to understanding the attributes that influenced the differentiation between coffees. The attributes caffeine, nicotinic acid, caffeic acid, trigonelline, 3-hydroxybenzoic acid and iso-amyl alcohol best described the traditional samples and are linked to undesirable characteristics for coffee. Meanwhile, the special samples were described by the attributes non-reducing sugars, total sugars, altitude, ethanol/methanol, ethanol, acetone, 5-hydroxymethylfurfural, total phenolic compounds, chlorogenic acid, 4-hydroxybenzoic, acetaldehyde and methanol, which conferred desired characteristics for the coffee. In the multispectral analysis, the machine learning model SVM demonstrated better accuracy for the test dataset (0.96) and the autofluorescence data using the excitation/emission combination of 405/500 nm contributed to discriminate

the special green coffee of the traditional class. The evaluation of the chemical composition, using chemometrics, allowed the differentiation of special and traditional samples, based on the 19 parameters and also using only the parameters of the spectrophotometric analysis. Autofluorescence-based multispectral imaging combined with SVM models could be a potential tool for future applications in the food industry for non-destructive, real-time classification of specialty and traditional green coffee.

Keywords: Principal component analysis. Green coffee. Liquid chromatography. Gas Chromatography. UV-Vis spectrophotometry. Food Analytical Chemistry. Chemometrics. Support Vector Machine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo de beneficiamento do fruto do café. a) Tipos de processamento para obtenção do café verde. b) Representação do produto oriundo do fruto do café	26
Figura 2 - Reação do ácido gálico (composto fenólico) com molibdênio.....	29
Figura 3 - Produção científica com as palavras-chaves “Quimiometria + Café verde”, “Quimiometria + Grão de café verde”, “Quimiometria + Café torrado” e “Quimiometria + Grão de café torrado”	33
Figura 4 - Representação do cubo tridimensional das imagens espectrais	34
Figura 5 - Perfil cromatográfico para o extrato obtido em 280 nm na diluição 1:50 (v/v). Métodos de extrações empregadas: a) Specialty Coffee Association of America (2009); b) Chambel et al. (1997) e c) Angeloni et al. (2018).	55
Figura 6 - Perfil cromatográfico para o extrato obtido em 280 nm na diluição 1:15 (v/v). Métodos de extrações empregadas: a) Specialty Coffee Association of America (2009); b) Chambel et al. (1997) e c) Angeloni et al. (2018)	56
Figura 7 - Perfil cromatográfico para as condições otimizadas em 280 nm. Métodos empregados nas extrações: a) Specialty Coffee Association of America (2009) e b) Angeloni et al. (2018)	58
Figura 8 - Perfis cromatográficos das amostras especiais e tradicionais. a) Amostra com diluição de 1:15 (v/v), analitos identificados: trigonelina (1), ácido nicotínico (2), ácido clorogênico (3) e cafeína (4). b) Amostra sem diluição, analitos identificados: 5-hidroximetilfurfural (5), ácido 3-hidroxibenzoico (6), ácido cafeico (7) e ácido 4-hidroxibenzoico (8).....	60
Figura 9 – Boxplot dos testes estatísticos para avaliação dos teores dos compostos não voláteis, entre os grãos de café especiais e tradicionais.....	62
Figura 10 - Perfil cromatográfico para extração dos compostos voláteis. Amostra de café verde diretamente no vial (a) e com extração (b)	68
Figura 11 - Perfil cromatográfico para extração dos compostos voláteis. Amostra de café verde com (a) 5 e 10 minutos (b) de agitação. Analitos: Acetaldeído (1), acetona (2), metanol (3), etanol (4) e iso-amílico (5)	69
Figura 12 - Perfil cromatográfico das amostras especiais (a) e tradicionais (b). Analitos: Acetaldeído (1), acetona (2), metanol (3), etanol (4), iso-amílico (5) e desconhecido (D)	70

Figura 13 – Boxplot dos testes estatísticos para avaliação dos teores dos compostos voláteis, entre os grãos de café especiais e tradicionais	72
Figura 14 - Biplot das três primeiras componentes principais para as amostras de café verde especial (cor laranja) e tradicional (cor verde) correlacionadas com todas as variáveis estudadas	79
Figura 15 - Biplot das duas primeiras componentes principais para as amostras de café verde especial (cor laranja) e tradicional (cor verde) correlacionadas com as análises instrumentais (a) espectrofotométricas; (b) cromatográficas a gás e (c) a líquido	83
Figura 16 - Assinatura espectral (média ± desvio padrão) de grãos de café verde especial e tradicional (n = 1024) para reflectância de 365 a 970 nm (a) e autofluorescência de 365/400 a 660/700 nm combinações de excitação/emissão (b)	86
Figura 17 - Análise de componentes principais biplot para reflectância em 19 comprimentos de onda e autofluorescência usando 28 combinações de excitação/emissão obtidas de café verde especial ou tradicional (n = 1024) (a-c). Valores de loadings de cada variável na análise do componente principal para diferenciação do café verde especial e tradicional com base em dados de reflectância e autofluorescência (d)	88
Figura 18 – Gráfico ROC/AUC para verificação do desempenho do modelo SVM para o conjunto teste, para os grãos de café verde especiais e tradicionais (n = 1024)...	89
Figura 19 - Importância de cada variável com base no algoritmo SVM para discriminação de café verde especial ou tradicional usando dados de reflectância e fluorescência.....	91
Figura 20 - Imagens RGB brutas (espectro visível) de grãos de café verde tradicionais ou especiais; imagens de autofluorescência correspondentes capturadas na combinação de excitação/emissão de 405/500 nm (escala de cinza e imagens transformadas pelo algoritmo nCDA) (a). Intensidade média de autofluorescência referente a todos os grãos, especiais (n=640) e tradicionais (n=384), na combinação 405/500 nm, onde as médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste t de Student ao nível de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$) (b).....	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Alguns compostos voláteis presentes no grão de café verde	32
Tabela 2 - Características das amostras de café verde especiais e tradicionais	37
Tabela 3 - Métodos de extrações avaliadas para realização das análises cromatográficas dos componentes não voláteis.....	39
Tabela 4 - Curvas analíticas dos compostos não voláteis.....	47
Tabela 5 - Curvas analíticas das análises espectrofotométricas.....	48
Tabela 6 - Curvas analíticas dos compostos voláteis.....	48
Tabela 7 - Teores de compostos fenólicos totais nas amostras de café verde especial e tradicional	49
Tabela 8 - Testes estatísticos para avaliação de efeito nos teores de compostos fenólicos totais.....	50
Tabela 9 - Teores de cafeína nas amostras de café verde especial e tradicional.....	51
Tabela 10 - Testes estatísticos para avaliação de efeito nos teores de cafeína	52
Tabela 11 - Teores de açúcares nas amostras de café verde especial e tradicional	53
Tabela 12 - Testes estatísticos para avaliação de efeito nos teores de açúcares.....	54
Tabela 13 - Valores das áreas para o pico 4 dos perfis cromatográficos apresentados nas Figuras 5 e 6.....	56
Tabela 14 - Dados cromatográficos para o cálculo de resolução para a diluição 1:15 (v/v)	57
Tabela 15 - Condições cromatográficas otimizadas.....	57
Tabela 16 - Dados cromatográficos para o cálculo de resolução referente às condições cromatográficas otimizadas de Vignoli et al. (2014) para as extrações Specialty Coffee Association of America (2009) e Angeloni et al. (2018).....	59
Tabela 17 - Teores de compostos não voláteis nas amostras de café verde especial e tradicional.....	64
Tabela 18 - Área dos picos em 5 e 10 minutos de agitação por headspace	69
Tabela 19 - Condições de extração empregadas nas análises por cromatografia a gás	70
Tabela 20 - Teores de compostos voláteis nas amostras de café verde especial e tradicional.....	74
Tabela 21 - Fator de relação dos teores de etanol/metanol	76
Tabela 22 - Autovalores obtidos para cada componente obtida na PCA	80

Tabela 23 - Loadings de cada variável nas três primeiras componentes principais .	81
Tabela 24 - Matriz de correlação de Pearson entre os compostos químicos obtidos nas análises espectrofotométricas e cromatográficas	85
Tabela 25 - Desempenho de diferentes modelos usando reflectância (dados de 365 a 970 nm) e autofluorescência (dados de 365/400 a 660/700 nm) para classificar café verde especial e tradicional para o conjunto teste	89
Tabela 26 - Matriz de confusão para conjunto de dados de validação usando modelo SVM para classificar grãos de café verde tradicionais e especiais.....	90
Tabela 27 - Fluorescência emitida por diferentes fluoróforos usando a combinação de excitação/emissão de 405/500 nm	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 3-ACG - Ácido 3-clorogênico
- 4-ACG - Ácido 4-clorogênico
- 5-ACG - Ácido 5-clorogênico
- 3-CQA - Ácido 3-cafeoilquínico
- 4-CQA - Ácido 4-cafeoilquínico
- 5-CQA - Ácido 5-cafeoilquínico
- 3-FQA - Ácido 3-feruloilquínico
- 4-FQA - Ácido 4-feruloilquínico
- 5-FQA - Ácido 5-feruloilquínico
- 3-HB - Ácido 3-hidroxibenzoico
- 4-HB - Ácido 4-hidroxibenzoico
- 5-HMF - 5-hidroximetilfurfural
- 3-pCoQA - Ácido 3-p-coumaroilquínico
- 4-pCoQA - Ácido 4-p-coumaroilquínico
- 5-pCoQA - Ácido 5-p-coumaroilquínico
- 3,4-diCQA - Ácido 3,4-dicafeoilquínico
- 3,5-diCQA - Ácido 3,5-dicafeoilquínico
- 4,5-diCQA - Ácido 4,5-dicafeoilquínico
- 3C,4FQA - Ácido 3-O-cafeoil-4-O-feruloilquínico
- 3C,5FQA - Ácido 3-O-cafeoil-5-O-feruloilquínico
- 3F,4CQA - Ácido 3-O-feruloil-4-O-cafeoilquínico
- 3F,5-pCoQA - Ácido 3-O-feruloil-5-O-cafeoilquínico
- 4C,5FQA - Ácido 4-O-cafeoil-5-O-feruloilquínico
- 4F,5CQA - Ácido 4-O-feruloil-5-O-cafeoilquínico
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas
- AC - Ácido cafeico
- AN - Ácido nicotínico
- ANR - Açúcares não redutores
- AOAC - do inglês Association of Official Analytical Chemists
- AR - Açúcares redutores
- AT - Açúcares totais
- AUC - Área sob a curva (do inglês Area Under the Curve)

BILSTM - do inglês Bidirectional long-short-term memory network

BSCA - Associação Brasileira de Cafés Especiais (do inglês Brazilian Speciality Coffee Association)

CatBoost - do inglês Gradient boosting with categorical features support

CCD - Dispositivo de carga acoplada (do inglês Charge-coupled device)

CFT - Compostos fenólicos totais

CGA - Ácido clorogênico (do inglês Chlorogenic acid)

DNA - Ácido desoxirribonucleico (do inglês deoxyribonucleic acid)

DNS - Ácido dinitrosalicílico

EOH - Etanol

FTIR - Espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (do inglês Fourier transform infrared spectroscopy)

GC - Cromatografia gasosa; Cromatografia a gás (do inglês Gas chromatography)

GC-FID - Cromatografia a gás com detecção por ionização de chama; Cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (do inglês Gas chromatography with flame ionization detection)

GC-MS - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas; Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (do inglês Gas chromatography - Mass spectrometry)

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês High Performance Liquid Chromatography)

HS-GC-FID - Cromatografia a gás com detecção por ionização de chama com amostrador headspace (do inglês Headspace gas chromatography with flame ionization detection)

ICO - Organização Internacional do Café (do inglês International Coffee Organization)

IN - Instrução normativa

LD - Limite de detecção

LED - Diodo emissor de luz (do inglês Light-Emitting Diode)

LP - do inglês long-pass

LQ - Limite de quantificação

MCNN - do inglês Multiscale fusion convolutional neural network

MeOH - Metanol

MSI - Análise multiespectral (do inglês Multispectral Imaging)

nCDA - Análise discriminante canônica normalizada (do inglês Normalized canonical discriminant analysis),

NIR - Espectroscopia de infravermelho próximo (do inglês Near infrared spectroscopy)

ND - Não detectado

PCA - Análise de Componentes Principais (do inglês Principal Component Analysis)

PC - Componente Principal (do inglês Principal Component)

PLS - Regressão dos mínimos quadrados parciais (do inglês Partial least squares regression)

ppb - Partes por bilhão

ppm - Partes por milhão

R² - Coeficiente de correlação

RF - Floresta Aleatória (do inglês Random Forest)

ROC - Curva Característica de Operação do Receptor (do inglês Receiver Operating Characteristic Curve)

ROI - Região de interesse (do inglês Region Of Interest)

SAA - Secretaria da Agricultura e Abastecimento

SCAA - Associação de Cafés Especiais da América (do inglês Speciality Coffee Association of America)

SVM - Máquina de Vetores de Suporte (do inglês Support Vector Machine)

VOCs - Compostos orgânicos voláteis (do inglês Volatile Organic Compounds)

VWD - Detector de comprimento de onda variável (do inglês Variable wavelength detector)

XGBoost - do inglês Extreme gradient boosting

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	25
2.1 CLASSIFICAÇÃO DO CAFÉ VERDE	25
2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS	27
2.3 METILXANTINAS	29
2.4 ANÁLISE DE CARBOIDRATOS	30
2.5 ANÁLISE DE COMPONENTES VOLÁTEIS.....	31
2.6 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA E ESPECTRAL EM ALIMENTOS.....	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1 REAGENTES E EQUIPAMENTOS	38
3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS	38
3.2.1 <i>Análises espectrofotométricas e de cafeína</i>	38
3.2.2 <i>Análises cromatográficas dos compostos não voláteis</i>	38
3.2.3 <i>Análises cromatográficas dos compostos voláteis</i>	39
3.2.4 <i>Análise multiespectral</i>	39
3.3 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	39
3.4 DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA POR HPLC	40
3.5 DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES, NÃO REDUTORES E TOTAIS	40
3.6 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS NÃO VOLÁTEIS.....	41
3.7 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS	41
3.8 LIMITE DE DETECÇÃO (LD) E QUANTIFICAÇÃO (LQ)	42
3.9 ANÁLISE MULTIESPECTRAL	42
3.10 ANÁLISE ESPECTROFLUORIMÉTRICA.....	43
3.11 ANÁLISES ESTATÍSTICA, QUIMIOMÉTRICA E SUPERVISIONADA.....	44
3.11.1 <i>Análise dos dados multiespectrais</i>	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	48
4.2 ANÁLISE DE CAFEÍNA	50
4.3 ANÁLISE DE AÇÚCARES REDUTORES, NÃO REDUTORES E TOTAIS	52
4.4 ANÁLISE DE COMPOSTOS NÃO VOLÁTEIS.....	54
4.4.1 <i>Avaliação do método de extração e diluição</i>	54
4.4.2 <i>Determinação dos compostos não voláteis</i>	59

4.5 ANÁLISE DE COMPOSTOS VOLÁTEIS	67
4.5.1 <i>Avaliação do método de extração</i>	67
4.5.2 <i>Determinação dos compostos voláteis</i>	70
4.6 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA.....	78
4.7 ANÁLISE MULTIESPECTRAL	86
5 CONCLUSÃO	95
REFERÊNCIAS	97

1 INTRODUÇÃO

Café verde, pela International Coffee Organization, é definido como o grão de café descascado antes de passar pelo processo de torrefação (ICO, 2007). Fruto com enorme importância comercial no mundo, pois quando o grão é torrado, torna-se uma das bebidas mais consumidas mundialmente (em média 1,3 kg/ano de café *per capita*). No norte da Europa, o consumo chega a 6 kg/ano, enquanto no Brasil, que é o maior produtor e exportador mundial e tem como tradição o cultivo do cafeeiro (*Coffea sp.*), o consumo é de 5,8 kg/ano (GONÇALVES, 2018; AQUINO, 2019; OECD/FAO, 2019; ABREU et al., 2020).

O café pertence à família Rubiaceae e se destaca por duas espécies principais, o *Coffea arabica* (café arábica) e o *Coffea canephora* (café conilon ou robusta), que correspondem a totalidade de café produzido no mundo (FERRÃO et al., 2017; ABREU et al., 2020; PEREIRA et al., 2020b).

A espécie *Coffea arabica*, originária do Oriente Médio, apresenta maior complexidade aromática e gustativa por possuir 44 cromossomos, sendo tido como de melhor qualidade: mais fino, requintado e classificado como café especial, diferenciado ou gourmet (LIMA, 2010).

Coffea canephora, espécie originária da África, detém o dobro de teor de cafeína em relação ao *Coffea arabica* e não possui nuances de sabor. Os grãos são mais utilizados para confecção de blends (LIMA, 2010; ROSA, 2010). Apresentam vantagens sobre a *Coffea arabica* em relação à resistência a altas temperaturas, pragas e doenças, deficiência hídrica, alta quantidade de compostos antioxidantes, cafeína e sólidos solúveis (FARAH, 2012; CARMO, 2019).

Os grãos verdes de café apresentam na composição importantes compostos bioativos, como a cafeína (1,3,7-trimetilxantina), que é estimulante do sistema nervoso central e dos músculos cardíacos; os ácidos clorogênicos (cafeoilquínicos, dicafeoilquínicos, feruloilquínicos e *p*-coumaroilquínicos), que são antioxidantes com atividade anticarcinogênica; os diterpenos cafestol e caveol, relacionados com o metabolismo lipídico; e os tocoferóis, que possuem propriedades altamente antioxidantes (LIMA, 2010; OLIVEIRA, 2013; JESZKA-SKOWRON; ZGOŁA-GRZEŚKOWIA; GRZEŚKOWIAK, 2015; OLIVEIRA, 2016; BHANDARKAR et al., 2019; SOUZA, 2019; DESAI et al., 2020). A cafeína, principal metilxantina encontrada no café, é um alcaloide que age nos rins, nos músculos cardíacos e esquelético e,

principalmente, no sistema nervoso central, diminuindo o cansaço e aumentando o nível de alerta (BURDAN, 2015; BONETTI; BROMBO; ZULIANI, 2017).

Os compostos bioativos vêm sendo estudados devido às propriedades anti-hipertensivas, inibição do acúmulo de gordura, controle de peso corporal e regulação do metabolismo da glicose. Além disso, os polifenóis, presentes no grão verde de café, atuam na inibição da lipoxigenase (relacionada ao fator inflamatório), que podem possibilitar melhoras em pacientes com síndrome metabólica. De natureza atóxica para o ser humano, a incorporação do café verde em alimentos resulta no acréscimo da concentração de polifenóis, antioxidantes e fenólicos totais; restrição na perda de ácidos graxos poli-insaturados e na formação de acrilamida; redução na taxa de sinérese; além de demonstrar ótimas propriedades sensoriais, alta bioacessibilidade e biodisponibilidade (BUDRYN et al., 2013; BUDRYN et al., 2014; DZIKI et al., 2015; DÖNMEZ; MOGOL; GÖKMEN, 2017; ŚWIECA et al., 2017; ZAIN; BABA; SHORI, 2018; PEREIRA et al., 2020a). No grão destaca-se o ácido linoleico (ômega-6), que representa 46% de lipídeos livres totais e classificado como ácido graxo essencial (WEI; TANOKURA, 2015; GARG, 2016); os ácidos clorogênicos, metabólitos vegetais aromáticos, ésteres dos ácidos cinâmicos, como os ácidos caféico, ferúlico e *p*-coumárico e possuem múltiplos potenciais biológicos: atividades antioxidantes, antimutagênicas, anticarcinogênicas, antibacterianas e anti-inflamatórias, pois são altamente absorvidos e metabolizados pelo organismo humano (FARAH et al., 2008; DZIKI et al., 2015; SĘCZYK; ŚWIECA; GAWLIK-DZIKI, 2016; JAKUBCZYK, 2018; BHANDARKAR et al., 2019).

Mais abundante, o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-ACQ) é responsável por conferir adstringência, amargor e acidez. Associado à atividade antioxidante, antibacteriana, hepatoprotetora, cardioprotetora, anti-inflamatória, antipirética, neuroprotetora, antiobesidade, antiviral, antimicrobiana, anti-hipertensiva, estimulador do sistema nervoso central e modulador do metabolismo lipídico e da glicose (MADHAVA NAIDU et al., 2008; DZIKI et al., 2015; FELBERG et al., 2015; SĘCZYK; ŚWIECA; GAWLIK-DZIKI, 2016; BHANDARKAR et al., 2019; SOUZA, 2019).

A concentração dos ácidos clorogênicos totais e cafeína podem variar de acordo com a espécie, grau de maturação, práticas agrícolas, clima e solo (FARAH et al., 2008; JESZKA-SKOWRON; ZGOŁA-GRZEŚKOWIA; GRZEŚKOWIAK, 2015).

Os diterpenos cafestol e caveol estão presentes na fração lipídica insaponificável do óleo extraído do café verde. Alguns estudos mostram os efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios com potencial anticarcinogênico, além da inibição da produção de óxido nítrico (correlacionado as células inflamatórias) e da ciclo-oxigenase-2 (relacionada com angiogênese, desenvolvimento e progressão tumoral). Capazes de reagir com radicais livres para proteger danos ao DNA e com possível fator positivo contra o mal de Parkinson (KIM et al., 2004; KIM; JUNG; JEONG, 2004; CHOI et al., 2006; LEE; JEONG, 2007; HUBER, 2008; TRINH et al., 2010; TSUKUI; OIGMAN; REZENDE, 2014; OGASAWARA, 2015; SOUZA, 2019).

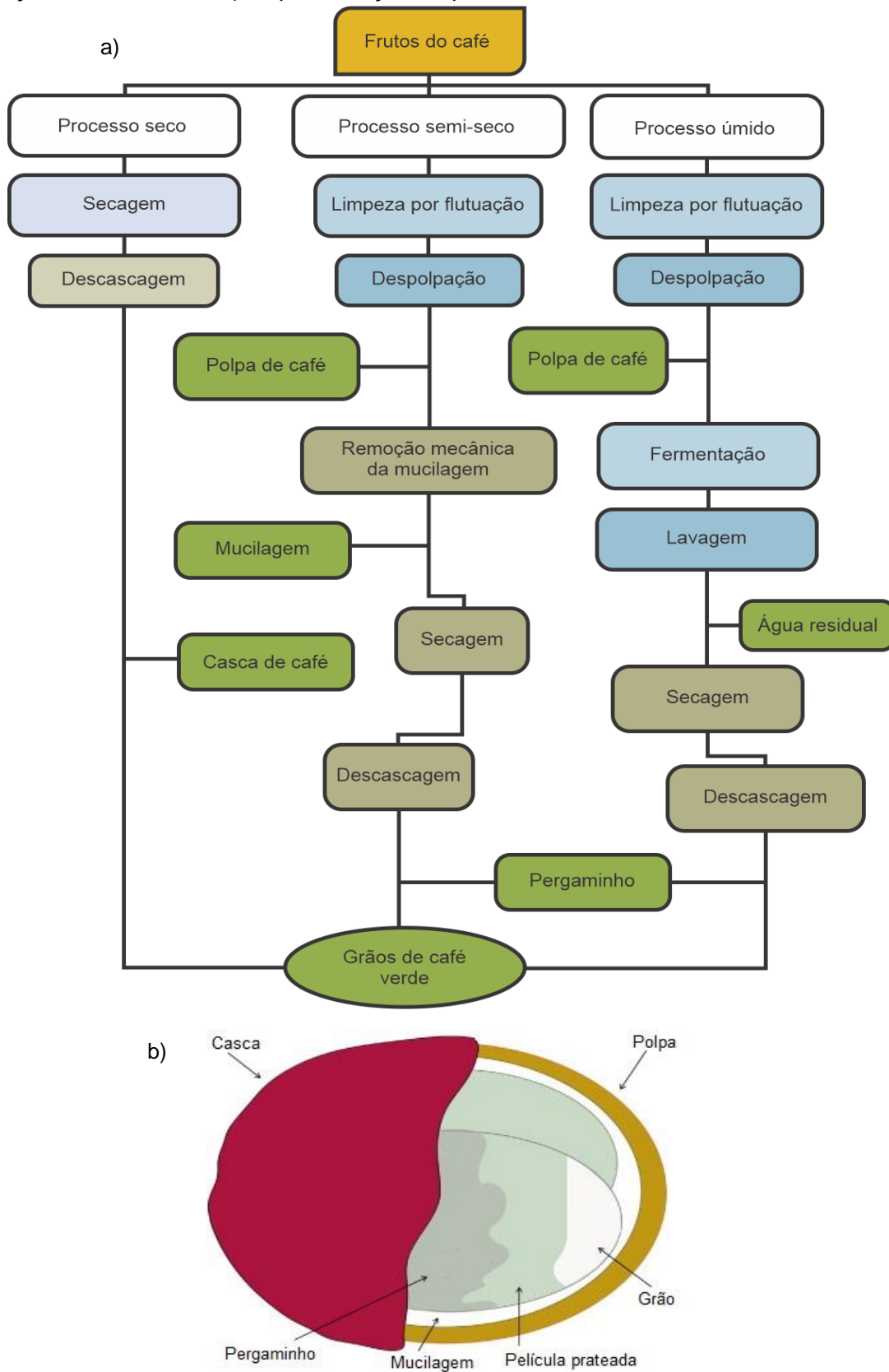
Nesse contexto, o objetivo desta dissertação consistiu em analisar a composição química dos compostos em grãos verdes de café, especiais e tradicionais, e diferenciá-los por meio de ferramentas quimiométricas. Para isso, os compostos fenólicos totais, os teores de cafeína, e de açúcares redutores, totais e não redutores foram quantificados e os perfis cromatográficos dos compostos voláteis e não voláteis foram obtidos. Além disso, imagens multiespectrais foram exploradas combinando com modelos de aprendizagem de máquina para classificação dos grãos de café verde, em especiais ou tradicionais.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Classificação do café verde

A classificação do café é influenciada por diversos fatores como: genética, sistema de cultivo, época de colheita, processo de manipulação e conservação, armazenamento e torrefação do grão. Café verde é o termo utilizado para o grão seco que não foi torrado e moído, mas que passou por beneficiamento prévio, conforme Figura 1a. Independentemente do processamento, o beneficiamento do fruto do café, remove os subprodutos (casca, polpa, pergaminho - endocarpo e mucilagem), obtendo o grão de café verde (Figura 1b). Recomenda-se a classificação dos grãos de cafés crus de acordo com a composição, sendo que os cafés especiais são constituídos de 100% de grãos de *Coffea arabica* de origem única ou misturados e sem grãos com defeitos. Os cafés tradicionais são constituídos de *Coffea arabica* ou misturados com até 30% de *Coffea canephora* e, com no máximo, 20% de grãos com defeitos (ICO, 2007; MORAIS et al., 2007; LIMA, 2010; ESQUIVEL & JIMÉNEZ, 2012; TORRES, 2012).

Figura 1 - Processo de beneficiamento do fruto do café. a) Tipos de processamento para obtenção do café verde. b) Representação do produto oriundo do fruto do café



Fonte: Adaptado de: Esquivel e Jiménez (2012); Gemechu (2020).

No Brasil, o Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para Classificação do Café Beneficiado Grão Cru (IN nº 8/2003), define o café beneficiado grão cru como o endosperma do fruto das inúmeras espécies *Coffea sp.* em especial a *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. A instrução normativa determina que as características utilizadas para classificar o café envolvem: a categoria; o formato e a granulometria; o aroma e sabor, sendo avaliado pela prova da xícara; a bebida e grupo que a pertence; a coloração; defeitos; matérias estranhas, e, impurezas presentes nos grãos. Além disso, há a Resolução SAA nº 19/2010, que define o café tradicional como constituído de grãos de *Coffea arabica* ou blends com o *Coffea canephora*, desde que limpos, sendo bebida mole a rio e que apresenta os requisitos estipulados pela resolução. Para o café especial, a Resolução SAA nº 31/2007, menciona que os grãos devem ser 100% *Coffea arabica*, de única origem ou *blends*, sendo bebida suave, de preferência bebida apenas mole ou mole ou estritamente mole (BRASIL, 2003; SÃO PAULO, 2007; 2010).

A prova da xícara, que consiste em análise sensorial para avaliar a qualidade do café, é realizada por avaliadores treinados e experientes. Para tanto, as amostras, de 3 a 10 xícaras, são preparadas de forma padronizadas e recebem atribuições numa escala de 0 a 10 para os seguintes parâmetros: sabor, gosto residual, aroma, acidez, corpo, equilíbrio, uniformidade, limpeza da xícara, doçura, defeitos e avaliação global. No Brasil, os métodos utilizados para realização dessa prova são os protocolos da Brazilian Speciality Coffee Association (BSCA) e Speciality Coffee Association of America (SCAA); sendo este último protocolo baseado na presença e ausência de defeitos e doçura e minimizando a subjetividade em relação aos outros protocolos, de modo a torná-lo mais adequado (ALVARADO; LINNEMANN, 2010; PEREIRA et al., 2016; BELCHIOR et al., 2019; ALCANTARA; DRESCH; MELCHERT, 2021; BEMFEITO et al., 2021).

2.2 Compostos fenólicos

Os componentes fenólicos são uma ampla classe química de metabólitos vegetais aromáticos, têm propriedade de remoção de radicais livres impedindo a iniciação, propagação e reações de β -clivagem (via de decomposição de ácidos graxos, gerando o ranço oxidativo). Estão presentes em frutos, folhas, legumes, vegetais, cereais, temperos, grãos, vinho, cerveja, café e chá. São derivados dos

ácidos hidroxibenzoicos (ácidos gálico, vanílico e siríngico) e dos ácidos hidroxicinâmicos (ácidos cafeico, ferúlico, *p*-coumárico e sináptico). Podem apresentar na forma insolúvel ou solúvel (livres ou conjugadas) nos alimentos, nos quais terão proporções diferentes. A forma insolúvel estará ligada covalentemente com a pectina, hemicelulose, lignina, proteínas e celulose da parede celular (FARAH; DONANGELO, 2006; ANGELO; JORGE, 2007; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNA-SALDÍVAR, 2014; GAO et al., 2017).

Os principais componentes fenólicos presentes no café verde são os ácidos hidroxicinâmicos (ácidos *p*-coumárico, cafeico e ferúlico), ácidos clorogênicos (principais componentes na fração fenólica) e seus ésteres (FARAH; DONANGELO, 2006).

Os ácidos clorogênicos são formados pela reação de esterificação, reação de condensação, catalisada na presença de ácidos, na qual álcoois de baixa massa molar reagem com os ácidos carboxílicos, formando ésteres. A reação de esterificação do ácido quínico com os ácidos hidroxicinâmicos, gera 5 grupos: os ácidos cafeoilquínicos (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA), ácidos *p*-coumaroilquinínicos (3-pCoQA, 4-pCoQA e 5-pCoQA), ácidos dicafeoilquinínicos (3,4-diCQA, 3,5-diCQA e 4,5-diCQA), ácidos feruloilquínicos (3-FQA, 4-FQA e 5-FQA) e os diésteres mistos de ácidos cafeoil-feruloil-quínico (3F,4CQA; 3C,4FQA; 3F,5-pCoQA; 3C,5FQA; 4F,5CQA e 4C,5FQA). Dentro desses grupos, são relatados 69 componentes presentes em grãos verdes de café (SOLOMONS; FRYHLE, 2002; CLIFFORD et al., 2003; FARAH; DONANGELO, 2006; WEI; TANOKURA, 2015).

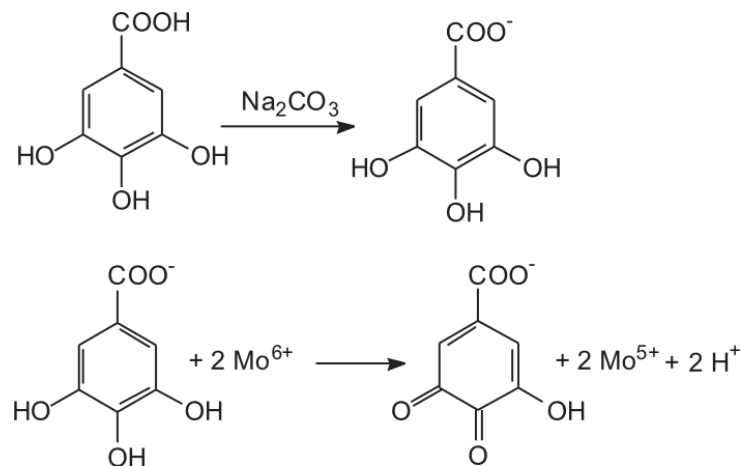
Os ácidos clorogênicos estão relacionados com o desenvolvimento de pigmentos, sabor e aroma dos grãos de café, principalmente na relação do nível de acidez, adstringência e amargura que irá conferir a bebida. Dessa forma, estão relacionados de maneira inversa com a qualidade do café: quanto maior o teor desses ácidos, menor será a qualidade da bebida (AYELIGN; SABALLY, 2013; ROSTAGNO et al., 2015; RICCI; PARPINELLO; VERSARI, 2018).

Para avaliar esses componentes, destaca-se a análise de compostos fenólicos totais (Método de Folin-Ciocalteu) e a cromatografia líquida de alta eficiência, que analisa de forma individual os componentes fenólicos. Além disso, pode-se utilizar a cromatografia gasosa para determinação de compostos fenólicos simples (inapropriado para os conjugados com açúcares), após derivatização química. Outra alternativa é a utilização da espectroscopia de infravermelho, que é uma ferramenta

rápida, precisa e não destrutiva, mas que exige tratamento quimiométrico para determinação dos compostos fenólicos em alimentos (ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNA-SALDÍVAR, 2014; BUNZEL; SCHENDEL, 2017).

A análise mais empregada, consiste na redução do reagente de Folin-Ciocalteu, constituído por mistura de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e de ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), pelos compostos fenólicos em meio alcalino formando complexo azul de molibdênio-tungstênio [$(PMoW_{11}O_4)^{4-}$], Figura 2 (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999; OLIVEIRA et al., 2009; BUNZEL; SCHENDEL, 2017; ROMERO, 2017).

Figura 2 - Reação do ácido gálico (composto fenólico) com molibdênio



Fonte: Oliveira et al. (2009).

2.3 Metilxantinas

As quatro principais metilxantinas naturais, compostos alcaloides, são a teofilina (1,3-dimetilxantina), teobromina (3,7-dimetilxantina), cafeína (1,3,7-trimetilxantina) e a paraxantina (1,7-dimetilxantina). A paraxantina é encontrada apenas em mamíferos; a teofilina, teobromina e a cafeína estão presentes em maior abundância em chá, cacau e café, respectivamente. Agem no sistema nervoso central, nos rins, nos músculos cardíacos e esquelético e na musculatura lisa. A cafeína tem a principal ação no sistema nervoso central, aumenta o nível de alerta e diminui o cansaço (BURDAN, 2015; BONETTI; BROMBO; ZULIANI, 2017; GALANTER; BOUSHEY, 2017).

No grão verde de café, a cafeína é o principal alcaloide encontrado e está correlacionada ao amargor da bebida. Nas plantas do gênero *Coffea*, da família Rubiaceae, a maior concentração de cafeína está nas espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, em que a concentração pode variar de acordo com o cultivar e a forma de cultivo. Estudos apontam que a espécie *Coffea canephora* apresenta teores maiores de cafeína em relação a espécie *Coffea arabica* (BURDAN, 2015; JESZKA-SKOWRON; ZGOŁA-GRZEŚKOWIA; GRZEŚKOWIAK, 2015).

A análise oficial recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) de cafeína é realizada pelo método espectrofotométrico em 274 nm. Também pode ser utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência em modo de fase reversa com coluna de C-18 e detecção em 280 nm (JESZKA-SKOWRON; ZGOŁA-GRZEŚKOWIA; GRZEŚKOWIAK, 2015).

2.4 Análise de carboidratos

O principal carboidrato presente no grão verde de café é a sacarose (açúcar não redutor), que está relacionado com as principais alterações organolépticas que ocorrem no grão durante o processo de torrefação. A maior concentração de sacarose encontra-se na espécie *Coffea arabica* (em torno de 8%), enquanto que a menor concentração é notada na espécie *Coffea canephora* (em torno de 4%). Além da sacarose, o grão de café verde possui açúcares redutores (frutose e glicose), que em média representam de 0,1% na espécie *Coffea arabica* e 0,4% na espécie *Coffea canephora* (BRADBURY, 2001; REDGWELL; FISCHER, 2006; PINHEIRO et al., 2021).

Para analisar açúcares em amostras alimentícias, destaca-se alguns métodos espectrofotométricos: fenol-ácido sulfúrico (açúcares totais); Lane-Eynon (açúcares totais, redutores e não redutor); ácido dinitrosalicílico (DNS) (açúcares totais, redutores e não redutor); Somogyi-Nelson (açúcares totais, redutores e não redutor). Além disso, pode-se utilizar a cromatografia gasosa com derivatização química, a cromatografia líquida, métodos enzimáticos e espectroscopia de infravermelho próximo (BEMILLER, 2017).

A determinação de açúcares redutores, totais e não redutores pelo método de Somogyi-Nelson, consiste na redução de Cu(II) para Cu(I) na presença de açúcares redutores. Os íons de Cu(I), por sua vez, irão reduzir o complexo de arsenomolibdato, produzindo o azul de molibdênio (com máxima absorção em 520 nm). Para que ocorra a determinação dos açúcares totais, há a necessidade da realização da hidrólise dos açúcares não redutores promovida por hidrólise enzimática ou ácida. Esse método apresenta algumas vantagens em relação aos outros, evitando problemas quando se utiliza a glicose como padrão, como é o caso do método de DNS, além de ser mais sensível e confiável (NELSON, 1944; BREUIL; SADDLER, 1985; BEMILLER, 2017; SHAO; LIN, 2018).

2.5 Análise de componentes voláteis

A composição dos compostos orgânicos voláteis (VOCs) no café verde está diretamente ligada aos fatores genéticos, edafoclimáticos, colheita e pós-colheita, às condições de armazenamento e transporte desses grãos, enquanto que a do café torrado está diretamente ligada ao processo de torrefação pelo qual o grão passa. A composição dos VOCs em grãos verdes de cafés também pode estar relacionada com a qualidade, pois o perfil volátil pode ser potencial marcador de grãos defeituosos e de baixa qualidade (LEE; SHIBAMOTO, 2002; YERETZIAN et al., 2019).

Vários trabalhos na literatura relatam a utilização da cromatografia a gás, tanto que no café verde foram identificados mais de 300 VOCs, enquanto que no café torrado foram mais de 1.000 VOCs (HOLSCHER; STEINHART, 1995; FLAMENT, 2001; LEE; SHIBAMOTO, 2002). Na Tabela 1, são apresentados alguns VOCs presentes no café verde e as respectivas concentrações, descrições olfativas e limiares de odores.

Tabela 1 - Alguns compostos voláteis presentes no grão de café verde

Compostos	Concentração (ppm)	Descrição olfativa	Limiar de odor (ppm)
Acetaldeído	1,60 - 5,00	Pungente, nauseante, ácido, penetrante, frutado, verde e doce.	0,022
Acetona	0,60 - 5,00	Nauseante, penetrante em alta concentração e doce em baixa concentração	300 - 500
Metanol	5,00 - 15,00	Suave	8,00
Etanol	0,20 - 4,00	Alcoólico e doce	53 - 900
Iso-amílico	0,10 - 0,20	Asfixiante, desagradável, acre, pungente, alcoólico, frutado-vinho, banana e pera	0,20 - 0,77
Dimetilsulfureto	0,10 - 3,50	Extremamente repulsivo, forte, verde, parecido com repolho	0,0003 - 0,06
Propanal	0,05 - 0,40	Penetrante, sufocante e, em altas diluições, café torrado	0,17
Diacetil	0,07 - 0,30	Manteiga e pungente	0,0054 - 0,015

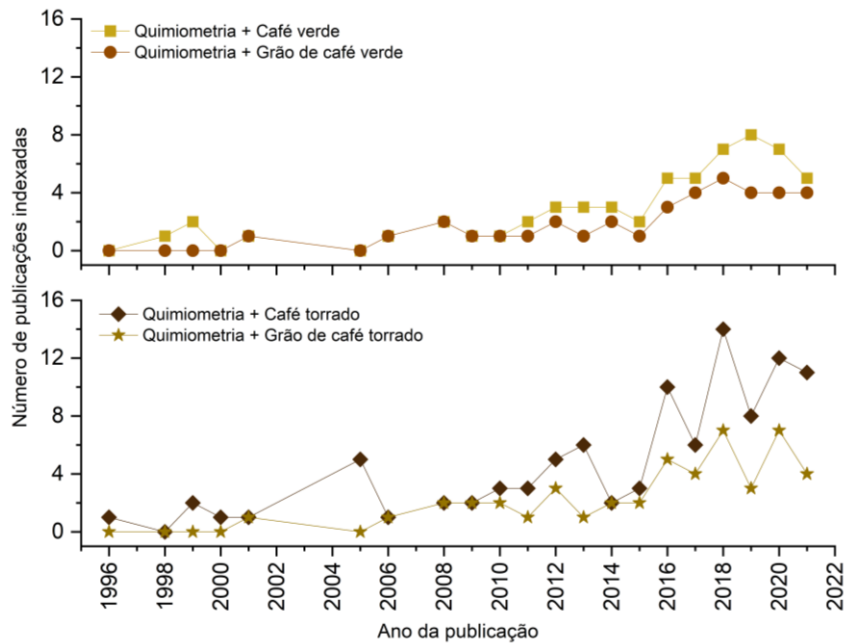
Fonte: Holscher; Steinhart (1995); Flament (2001); Gonzalez-Rios et al. (2007); Elhalis et al. (2020).

2.6 Análise quimiométrica e espectral em alimentos

A quimiometria consiste na aplicação da matemática, estatística e lógica para o planejamento ou otimização de procedimentos experimentais e, ainda, para a extração máxima de informações químicas relevantes por meio da análise de dados (IUPAC, 2019). Com a modernização da instrumentação analítica e com a grande quantidade de dados produzidos, a análise quimiométrica é uma ferramenta de grande importância para obtenção de diversas informações do que está sendo avaliado (FERREIRA, 2015).

Diante dessa importância, realizou-se busca na base de dados *Web of Science* referente à produção científica com as palavras-chaves “Quimiometria + Café verde” (59 publicações indexadas), “Quimiometria + Grão de café verde” (37 publicações indexadas), “Quimiometria + Café torrado” (98 publicações indexadas) e “Quimiometria + Grão de café torrado” (47 publicações indexadas), no período 1996 - 08/2021, Figura 3.

Figura 3 - Produção científica com as palavras-chaves “Quimiometria + Café verde”, “Quimiometria + Grão de café verde”, “Quimiometria + Café torrado” e “Quimiometria + Grão de café torrado”

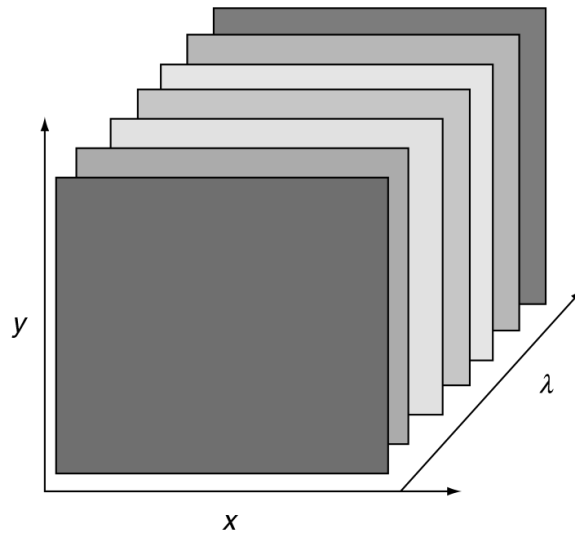


Fonte: Autor. Consulta à base de dados *Web of Science* em 25 agosto de 2021.

Na Figura 3 é observado que a utilização da quimiometria aplicada na avaliação do café torrado foi pouco explorada e, muito menos no café verde. Demonstrando que há espaço para pesquisa e desenvolvimento de modelos quimiométricos aplicados.

As análises quimiométricas podem ser exploradas com a análise multiespectral (multispectral imaging - MSI) ou análise multibanda. Consiste em capturar conjunto de imagens da mesma região espacial em diferentes comprimentos de onda. Esses comprimentos de onda são discretos e específicos e não podem ser considerados espectros. Esta técnica utiliza a combinação da espectroscopia e imagens para obter a imagem espectral, a qual é composta de imagens bidimensionais criando um cubo tridimensional com eixos x , y e λ (regiões espectrais), conforme a Figura 4. Para aquisição de imagens, o sistema é integrado ao dispositivo de carga acoplada (CCD), filtros ópticos e diodos emissores de luz (LEDs), específicos na faixa espectral ultravioleta, visível, infravermelho, fluorescência e outras do espectro eletromagnético (TRETTER; MEMON; BOUMAN, 2005; THIGPEN; SHAH, 2010; AMIGO, 2020), para gerar imagens de reflectância e/ou autofluorescência.

Figura 4 - Representação do cubo tridimensional das imagens espectrais



Fonte: Thigpen e Shah (2010).

Na indústria de alimentos, a MSI tem sido utilizada para verificar em tempo real a qualidade dos alimentos quanto à autenticidade, degradação, contaminação, defeitos, aspectos naturais, químicos e microbiológicos. A ampla aplicação se deve ao fato de possibilitar a extração e análise de dados em bandas estreitas e descontínuas, com maior velocidade na aquisição e processamento dos dados (o que normalmente não ocorre na análise hiperespectral, por exemplo), portanto, atendendo a demanda necessária da indústria de alimentos (CALVINI; AMIGO; ULRICI, 2017; SU; HE; SUN, 2017; SU; SUN, 2018).

Na indústria do café, tem ocorrido interesse crescente no aprimoramento de técnicas analíticas para avaliar a qualidade dos grãos de café verdes, pois a composição afeta diretamente a qualidade da bebida. A qualidade é avaliada pelo teste da xícara, no qual os cafés com notas acima de 80 são classificados como especiais, independentemente da espécie, cultivo ou processamento. Este teste consiste em análise sensorial realizada por analistas treinados e experientes. No entanto, a precisão dos resultados pode ser influenciada devido a expertise que alguns analistas treinados possuem em determinados tipos de café (ABREU et al., 2020; DE MELO PEREIRA et al., 2020; BEMFEITO et al., 2021).

Incluem nas técnicas analíticas utilizadas para avaliação da qualidade do grão, a ressonância magnética nuclear (MONAKHOVA et al., 2015), ressonância magnética nuclear de carbono-13 (WEI et al., 2012), eletroforese 2-D (GIL-AGUSTI et al., 2005), nariz e língua eletrônica (BURATTI et al., 2015), espectroscopia NIR

(ESTEBAN-DIEZ; GONZÁLEZ-SÁIZ; PIZARRO, 2004; MYLES; ZIMMERMAN; BROWN, 2006; ESTEBAN-DÍEZ et al., 2007; SANTOS et al., 2012), imagem hiperespectral (FIORE et al., 2008; BACKHAUS; BOLLENBECK; SEIFFERT, 2011; CALVINI; ULRICI; AMIGO, 2015), imagens digitais (ARBOLEDA; FAJARDO; MEDINA, 2018), sistemas de visão computacional (KILIÇ et al., 2007; DE OLIVEIRA et al., 2016; GARCÍA; CANDELO-BECERRA; HOYO, 2019; HUANG; CHOU; LEE, 2019) e modelo simulando MSI (CALVINI; AMIGO; ULRICI, 2017). Verificação de defeitos em café verde por análise hiperespectral (OLIVERI et al., 2019), ou ainda, a cromatografia líquida de alta eficiência, espectroscopia ultravioleta-visível e, espectroscopia de infravermelho médio são usadas para detectar diferenças entre o café torrado especial e o tradicional (ABREU et al., 2020). No entanto, essas técnicas analíticas apresentam algumas desvantagens, como alta complexidade e preparo de amostras que dependem de outros métodos de análise química, processamento e interpretação dos dados (MANLEY; BAETEN, 2018). Além disso, a literatura está amplamente focada na qualidade do grão de café em relação às espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* ou nas características físicas, mas não foram abordadas classificações especiais e tradicionais (FERREIRA et al., 2021).

O emprego da MSI é atrelado a aplicação de modelos de aprendizado de máquina para desenvolver métodos analíticos que irão verificar autenticidade, classificação, adulterações e não conformidades em alimentos de forma rápida e confiável (JIMÉNEZ-CARVELO et al., 2019). Diferentes algoritmos foram testados para esta finalidade, como o extreme gradient boosting (XGBoost) - algoritmo robusto para variáveis com ruído ou dados redundantes, que tem mostrado precisão preditiva e desempenho satisfatório em análises espectrais (CHENG et al., 2020) - com a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) para avaliar a qualidade interna dos alimentos (LI et al., 2018); o gradient boosting with categorical features support (CatBoost) - algoritmo que pode lidar com atributos heterogêneos e ruído (HUANG et al., 2019) - para verificar o estado de segurança alimentar (WESTERVELD et al., 2021); o random forest (RF) - algoritmo com bom desempenho para previsão de dados complexos e não lineares (ZHANG et al., 2020) - com NIR para prever a concentração de pigmento alimentar (LIU et al., 2020); partial least squares regression (PLS) e support vector machine (SVM) - algoritmo conhecido pela robustez em diversas tarefas de classificação (PAL; MATHER, 2005; STEINWART; CHRISTMANN, 2008; SHMILOVICI, 2009) - para categorizar alimentos crus usando

espectroscopia infravermelha com transformada de Fourier (FTIR) (TSAKANIKAS et al., 2020) e o multiscale fusion convolutional neural network (MCNN) e bidirectional long-short-term memory network (BILSTM) com base em dados espectrais de Fourier NIR para classificar cominho e anis (CHEN et al., 2021).

Na química de alimentos, o algoritmo SVM tem apresentado melhor desempenho em comparação com outros algoritmos, incluindo avaliação da autenticidade do café (BARBOSA et al., 2014), classificação da origem geográfica do café (BONA et al., 2017), controle de qualidade da uva (LIU; WHITTY, 2015), classificação da composição fenólica no mel (ALUGLU et al., 2017), adulteração e discriminação do suco de tomate (MAIONE et al., 2016) e classificação do azeite (JIMÉNEZ-CARVELO et al., 2017).

A MSI é muito recente no setor cafeeiro. Chemura et al. (2018) empregaram para mapear nitrogênio em plantações de café; Da Rocha Miranda et al. (2020) utilizavam para avaliar a presença de necrose em grãos de café; De Oliveira Pires, De Carvalho Alves e Pozza (2020) para a caracterização da epidemia de ferrugem em cafés. Silva, Varela e Lezama (2020) utilizaram para verificar a presença de pragas e doenças na produção de café.

O desenvolvimento de técnicas analíticas para classificar os grãos de café pode contribuir com a indústria cafeeira de forma decisiva. A aplicação de tecnologias de imagem multiespectrais, em particular, pode ser interessante devido à maior agilidade na obtenção e processamento dos dados, auxiliando na tomada de decisões com rapidez e eficácia.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os grãos de café verde especiais e tradicionais empregados apresentaram as características descritas na Tabela 2. As amostras dos grãos foram moídas em moinho de facas e padronizadas em peneira de 20 mesh. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos com média \pm desvio padrão.

Tabela 2 - Características das amostras de café verde especiais e tradicionais

Classificação da amostra	Código	Espécie	Cidade	Estado	Altitude	Pontuação (prova da xícara)
Especial	E1	<i>C. arabica</i>	Cassia	MG	740	92,25
Especial	E2	<i>C. arabica</i>	Cristais Paulista	SP	996	93,08
Especial	E3	<i>C. arabica</i>	Jeriquara	SP	860	84,00
Especial	E4	<i>C. arabica</i>	Ribeirão Corrente	SP	855	90,46
Especial	E5	<i>C. arabica</i>	Ibiraci	MG	1054	84,00
Especial	E6	<i>C. arabica</i>	Ibiraci	MG	1054	89,60
Especial	E7	<i>C. arabica</i>	Ibiraci	MG	1054	86,20
Especial	E8	<i>C. arabica</i>	Ibiraci	MG	1054	89,42
Especial	E9	<i>C. arabica</i>	Ibiraci	MG	1054	86,20
Especial	E10	<i>C. arabica</i>	Ribeirão Corrente	SP	855	86,00
Tradicional	T1	NI*	Tupi Paulista	SP	400	NI*
Tradicional	T2	NI*	Piumhi	MG	793	NI*
Tradicional	T3	<i>C. arabica</i>	Varginha	MG	980	NI*
Tradicional	T4	NI*	Murutinga do Sul	SP	409	NI*
Tradicional	T5	NI*	Murutinga do Sul	SP	409	NI*
Tradicional	T6	NI*	Americana	SP	545	NI*
Tradicional	T7	NI*	Santa Cruz do Rio Pardo	SP	467	NI*
Tradicional	T8	<i>C. arabica</i>	Varginha	MG	980	NI*

Fonte: Autor. *NI: Não informado.

3.1 Reagentes e equipamentos

Todas soluções foram preparadas com água deionizada (18,2 M Ω cm a 25 °C) e os reagentes utilizados de grau analítico: ácido clorídrico, ácido acético, acetaldeído, acetona, etanol, álcool iso-amílico, metanol, acetonitrila; ácido gálico, reagente Folin-Ciocalteu, glicose, cafeína, ácido 3-hidroxibenzoico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido clorogênico, ácido cafeico, trigonelina, ácido nicotínico, 5-hidroximetilfurfural, catequina, ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido cinâmico, carbonato de potássio, sulfato de cobre, carbonato de sódio, bicarbonato de sódio, tartarato de sódio e potássio, sulfato de sódio, molibdato de amônio, hidróxido de sódio, ácido sulfúrico e arseniato dibásico de sódio.

No preparo das soluções e análises foram empregados estufa de secagem (Quimis, modelo Q317M-42), banho de ultrassom (Ultra Cleaner, modelo 1450), balança analítica (Mettler Toledo, modelo ME104), pHmetro (MS TecnoPON, modelo mPA-210), agitador magnético (Tecnal, modelo TE-0851), banho-maria Dubnoff (Quimis, modelo 0226M1) e centrífuga (Quimis, modelo Q222T).

3.2 Preparo das amostras

3.2.1 Análises espectrofotométricas e de cafeína

As análises de compostos fenólicos totais (conforme item 3.3), cafeína (conforme item 3.4), açúcares redutores e açúcares totais (conforme item 3.5), foram realizadas com 5,5% (m/v) das amostras pelo método de infusão com água a 93°C em contato por 5 minutos, com posterior filtração convencional para obtenção dos extratos (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2009).

3.2.2 Análises cromatográficas dos compostos não voláteis

Nas análises dos compostos não voláteis (conforme item 3.6), foi utilizado método por infusão com avaliação de três métodos de extrações e duas diluições (1:15 e 1:50, v/v), conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Métodos de extrações avaliadas para realização das análises cromatográficas dos componentes não voláteis

Referências	Descrição de preparo
Chambel et al. (1997)	1,00 g da amostra e 150 mL de água (90°C), permanecendo em contato por 2 minutos. O extrato foi transferido para balão volumétrico de 200 mL, avolumado e filtração em papel de filtro convencional
Specialty Coffee Association of America (2009)	5,50 g da amostra e 100 mL de água (93°C), permanecendo em contato por 5 minutos, com filtração posterior em papel de filtro convencional
Angeloni et al. (2018)	25,00 g de amostra no papel de filtro e 250 mL de água (90°C)

Fonte: Autor.

3.2.3 Análises cromatográficas dos compostos voláteis

Na determinação de compostos voláteis (conforme item 3.7), foi avaliado o método por infusão com emprego de 5,5% (m/v) das amostras em água a 93°C em contato por 5 minutos com posterior extração por headspace (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2009).

3.2.4 Análise multiespectral

Para obtenção das imagens multiespectrais (conforme item 3.9), foram empregadas as amostras especiais (E1 a E10) e tradicionais (T1, T2, T3, T5, T7, T8). As amostras tradicionais T4 e T6 não foram utilizadas por falta de grãos. Para cada amostra, foram separados 64 grãos (totalizando 1024 grãos, sendo 384 tradicionais e 640 especiais) de forma aleatória e colocados em placas de Petri de vidro de 9 cm, sem tratamento prévio.

3.3 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

A análise de compostos fenólicos foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu, usando ácido gálico como padrão analítico e as leituras foram realizadas no espectrofotômetro UV-Vis (AGILENT, modelo Cary 60) equipado com cubeta com 1 cm de caminho óptico. Alíquota do extrato (600 µL), da amostra diluída (1:50 (v/v)) foi transferida para tubo tipo Falcon® de 15 mL e 3000 µL da solução do reagente Folin-Ciocalteu 10% (v/v) foram adicionadas. Após cinco minutos, foram

adicionadas 2250 μL de solução de carbonato de potássio 7,5% (m/v). A mistura foi mantida a temperatura ambiente e protegida da luz por 40 minutos com posterior leitura espectrofotométrica em 770 nm (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999).

3.4 Determinação de cafeína por HPLC

Os extratos das amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,45 μm e diluídas na proporção de 1:50 (v/v). Cromatógrafo líquido de alta eficiência foi empregado (PerkinElmer®, modelo Flexar) com detector de arranjo de diodos (DAD), coluna PerkinElmer® Brownie Analytical C8 (100 mm x 4,6 mm - 5 μm) e volume de injeção de 20 μL por amostra. A fase móvel em modo isocrático foi constituída por água e metanol (60:40, v/v) e vazão de 1,0 mL min^{-1} . As leituras foram realizadas em 274 nm (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008; BELGUIDOUM et al., 2014).

3.5 Determinação de açúcares redutores, não redutores e totais

O método de Somogyi adaptado por Nelson foi empregado para determinação de açúcares redutores e totais, enquanto que os açúcares não redutores foram determinados pela diferença entre os redutores e totais. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro UV-Vis (AGILENT, modelo Cary 60) equipado com cubeta com 1 cm de caminho óptico. Uma alíquota do extrato da amostra (2 mL) foi retirada para promover a hidrólise ácida com 2 mL de ácido clorídrico 2 mol L^{-1} e aquecida em banho maria em ebulição (100°C) por 10 minutos. Em seguida, as amostras foram colocadas em banho de gelo e adicionado 2 mL de hidróxido de sódio 2 mol L^{-1} . Dessa hidrólise, 0,25 mL foi retirado para o ensaio de Somogyi-Nelson.

O ensaio de Somogyi-Nelson consistiu na adição de 0,25 mL da amostra (hidrolisada ou não hidrolisada) em tubo de ensaio com posterior adição do reagente de Somogyi-Nelson I (0,5 mL), aquecimento em ebulição (100°C) por 6 minutos e banho de gelo por 5 minutos. Após, foi adicionado 0,5 mL do reagente de Somogyi-Nelson II descanso de 5 minutos em temperatura ambiente, diluição com 6,25 mL de água e a leitura espectrofotométrica foi realizada em 540 nm (NELSON, 1944).

3.6 Determinação dos compostos não voláteis

Para a análise cromatográfica dos compostos fenólicos não voláteis, cromatógrafo líquido de alta eficiência foi empregado (AGILENT, modelo 1100) com detector de comprimento de onda variável (VWD - UV/Vis), coluna AGILENT Eclipse XDB-C18 (4,6 x 250 mm - 5 μ m), vazão 0,8 mL min⁻¹ e fase móvel constituída por (A) 5% de ácido acético em água e (B) acetonitrila, com eluição isocrático: 95% A e 5% B, adaptado de Vignoli et al. (2014). O volume de amostra injetado no sistema foi de 20 μ L e leituras nos comprimentos de onda de 274, 280 e 320 nm foram realizadas.

A identificação dos compostos foi realizada pela comparação do perfil obtido com o perfil cromatográfico dos padrões analíticos, ácido 3-hidroxibenzoico (3-HB) (280 nm), ácido 4-hidroxibenzoico (4-HB) (274 nm), ácido clorogênico (320 nm), ácido cafeico (320 nm), trigonelina (280 nm), ácido nicotínico (280 nm) e 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF) (280 nm).

3.7 Determinação dos compostos voláteis

Cromatógrafo gasoso foi empregado (PerkinElmer®, modelo Clarus 600) com detector de ionização de chama (FID) e amostrador automático com *headspace* (CTC Analytics, Pal System), coluna NOVA-WAX (30 m x 0,25 mm - 0,25 μ m) da Nova Analítica. Os gases empregados foram nitrogênio (1,2 mL min⁻¹), hidrogênio (45 mL min⁻¹) e ar sintético (450 mL min⁻¹), todos com alto grau de pureza (99,999%). A temperatura do injetor foi 150°C e a temperatura da coluna foi programada para 45°C por 3 min, com aquecimento a uma taxa de 7,5°C min⁻¹, até 60°C e, por fim, uma taxa de 15°C min⁻¹ até chegar 165°C, totalizando corrida de 12 min. A temperatura do detector foi 300°C. As condições do *headspace* foram massa da amostra de 0,55 g em vial de 20 mL, tempo de aquecimento de 5 minutos, temperatura do forno de 80°C, agitação por 500 rpm e volume de coleta e injeção de 1,5 mL, velocidade de 500 μ L s⁻¹ e “split” de 1:30 (LEE; SHIBAMOTO, 2002; BANDEIRA et al., 2009).

A identificação dos compostos foi realizada comparando o perfil obtido com o perfil cromatográfico dos padrões analíticos acetaldéido, acetona, metanol, etanol e álcool iso-amílico.

3.8 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os LDs (para as análises espectrofotométricas e cromatográficas) foram estimados por meio dos parâmetros da curva analítica, sendo expresso pela equação $LD = 3,3 \times s/a$, onde s é o desvio padrão do coeficiente linear e a é o valor do coeficiente angular. Os LQs (para as análises espectrofotométricas e cromatográficas) adotados foram a concentração mais baixa analisada (o primeiro ponto de cada curva analítica) e adotou como critério adicional, o desvio padrão relativo inferior a 20%, a fim de garantir a confiabilidade da quantificação e a qualidade da análise (ARAGÃO; VELOSO; ANDRADE, 2009; MARASCO JUNIOR et al., 2021).

3.9 Análise multiespectral

As imagens foram capturadas e analisadas pelo sistema VideometerLab4™ (Videometer A/S, Herlev, Denmark) e software versão 3.14.9. Este instrumento garante a iluminação difusa e homogênea da amostra através de 19 LEDs estroboscópicos controlados com precisão, espaçados ao redor da circunferência interna de uma esfera integradora colocada na área alvo (abertura inferior). Na aquisição das imagens, a esfera integradora desce para envolver completamente a amostra e eliminar a interferência de luz ambiente. O software VideometerLab4™ possui dois modos independentes: (i) refletância pura ou (ii) refletância/fluorescência, no qual as rodas de filtro são usadas para separar as emissões fluorescentes decorrentes da excitação em cada comprimento de onda do LED.

Imagens de refletância monocromáticas foram capturadas primeiramente para cada um dos 19 LEDs (estroboscópios sequenciais) - 365 (UVA), 405 (violeta), 430 (índigo), 450 (azul), 470 (azul), 490 (ciano), 515 (verde), 540 (verde), 570 (amarelo), 590 (âmbar), 630 (vermelho), 645 (vermelho), 660 (vermelho), 690 (vermelho profundo), 780 (vermelho profundo), 850 (NIR), 880 (NIR), 940 e 970 (NIR). Em seguida, usando o modo de troca de filtro, imagens de autofluorescência foram capturadas usando 13 LEDs de excitação (365, 405, 430, 450, 470, 490, 515, 540, 570, 590, 630, 645 e 660 nm) e quatro long-pass (LP) (400, 500, 600 e 700 nm), proporcionando um total de 28 combinações diferentes de excitação/emissão (LED/filtro) - 365/400, 365/500, 405/500, 430/500, 450/500, 470/500, 365/600, 405/600, 430/600, 450/600, 470/600, 490/600, 515/600, 540/600, 570/600, 365/700,

405/700, 430/700, 450/700, 470/700, 490/700, 515/700, 540/700, 570/700, 590/700, 630/700, 645/700 e 660/700.

Imagens multiespectrais de reflectância e autofluorescência (2192×2192 pixels; $40 \mu\text{m pixel}^{-1}$) foram geradas em uma única sequência durante 1 min. A configuração da luz foi calibrada usando uma amostra representativa contendo grãos de café verde especiais e tradicionais, o que resultou em melhor relação sinal-ruído. O tempo de strobe para cada tipo de iluminação foi otimizado e salvo para todas as imagens subsequentes. As calibrações radiométricas e geométricas foram realizadas usando três alvos de calibração: (i) disco uniforme brilhante, (ii) disco uniforme escuro e (iii) disco geométrico (pontos pretos em uma grade retangular) (GALLETTI et al., 2020).

Técnica de segmentação de imagem baseada em limites foi aplicada para separar os grãos de café verde do fundo, de modo que a cada pixel do fundo fosse atribuído um valor zero. Posteriormente, os dados de refletância e autofluorescência (valores em tons de cinza) foram extraídos da região de interesse (ROI) usando a caixa de ferramentas do software blob (binary large object). Cada gota representava um grão de café verde.

Todas as imagens foram transformadas por análise discriminante canônica normalizada (nCDA) para discriminar as diferentes classes de café verde com base no padrão espectral. Este algoritmo emprega média aparada de 10% para eliminar a influência de outliers (os 10% mais baixos e os 10% mais altos dos dados) (BARBOZA DA SILVA et al., 2021), e transforma imagens de escala de cinza em pontuação com vermelho-verde-códigos de cores azuis (BIANCHINI et al., 2021) para destacar os sinais de refletância/autofluorescência pixel a pixel. Nas imagens de refletância, cada pixel contém um valor que varia de acordo com a cor, textura e composição química da amostra (OLIVEIRA et al., 2021). Os valores de pixel em imagens de autofluorescência dependem da concentração de compostos químicos fluorescentes (fluoróforos) (Barboza da Silva et al., 2021).

3.10 Análise espectrofluorimétrica

Espectrofluorímetro (modelo Varian, Cary Eclipse) foi utilizado para obtenção da fluorescência dos seguintes padrões analíticos catequina; cafeína; trigonelina e ácidos ferúlico, clorogênico, cafeico, sinápico, gálico, cinâmico e 4-hidroxibenzoico

(SOMPORN et al., 2011; BELGUIDOUM et al., 2014; WEI; TANOKURA, 2015; MUÑOZ et al., 2020). Cubeta de quartzo de 10 mm com emprego de larguras de fenda dos monocromadores de excitação e emissão de 5,0 nm e combinação de excitação-emissão em 405/500 nm.

3.11 Análises estatística, quimiométrica e supervisionada

Os resultados dos teores dos compostos quantificados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk, Levene e *t* de Student a nível de significância de $\alpha = 0,05$, utilizando o software RStudio (Versão 1.3.1093). Os dados de 3-hidroxibenzoico, 5-hidroximetilfurfural, acetaldeído, ácido cafeico e nicotínico, etanol, etanol/metanol, iso-amílico e metanol passaram pela transformação de Johnson (JOHNSON, 1949), seguiram com distribuição normal, utilizando o software Minitab® (Versão 19.2020.1) para posterior avaliação dos testes Levene e *t* de Student.

Para investigar as variáveis químicas (teores finais das análises realizadas) que influenciaram na relação das amostras foi empregada a Análise de Componentes Principais (PCA) por meio do software OriginPro 2021 (Student Version 9.8.0.200) (ORIGINPRO, 2021) seguindo o autoescalamento dos dados.

3.11.1 Análise dos dados multiespectrais

A PCA (não supervisionada) foi aplicada inicialmente como análise exploratória para avaliar as variáveis que influenciavam na diferenciação entre cafés especiais e tradicionais usando o software OriginPro 2021 (Student Version 9.8.0.200) (ORIGINPRO, 2021), seguindo o autoescalamento dos dados. Após, foi empregado quatro algoritmos de classificação supervisionada: i) SVM - hiperparâmetros utilizados foram: $C = 3,0$; ii) RF - hiperparâmetros utilizados foram: *n_estimators*: 500 e *max_depth*: 5; iii) XGBoost - hiperparâmetros utilizados foram: *n_estimators*: 100, *max_depth*: 3 e iv) CatBoost - hiperparâmetros utilizados foram: *n_estimators*: 100, *max_depth*: 10. Os hiperparâmetros foram otimizados com base na precisão do modelo a partir da validação cruzada de 5 vezes, logo os hiperparâmetros escolhidos foram os que apresentaram melhor precisão nos modelos.

Os modelos foram construídos com dados separados na proporção de 80:10:10 para conjuntos de calibração, validação e teste, respectivamente, e divididos aleatoriamente. Para a validação, foi aplicado o método de validação cruzada K-fold que dividiu o conjunto de dados m em grupos K , ou dobras, de tamanho igual. A primeira dobra foi tratada como conjunto de validação e o método foi ajustado nos $K-1$ grupos restantes, ou dobras. Neste estudo, o valor de K usado foi 5 (LANGFORD, 2005; RODRIGUEZ; PEREZ; LOZANO, 2009; HAN; KAMBER; PEI, 2011). Além disso, o desempenho dos modelos foi avaliado usando a área sob a curva (AUC) para os dados do conjunto teste (MANDREKAR, 2010).

O modelo SVM apresentou a melhor AUC e foi empregado para calcular os coeficientes para avaliação das variáveis mais importantes. Os coeficientes obtidos da SVM linear representam as coordenadas vetoriais que são ortogonais ao hiperplano utilizado para maximizar a distância entre as classes. Como a direção indica o rótulo previsto, o tamanho absoluto dos coeficientes pode ser usado para determinar a importância do recurso para a tarefa de classificação (HASTIE et al., 2009).

Matriz de confusão foi usada para obter as métricas de desempenho aplicando os modelos de aprendizado de máquina: precisão = $TP/(TP+FP)$, sensibilidade = $TP/(TP+FN)$, especificidade = $TN/(TN+FP)$, acurácia = $(TP+TN)/(TP+TN+FP+FN)$ e F-score = $(2 \times ((\text{Precisão} \times \text{Sensibilidade})/(\text{Precisão} + \text{Sensibilidade})))$ (SOKOLOVA; LAPALME, 2009). Considerando que as taxas de verdadeiro positivo (TP) e verdadeiro negativo (TN) são amostras que foram classificadas corretamente como positivas e negativas, respectivamente. Por outro lado, FN (falso negativo) e FP (falso positivo) são as amostras que foram classificadas incorretamente como negativas e positivas, respectivamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras dos grãos verdes foram identificadas como E1-E10 para cafés especiais e T1-T8 para cafés tradicionais.

Nas Tabelas 4, 5 e 6, são apresentadas as faixas de concentrações dos analitos, as equações da reta, os coeficientes de correlação, os limites de quantificação e de detecção, empregados nas análises das amostras especiais e tradicionais.

Tabela 4 - Curvas analíticas dos compostos não voláteis

Analito	Amostra	Concentração (mg L ⁻¹)	Equação da Reta	R ²	LQ (mg L ⁻¹)	LD (mg L ⁻¹)
Cafeína	Especial	5 - 75	Área = 1058 + 51092 C	0,999	5,00	0,98
	Tradicional		Área = 15924 + 41516 C	0,999	5,00	1,04
Ácido 3- hidroxibenzoico	Especial	0,15 - 8 /	Área = 1 + 10 C /	0,999 /	0,15 /	0,09 /
	Tradicional	4 - 64	Área = (-1) + 11 C	0,998	4,00	2,26
Ácido 4- hidroxibenzoico	Especial	0,50 - 24 /	Área = 7 + 74 C /	0,999 /	0,50 /	0,13 /
	Tradicional	12 - 90	Área = 33 + 73 C	0,999	12,00	0,45
Ácido clorogênico	Especial	5 - 110	Área = 54 + 41 C	0,999	5,00	0,92
	Tradicional					
Ácido cafeico	Especial	0,50 - 8 /	Área = (-6) + 62 C /	0,999 /	0,50 /	0,11 /
	Tradicional	4 - 64	Área = (-70) + 67 C	0,999	4,00	0,41
Trigonelina	Especial	2,50 - 49	Área = 3 + 9 C	0,999	2,50	0,70
	Tradicional					
Ácido nicotínico	Especial	0,40 - 9,50	Área = (-1) + 5 C	0,999	0,40	0,10
	Tradicional					
5- hidroximetilfurfural	Especial	0,05 - 1,50	Área = 2 + 248 C	0,999	0,05	0,01
	Tradicional					

Fonte: Autor.

Tabela 5 - Curvas analíticas das análises espectrofotométricas

Análise	Amostra	Concentração (mg L ⁻¹)	Equação da Reta	R ²	LQ (mg L ⁻¹)	LD (mg L ⁻¹)
Compostos fenólicos totais	Especial	10 - 50	$A = 0,018 + 0,011 C$	0,999	10,00	1,76
	Tradicional		$A = 0,008 + 0,011 C$	0,999	10,00	1,07
Açúcares redutores e totais	Especial	50 - 800	$A = (-0,036) + 0,001 C$	0,999	50,00	13,67
	Tradicional					

Fonte: Autor.

Tabela 6 - Curvas analíticas dos compostos voláteis

Analito	Amostra	Concentração (mg L ⁻¹)	Equação da Reta	R ²	LQ (mg L ⁻¹)	LD (mg L ⁻¹)
Acetaldeído	Especial	0,005 - 0,25 /	Área = 31 + 471 C /	0,998 /	0,005 /	0,001 /
	Tradicional	0,25 - 25	Área = 143 + 60 C	0,997	0,25	0,11
Acetona	Especial	0,005 - 0,25 /	Área = 9 + 143 C /	0,992 /	0,005 /	0,001 /
	Tradicional	0,25 - 25	Área = 40 + 67 C	0,999	0,25	0,14
Metanol	Especial	5 - 200	Área = 2 + 7 C	0,999	5,00	1,15
	Tradicional					
Etanol	Especial	5 - 200	Área = (-1) + 17 C	0,999	5,00	1,38
	Tradicional					
Iso-amílico	Especial	0,005 - 0,25	Área = 1 + 131 C	0,993	0,005	0,001
	Tradicional					

Fonte: Autor.

4.1 Análise de compostos fenólicos totais

A Tabela 7 apresenta os resultados das análises de compostos fenólicos totais nas diferentes amostras de café verde especial e tradicional.

Tabela 7 - Teores de compostos fenólicos totais nas amostras de café verde especial e tradicional

Amostra	Compostos fenólicos totais (g de ácido gálico 100 g⁻¹ de café verde)
E1	2,99 ± 0,08
E2	3,83 ± 0,06
E3	3,62 ± 0,06
E4	3,57 ± 0,07
E5	2,59 ± 0,10
E6	2,67 ± 0,10
E7	3,30 ± 0,01
E8	3,32 ± 0,06
E9	3,51 ± 0,07
E10	3,56 ± 0,06
T1	2,76 ± 0,09
T2	3,12 ± 0,03
T3	1,67 ± 0,05
T4	2,43 ± 0,06
T5	2,40 ± 0,02
T6	3,32 ± 0,05
T7	3,10 ± 0,02
T8	2,26 ± 0,03

Fonte: Autor.

O teor de compostos fenólicos totais para amostras classificadas como especial variou de $2,59 \pm 0,10$ até $3,83 \pm 0,06$ g de ácido gálico por 100 g de café verde, enquanto nas amostras classificadas como tradicional, a variação foi de $1,67 \pm 0,05$ até $3,32 \pm 0,05$ g de ácido gálico por 100 g de café verde.

Ao avaliar os testes de Shapiro-Wilk e Levene (Tabela 8), os dados foram normais e homogêneos, respectivamente, em virtude do valor- p ser maior que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%. Além disso, o teste t de Student bicaudal para as duas amostras independentes, demonstrou que existe diferença significativa entre os teores de compostos fenólicos totais (valor- $p = 0,010$, menor que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%). O teor de compostos fenólicos totais do café verde especial apresentou, em média, teores superiores ao café verde tradicional, Tabela 8.

Tabela 8 - Testes estatísticos para avaliação de efeito nos teores de compostos fenólicos totais

Classificação da amostra	Shapiro-Wilk (valor-p)	Levene (valor-p)	t calculado	valor-p	Teor médio (g de ácido gálico 100 g⁻¹ de café verde)
Especial	0,22	0,37	2,93	0,010	3,30 ± 0,42
Tradicional	0,67				2,63 ± 0,55

Fonte: Autor.

Na literatura, os valores encontrados para os compostos fenólicos totais variam de 0,41 a 10,56 g de ácido gálico por 100 g de café verde (KITZBERGER et al., 2013; BELGUIDOUM et al., 2014; VIEIRA, 2015; PALMIERI, 2017; CHENG et al., 2019; SOUZA, 2019), o que compreendem os teores encontrados neste trabalho. A diferença de teores pode ser resultado dos métodos de extração, solventes utilizados e fatores edafoclimáticos (LIMA et al., 2010; BUNZEL; SCHENDEL, 2017).

4.2 Análise de cafeína

Os resultados dos teores de cafeínas nas diferentes amostras de café verde são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Teores de cafeína nas amostras de café verde especial e tradicional

Amostra	Cafeína (g de cafeína 100 g ⁻¹ de café verde)
E1	0,98 ± 0,07
E2	0,79 ± 0,01
E3	0,87 ± 0,01
E4	1,05 ± 0,10
E5	0,73 ± 0,02
E6	0,71 ± 0,01
E7	0,96 ± 0,07
E8	0,90 ± 0,01
E9	0,80 ± 0,01
E10	0,92 ± 0,05
T1	1,00 ± 0,01
T2	1,00 ± 0,01
T3	0,93 ± 0,01
T4	0,93 ± 0,01
T5	1,22 ± 0,01
T6	1,12 ± 0,01
T7	1,09 ± 0,01
T8	1,03 ± 0,03

Fonte: Autor.

O teor de cafeína para amostras classificadas como especial variou de $0,71 \pm 0,01$ até $1,05 \pm 0,10$ g de cafeína por 100 g de café verde, enquanto que nas amostras classificadas como tradicional, a variação foi de $0,93 \pm 0,01$ até $1,22 \pm 0,01$ g de cafeína por 100 g de café verde.

Os testes de Shapiro-Wilk e Levene (Tabela 10), classificaram os dados em normais e homogêneos, respectivamente, o valor- p foi maior que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%. Teste t de Student bicaudal foi aplicado para as amostras que apresentam diferença significativa no teor de cafeína (valor- $p = 0,004$, menor que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%). O teor de cafeína do café verde especial apresentou, em média, teores inferiores ao café verde tradicional, conforme a Tabela 10. O maior teor de cafeína no café verde tradicional pode estar relacionado com a presença da espécie *Coffea canephora* na composição das amostras, que apresentam maiores teores de cafeína em relação a espécie *Coffea arabica*, o que é permitido pela legislação (SÃO PAULO, 2010; PINHEIRO et al., 2021).

Tabela 10 - Testes estatísticos para avaliação de efeito nos teores de cafeína

Classificação	Shapiro-Wilk	Levene	t calculado	valor-p	Teor médio
	(valor-p)	(valor-p)			(g de cafeína 100 g ⁻¹ de café verde)
Especial	0,85	0,56	-3,32	0,004	0,87 ± 0,11
Tradicional	0,56				1,04 ± 0,10

Fonte: Autor.

Os teores de cafeína obtidos para as amostras estão dentro da faixa relatada na literatura de 0,91 até 2,72 g de cafeína por 100 g de café verde (KITZBERGER et al., 2013; BELGUIDOUM et al., 2014; MACHEINER et al., 2019; SOUZA, 2019). Diferenças entre os teores obtidos podem ser relacionadas com a forma de extração, os solventes empregados e por fatores edafoclimáticos (LIMA et al., 2010; BUNZEL; SCHENDEL, 2017).

4.3 Análise de açúcares redutores, não redutores e totais

A Tabela 11 apresenta os resultados das análises de açúcares redutores, não redutores e totais nas diferentes amostras de café verde.

Tabela 11 - Teores de açúcares nas amostras de café verde especial e tradicional

Amostra	Açúcares redutores	Açúcares não redutores	Açúcares Totais
	(g de glicose 100 g ⁻¹ de café verde)		
E1	0,86 ± 0,20	4,64 ± 0,14	5,50 ± 0,30
E2	0,96 ± 0,05	6,07 ± 0,83	7,02 ± 0,83
E3	0,59 ± 0,11	5,45 ± 0,19	6,05 ± 0,08
E4	0,81 ± 0,12	5,21 ± 0,23	6,02 ± 0,17
E5	1,21 ± 0,15	4,59 ± 0,24	5,80 ± 0,20
E6	0,72 ± 0,05	3,47 ± 0,53	4,19 ± 0,52
E7	0,98 ± 0,04	4,94 ± 0,43	5,92 ± 0,39
E8	1,07 ± 0,03	6,92 ± 0,17	7,99 ± 0,20
E9	0,88 ± 0,11	5,51 ± 0,06	6,39 ± 0,16
E10	0,88 ± 0,11	4,95 ± 0,40	5,83 ± 0,47
T1	0,88 ± 0,15	2,01 ± 0,45	2,89 ± 0,39
T2	1,07 ± 0,08	3,33 ± 0,04	4,41 ± 0,04
T3	0,61 ± 0,19	2,34 ± 0,27	2,95 ± 0,12
T4	1,15 ± 0,04	3,32 ± 0,13	4,47 ± 0,11
T5	0,91 ± 0,04	2,52 ± 0,35	3,43 ± 0,34
T6	0,87 ± 0,05	3,34 ± 0,22	4,21 ± 0,25
T7	1,02 ± 0,04	2,77 ± 0,44	3,79 ± 0,40
T8	0,75 ± 0,07	2,43 ± 0,49	3,18 ± 0,42

Fonte: Autor.

O teor de açúcares redutores para amostras classificadas como especial variou de $0,59 \pm 0,11$ até $1,21 \pm 0,15$ g de glicose por 100 g de café verde, enquanto que nas amostras classificadas como tradicional, a variação foi de $0,61 \pm 0,19$ até $1,15 \pm 0,04$ g de glicose por 100 g de café verde. O teor de açúcares não redutor, a variação foi de $3,47 \pm 0,53$ até $6,92 \pm 0,17$ g de glicose por 100 g de café verde e de $2,01 \pm 0,45$ até $3,34 \pm 0,22$ g de glicose por 100 g de café verde nas amostras especial e tradicional, respectivamente. Para o teor de açúcares totais, houve variação de $4,19 \pm 0,52$ até $7,99 \pm 0,20$ g de glicose por 100 g de café verde para as amostras especial, enquanto que para as amostras tradicional, houve a variação de $2,89 \pm 0,39$ até $4,47 \pm 0,11$ g de glicose por 100 g de café verde.

Os testes de Shapiro-Wilk e Levene (Tabela 12) comprovaram que os dados foram normais e homogêneos, respectivamente, sendo o valor- p foi maior que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%. E o teste t de Student bicaudal para as amostras demonstrou que não existe diferença significativa no teor de açúcares redutores (valor- $p = 0,891$, maior que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%).

Para os teores de açúcares não redutores e totais, houve diferença significativa, pois os valores de p foram menores que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%.

Tabela 12 - Testes estatísticos para avaliação de efeito nos teores de açúcares

Análise	Classificação	Shapiro-Wilk (valor- p)	Levene (valor- p)	t calculado	valor- p	Teor médio (g de glicose 100 g ⁻¹ de café verde)
Açúcares redutores	Especial	0,99	0,91	-0,14	0,891	0,90 ± 0,17
	Tradicional	0,93				0,91 ± 0,17
Açúcares não redutores	Especial	0,87	0,35	6,60	0,001	5,18 ± 0,92
	Tradicional	0,20				2,76 ± 0,52
Açúcares Totais	Especial	0,40	0,81	5,95	0,001	6,07 ± 0,98
	Tradicional	0,28				3,67 ± 0,65

Fonte: Autor.

Os teores obtidos para açúcares redutores, não redutores e totais para as amostras quantificadas não foram diferentes dos descritos pela literatura, que variam de 0,09 a 0,84 g, 0,04 a 8,08 g e 0,18 a 8,26 g de glicose por 100 g de café verde, respectivamente (DE NOVAES et al., 2013; AGNOLETTI et al., 2019; KITZBERGER et al., 2020). O fato das amostras especiais terem apresentado maior teor médio explica, a melhor qualidade desse tipo de café, sobretudo por que a sacarose, que é maior fração de açúcar não redutor presente no grão de café verde, é precursora de compostos responsáveis pelo aroma da bebida, após o processo de torrefação (CAMPA et al., 2004). Vale ressaltar que existe a possibilidade de diferenças entre os teores obtidos, que não interferem na avaliação, pois estão relacionados à forma de extração, aos solventes empregados e também aos fatores edafoclimáticos (LIMA et al., 2010; BUNZEL; SCHENDEL, 2017).

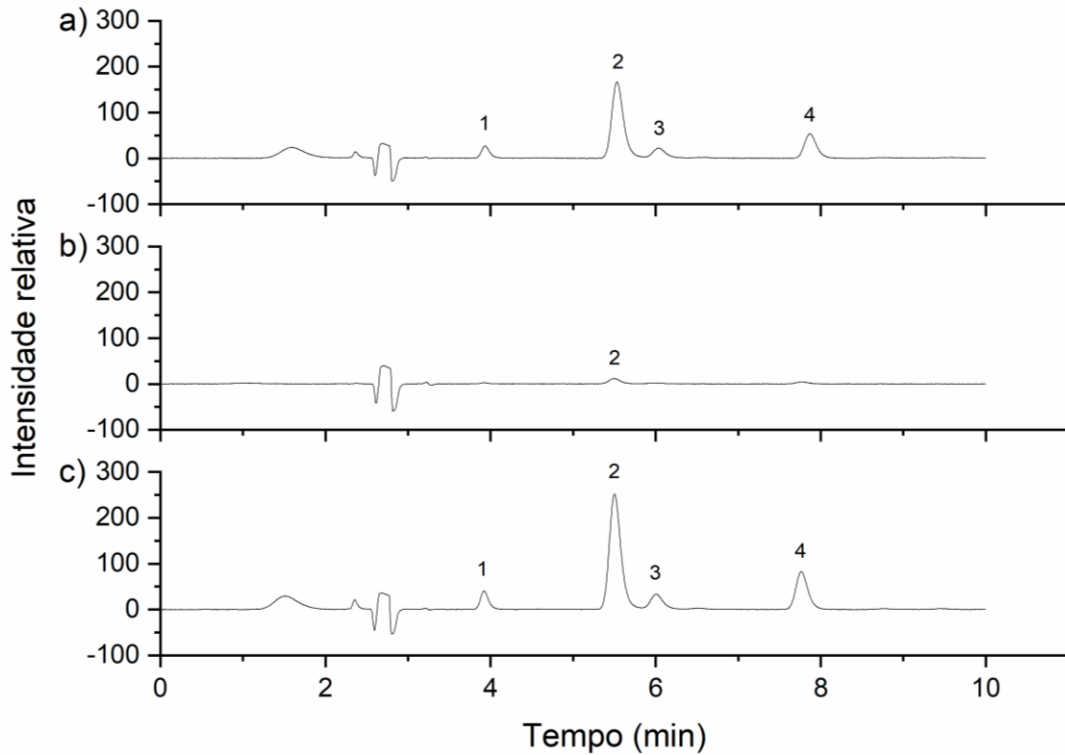
4.4 Análise de compostos não voláteis

4.4.1 Avaliação do método de extração e diluição

A avaliação do método de extração e diluição (Tabela 3) foi realizada para adoção de quais dos procedimentos seriam empregados nas análises de compostos não voláteis.

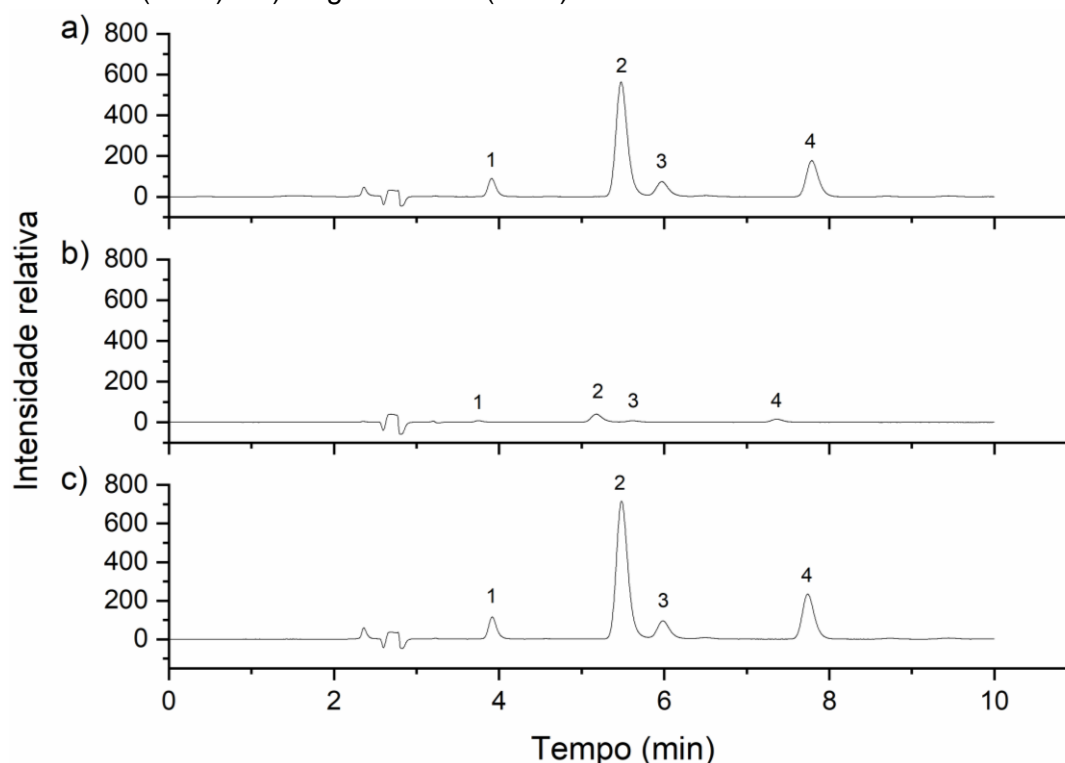
Os perfis cromatográficos são apresentados nas Figuras 5 e 6 com diluições de 1:50 e 1:15 (v/v), respectivamente. A identificação dos picos 1 a 4 não foi realizada e o método de extração foi selecionada em função da área do pico 4.

Figura 5 - Perfil cromatográfico para o extrato obtido em 280 nm na diluição 1:50 (v/v). Métodos de extrações empregadas: a) Specialty Coffee Association of America (2009); b) Chambel et al. (1997) e c) Angeloni et al. (2018).



Fonte: Autor.

Figura 6 - Perfil cromatográfico para o extrato obtido em 280 nm na diluição 1:15 (v/v). Métodos de extrações empregadas: a) Specialty Coffee Association of America (2009); b) Chambel et al. (1997) e c) Angeloni et al. (2018)



Fonte: Autor.

A Tabela 13 apresenta os valores das áreas obtidas para os diferentes métodos avaliados para extração.

Tabela 13 - Valores das áreas para o pico 4 dos perfis cromatográficos apresentados nas Figuras 5 e 6

Extração	1:15 (v/v)	1:50 (v/v)
Specialty Coffee Association of America (2009)	1.863.159,03	555.049,51
Chambel et al. (1997)	146.438,86	ND*
Angeloni et al. (2018)	2.410.878,02	853.136,85

Fonte: Autor. *ND: Não detectado

Diante dos perfis cromatográficos (Figuras 5 e 6) e das áreas obtidas para as diferentes extrações e diluições (Tabela 13), a extração indicada por Specialty Coffee Association of America (2009) foi selecionado com a diluição de 1:15 (v/v). Além de apresentar área do pico satisfatória é o mesmo procedimento de extração usado para a realização da avaliação da classificação do café como tradicional e como especial.

A equação abaixo foi empregada para avaliação da resolução do pico 3 em relação ao pico 2, na Figura 6 (Tabela 14) e acetona foi utilizada para avaliar o tempo de um composto não retido na coluna (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; SKOOG et al., 2017):

$$R_S = \frac{t'_{R3} - t'_{R2}}{1/2(w_{b2} + w_{b3})}$$

Tabela 14 - Dados cromatográficos para o cálculo de resolução para a diluição 1:15 (v/v)

Dados	Specialty Coffee Association of America (2009)		Chambel et al. (1997)		Angeloni et al. (2018)	
	Pico 2	Pico 3	Pico 2	Pico 3	Pico 2	Pico 3
	Tempo de retenção ajustado (t'_R)	2,80	3,29	2,50	2,94	3,10
Largura de base (w_b)	0,53	0,36	0,39	0,30	0,49	0,37
Resolução (R_S)	1,11		1,30		1,16	

Fonte: Autor.

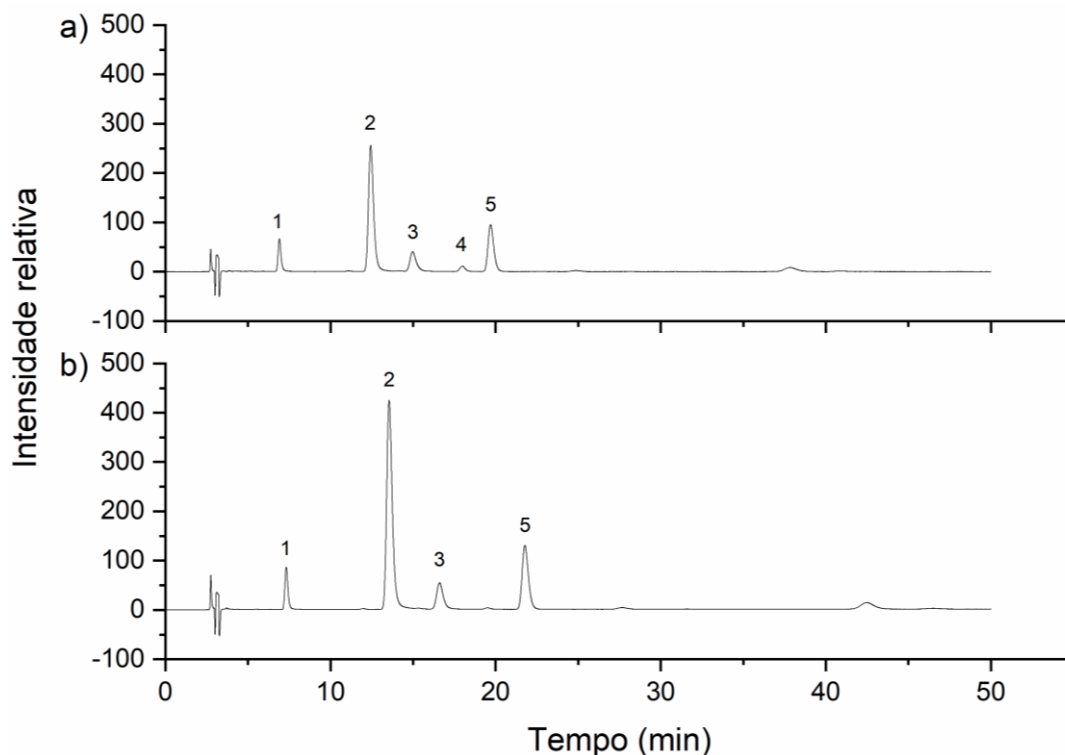
Conforme a Tabela 14, a resolução do pico número 3 em relação ao pico 2 (Figura 6) ficou abaixo de 1,25 na extração Specialty Coffee Association of America (2009) e Angeloni et al. (2018), demonstrando separação inadequada. A extração de Chambel et al. (1997) apresentou resolução acima de 1,25, sendo adequado para quantificação (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). No entanto, essa extração apresentou área inferior aos demais métodos (Tabela 13), optando por modificar os parâmetros de eluição para melhorar a eficiência de separação dos analitos nos métodos Specialty Coffee Association of America (2009) e Angeloni et al. (2018). Como ponto de partida, foram empregados os parâmetros cromatográficos descritos por Vignoli et al. (2014) até chegar nos parâmetros constantes da Tabela 15, obtendo-se o perfil cromatográfico indicado na Figura 7.

Tabela 15 - Condições cromatográficas otimizadas

Parâmetros	
Modo	Isocrático
Vazão	0,8 mL min ⁻¹
Fase móvel A (95%)	5% (v/v) de Ácido acético
Fase móvel B (5%)	Acetonitrila
Tempo de corrida	50 minutos

Fonte: Autor.

Figura 7 - Perfil cromatográfico para as condições otimizadas em 280 nm. Métodos empregados nas extrações: a) Specialty Coffee Association of America (2009) e b) Angeloni et al. (2018)



Fonte: Autor.

Na Figura 7, o perfil cromatográfico obtido para as extrações propostas por Specialty Coffee Association of America (2009) (Figura 7a) e Angeloni et al. (2018) (Figura 7b) apresentou diferença apenas quanto ao pico 4.

A extração de Chambel et al. (1997) não foi realizada por apresentar as menores áreas no estudo anterior, reforçando a opção pelo protocolo da Specialty Coffee Association of America (2009), pois quanto mais analitos avaliados, melhor é a busca pela diferenciação entre os cafés especiais e tradicionais.

Os cálculos de resolução das condições cromatográficas otimizadas para ambas as extrações estão na Tabela 16.

Tabela 16 - Dados cromatográficos para o cálculo de resolução referente às condições cromatográficas otimizadas de Vignoli et al. (2014) para as extrações Specialty Coffee Association of America (2009) e Angeloni et al. (2018)

Dados	Specialty Coffee Association of America (2009)		Angeloni et al. (2018)	
	Pico 2	Pico 3	Pico 2	Pico 3
Tempo de retenção ajustado (t'_R)	9,69	12,22	10,80	13,85
Largura de base (w_b)	1,18	1,13	1,21	1,09
Resolução (R_s)	2,19		2,65	

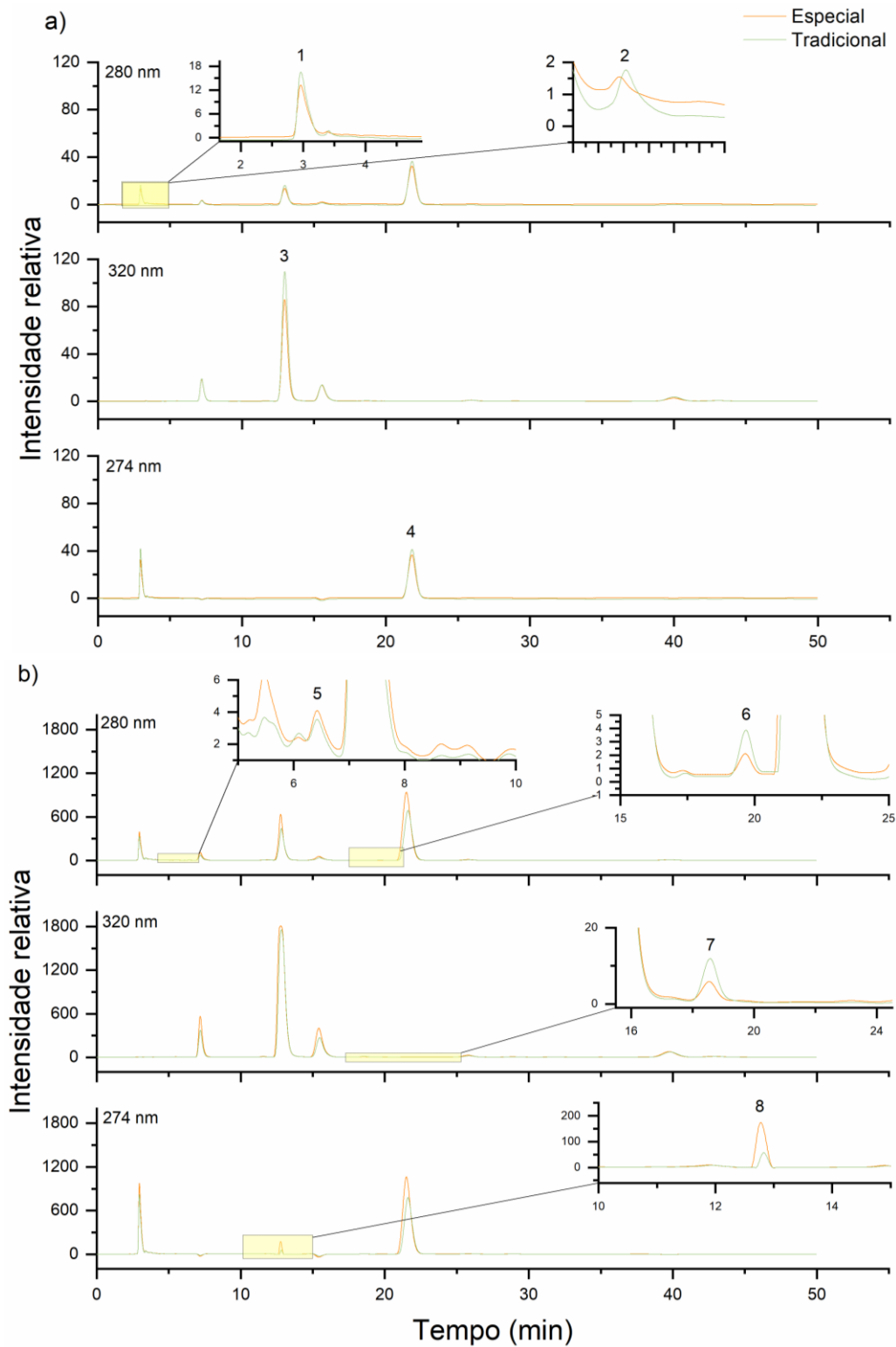
Fonte: Autor.

As resoluções permaneceram acima de 1,5 nas metodologias avaliadas (Tabela 16), a extração da Specialty Coffee Association of America (2009) foi a selecionada devido a presença do pico 4 (Figura 7a) e como mencionado anteriormente, por ser a utilizada nas classificações das amostras de café (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; SKOOG et al., 2017).

4.4.2 Determinação dos compostos não voláteis

As amostras de café verde especial e tradicional, apresentaram o mesmo perfil cromatográfico, somente diferindo a área dos picos identificados (Figura 8). A partir dos perfis cromatográficos dos padrões analíticos, foi possível identificar os compostos. Na Figura 8a, foram identificados os compostos trigonelina (2,94 min), ácido nicotínico (3,42 min), cafeína (21,48 min), e ácido clorogênico (12,87 min), mediante a diluição de 1:15 (v/v). Na Figura 8b, tem a identificação dos compostos 5-hidroxiacetilfurfural (6,44 min), ácido 4-hidroxibenzoico (12,78 min), ácido 3-hidroxibenzoico (19,72 min) e ácido cafeico (18,63 min), que foram identificados passando as amostras sem diluição, pois apresentaram baixa concentração ou estavam abaixo do limite de quantificação e detecção.

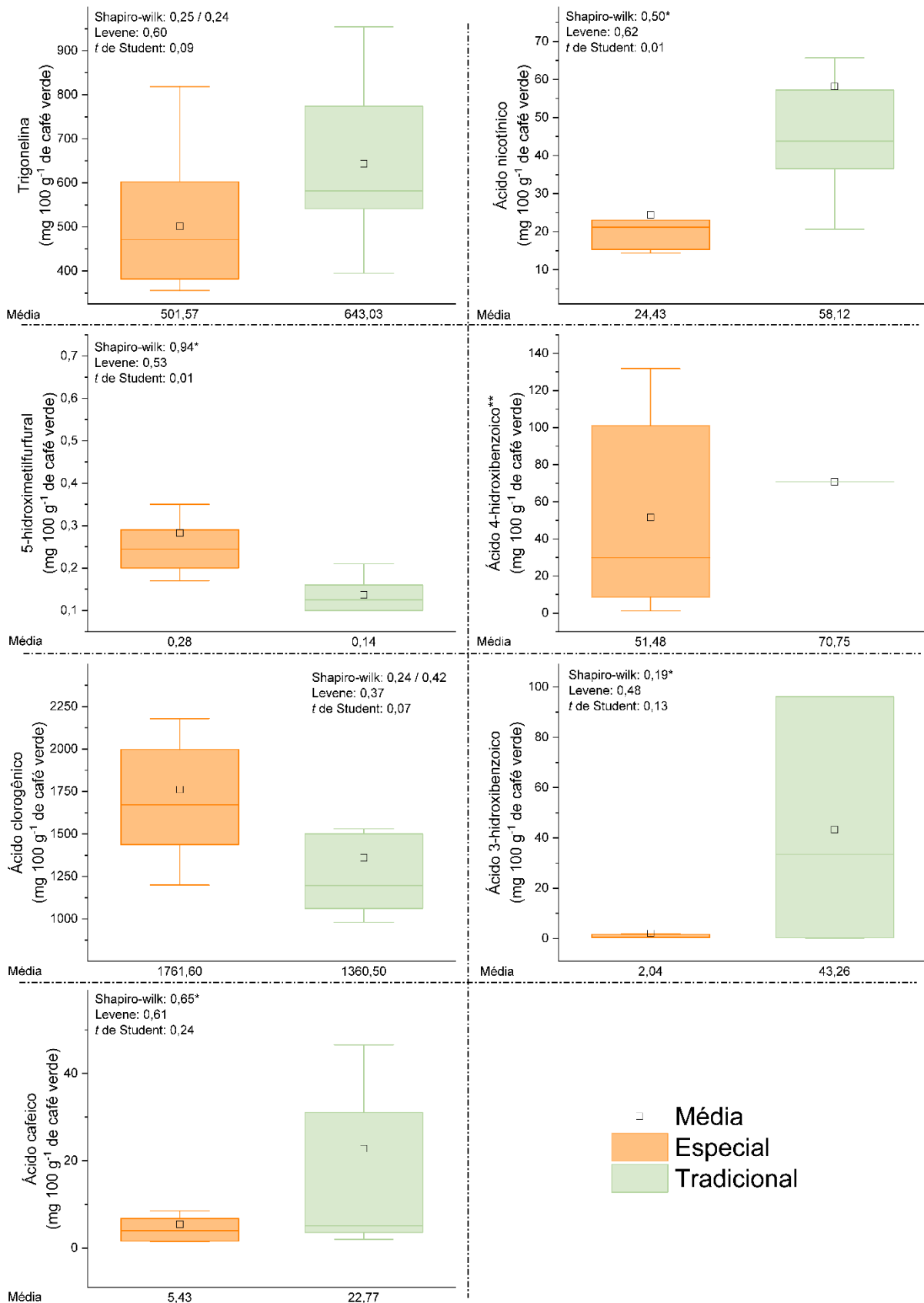
Figura 8 - Perfis cromatográficos das amostras especiais e tradicionais. a) Amostra com diluição de 1:15 (v/v), analitos identificados: trigonelina (1), ácido nicotínico (2), ácido clorogênico (3) e cafeína (4). b) Amostra sem diluição, analitos identificados: 5-hidroximetilfurfural (5), ácido 3-hidroxibenzoico (6), ácido cafeico (7) e ácido 4-hidroxibenzoico (8)



Fonte: Autor.

Os testes de Shapiro-Wilk e Levene (Figura 9) demonstraram dados normais e homogêneos, respectivamente e valor- p maior que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%. O teste t de Student bicaudal para as amostras, não apresentou diferença significativa nos teores de trigonelina, ácido clorogênico, ácido 3-HB e ácido cafeico. Os valores obtidos de p foram maiores que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%. Para os teores de ácido nicotínico e 5-hidroximetilfurfural houve diferença significativa, com valores de p menores que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%. E o ácido 4-HB não foi comparado estatisticamente entre as amostras especiais e tradicionais, pois apenas uma única amostra do café verde tradicional continha o composto, conforme a Tabela 17.

Figura 9 – Boxplot dos testes estatísticos para avaliação dos teores dos compostos não voláteis entre os grãos de café especiais e tradicionais



Fonte: Autor. *Valor-p obtidos pela transformação de Johnson (1949) para distribuição normal dos dados. **Não foi possível efetuar a comparação entre as médias.

Na Tabela 17, são apresentados os resultados obtidos para a determinação dos compostos não voláteis nas diferentes amostras de café verde especial e tradicional, os quais podem diferir da literatura, em decorrência da forma de extração, dos solventes empregados e fatores edafoclimáticos (LIMA et al., 2010; BUNZEL; SCHENDEL, 2017).

Tabela 17 - Teores de compostos não voláteis nas amostras de café verde especial e tradicional

Amostra	Trigonelina	Ácido Nicotínico	5-hidroxiacetilfurfural	Ácido 4-hidroxi benzoico	Ácido Clorogênico	Ácido 3-hidroxi benzoico	Ácido Cafeico
	(mg 100 g ⁻¹ de café verde)						
E1	355,50 ± 0,25	19,37 ± 0,79	0,35 ± 0,01	126,05 ± 3,76	1282 ± 1	1,60 ± 0,09	1,49 ± 0,09
E2	480,40 ± 9,10	20,79 ± 1,33	0,29 ± 0,01	131,79 ± 4,76	1997 ± 1	12,47 ± 0,07	8,52 ± 0,22
E3	621,60 ± 3,24	21,45 ± 0,74	0,18 ± 0,01	14,44 ± 6,28	2179 ± 4	ND*	3,51 ± 0,33
E4	475,85 ± 4,47	21,58 ± 4,01	0,20 ± 0,01	45,26 ± 5,69	1701 ± 2	0,33 ± 0,21	4,00 ± 0,24
E5	466,20 ± 1,07	36,75 ± 1,14	0,27 ± 0,01	ND*	1437 ± 3	0,77 ± 0,04	1,58 ± 0,11
E6	602,24 ± 5,34	56,44 ± 6,44	0,22 ± 0,01	ND*	1839 ± 20	0,35 ± 0,03	1,51 ± 0,08
E7	366,15 ± 0,36	15,31 ± 3,96	0,20 ± 0,01	7,71 ± 2,14	1199 ± 260	0,29 ± 0,04	3,96 ± 0,28
E8	447,49 ± 9,79	15,27 ± 3,44	0,17 ± 0,01	1,16 ± 0,15	1644 ± 3	0,35 ± 0,02	4,76 ± 0,03
E9	381,86 ± 2,60	14,37 ± 0,48	0,27 ± 0,01	76,08 ± 2,72	1457 ± 1	0,39 ± 0,06	6,74 ± 0,05
E10	818,42 ± 1,13	23,01 ± 1,44	0,68 ± 0,01	9,32 ± 0,56	2881 ± 1	1,83 ± 0,33	18,24 ± 0,60
T1	551,60 ± 0,15	42,76 ± 1,55	0,10 ± 0,01	ND*	1111 ± 1	ND*	5,01 ± 0,20
T2	884,21 ± 19,20	65,67 ± 1,15	0,14 ± 0,01	ND*	1531 ± 1	ND*	5,25 ± 0,22
T3	537,16 ± 0,47	39,12 ± 1,19	0,11 ± 0,01	ND*	1255 ± 2	0,25 ± 0,02	2,01 ± 0,01
T4	612,66 ± 0,46	20,65 ± 1,49	ND*	ND*	1010 ± 1	ND*	3,57 ± 0,09
T5	954,32 ± 9,83	169,24 ± 8,78	ND*	ND*	1468 ± 2	ND*	100,79 ± 1,50
T6	663,35 ± 2,38	44,73 ± 7,45	0,21 ± 0,01	70,75 ± 1,53	2390 ± 10	33,44 ± 0,36	15,46 ± 1,29
T7	545,92 ± 0,80	48,76 ± 1,00	0,10 ± 0,01	ND*	1139 ± 1	96,09 ± 0,36	46,57 ± 0,28
T8	395,02 ± 0,12	34,02 ± 0,83	0,16 ± 0,01	ND**	980 ± 1	ND**	3,53 ± 0,05

Fonte: Autor. *ND: Não detectado, abaixo do LD e LQ.

A degradação da trigonelina durante o processo de torra é responsável pela formação de alguns compostos (como as piridinas, que são responsáveis pelos *flavors* de adstringência, amargor, queimado e torrado), além de ser convertida em ácido nicotínico, como constituinte importante para qualidade final da bebida (MAZZAFERA, 1991; CAMPA et al., 2004; CARDOSO et al., 2021; PINHEIRO et al., 2021). Os teores de trigonelina encontrados para o café verde especial variaram de $366,15 \pm 0,36$ até $818,42 \pm 1,13$ mg por 100 g, enquanto que para o café tradicional tiveram variação de $395,02 \pm 0,12$ até $954,32 \pm 9,83$ mg por 100 g de café verde (Tabela 17). Estatisticamente não houve diferença significativa entre as amostras especiais e tradicionais (Figura 9), muito embora as amostras tradicionais indicaram teores maiores. Em razão disso, a trigonelina não pode ser utilizada como marcador para a classificação dos grãos de café verde. Os teores encontrados estão de acordo com o que a literatura demonstra, variando de 300 até 3.080 mg por 100 g de café verde (MAZZAFERA, 1991; MARTÍN et al., 1997; CAMPA et al., 2004; YISAK; REDI-ABSHIRO; CHANDRAVANSI, 2018; AGNOLETTI et al., 2019; SANTIAGO et al., 2020; CARDOSO et al., 2021; PINHEIRO et al., 2021).

O ácido nicotínico é formado principalmente durante o processo de torra do grão de café verde, conhecido como niacina, vitamina B3 ou vitamina PP (PINHEIRO et al., 2021). Nas amostras de café especial e tradicional analisadas, a quantidade foi entre $14,37 \pm 0,48$ até $56,44 \pm 6,44$ e $20,65 \pm 1,49$ até $169,24 \pm 8,78$ mg por 100 g de café verde (Tabela 17), respectivamente. Diferenças significativas foram observadas (Figura 9) nas concentrações do ácido nicotínico no café especial e tradicional, indicando assim possível marcador para classificação entre as amostras. As maiores concentrações de ácido nicotínico nos cafés tradicionais, antes da torra, podem resultar da forma de cultivo e processamento, pois a deficiência nutricional, doenças, má manipulação durante a colheita e diferentes tipos de processamento, tendem a produzir cafés de menor qualidade e com diferentes características de flavor (FERIA-MORALES, 2002; MACRAE, 2012; KLEINWÄCHTER; BYTOF; SELMAR, 2015). A própria literatura relata que o teor de ácido nicotínico pode variar de 0,002 até 1.016 mg 100 g⁻¹ de café verde (BRESSANI et al., 1959; MAZZAFERA, 1991; CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 1998; CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 2000; CHIRFA; MERDASSA; GURE, 2020 GIRMA, 2020; GIRMA; GURE; WEDAJO, 2020), o que é condizente com os teores encontrados.

O 5-hidroximetilfurfural (possui limiar sensorial de 100 ppm, aroma herbáceo, semelhante ao feno e próximo do tabaco, além de sabor amargo e mofado dependendo da concentração) é um marcador de tratamento térmico em alimentos, mas presença em grãos de café verde ainda é conflitante na literatura. No entanto, em 2019, Fowble et al. publicaram trabalho confirmando que o 5-hidroximetilfurfural está presente em grãos verdes de café, condizente com a identificação realizada nas amostras analisadas, cujos teores variaram de $0,17 \pm 0,01$ até $0,68 \pm 0,01$ mg por 100 g para as amostras especiais e nas tradicionais de $0,10 \pm 0,01$ até $0,21 \pm 0,01$ mg por 100 g de café verde (Tabela 17). Estatisticamente, houve diferenças significativas entre os cafés verdes especiais e tradicionais analisados (Figura 9), sendo que o 5-hidroximetilfurfural estaria presente na película prateada que cobre todo exterior dos grãos verde e que somente desprenderia no processo de torrefação (ALVES et al., 2017; FOWBLE et al., 2019).

Os ácidos 3-hidroxibenzoico e 4-hidroxibenzoico foram identificados em 1996 em café verde. Os limiares sensoriais são de 20 e 40 ppm, respectivamente (FLAMENT, 2001). As concentrações em grãos de café verde, de acordo com a literatura, variam de 6 a 10 ppm para ambos compostos (FLAMENT, 2001; SOMPORN et al., 2011; MUÑOZ et al., 2020). Na avaliação feita sobre o teor do ácido 3-hidroxibenzoico, não foram notadas diferenças significativas entre os cafés especiais e tradicionais (Figura 9). A concentração nas amostras especiais variou de $0,29 \pm 0,04$ até $12,47 \pm 0,07$ mg por 100 g, enquanto que nas amostras tradicionais a variação foi de $0,25 \pm 0,02$ até $96,09 \pm 0,36$ mg por 100 g de café verde. As concentrações de ácido 4-hidroxibenzoico para as amostras especiais foram de $1,16 \pm 0,15$ até $131,79 \pm 4,76$ mg por 100 g, enquanto apenas uma amostra de café tradicional, apresentou o composto com teor de $70,75 \pm 1,53$ mg por 100 g de café verde (Tabela 17). Diante disso, não foi possível avaliar estatisticamente diferença entre os cafés especiais e tradicionais (Figura 9). Entretanto, a não detecção dos ácidos 3-hidroxibenzoico e 4-hidroxibenzoico na maioria das amostras tradicionais, pode ser utilizada como possível marcador para diferenciação entre cafés verde tradicional e especial.

O ácido clorogênico, representado pelo ácido 5-cafeoilquínico, é o principal polifenol presente no café (TAJIK et al., 2017). Na Figura 9 e na Tabela 17, o teor médio no café verde especial foi maior do que no café verde tradicional, variando de 1199 ± 260 até 2881 ± 1 e 980 ± 1 até 2390 ± 10 mg por 100 g de café verde,

respectivamente. No entanto, como estatisticamente não apresentaram diferenças significativas, não deve ser utilizado, como marcador para diferenciar a classificação entre ambos cafés. Todavia, a avaliação de ácidos clorogênicos não deixa de ser importante, está ligado diretamente à qualidade da bebida, principalmente nas características de flavor, acidez final, adstringência, pigmentos e amargor, por conta das reações de Maillard e Strecker's durante o processamento de torra do grão (FARAH; DONANGELO, 2006; MOON; YOO; SHIBAMOTO, 2009; AYELIGN; SABALLY, 2013). Os valores obtidos neste trabalho estão de acordo com os encontrados na literatura, variando de 98 até 15150 mg 100 g⁻¹ de café verde (FARAH; DONANGELO, 2006; MOON; YOO; SHIBAMOTO, 2009; AYELIGN; SABALLY, 2013; ROSTAGNO et al., 2015; NAVARRA et al., 2017; SANTIAGO et al., 2020; ATLABACHEW et al., 2021).

O ácido cafeico tem impacto indesejado na qualidade da bebida; quanto maior a concentração, maior é o amargor e a adstringência na bebida. Esse composto é resultado da degradação do ácido clorogênico (MUÑOZ et al., 2020), o que explica as amostras tradicionais possuírem teores médios maiores em razão maior exposição ao sol (processamento via seca dos grãos), mesmo não existindo diferença significativa de teor entre amostras tradicionais e especiais (Figura 9). Na Tabela 17, as concentrações das amostras tradicionais variaram de 2,01 ± 0,01 até 100,79 ± 1,50 mg por 100 g, enquanto que nas amostras especiais, a variação foi de 1,49 ± 0,09 até 18,24 ± 0,60 mg por 100 g de café verde, cujos valores são semelhantes aos descritos na literatura, 6,34 ± 0,01 até 359,40 ± 26,40 mg de ácido cafeico por 100 g de café verde (SOMPORN et al., 2011; CHEONG et al., 2013; BELGUIDOUM et al., 2014; DE SOUZA et al., 2020).

4.5 Análise de compostos voláteis

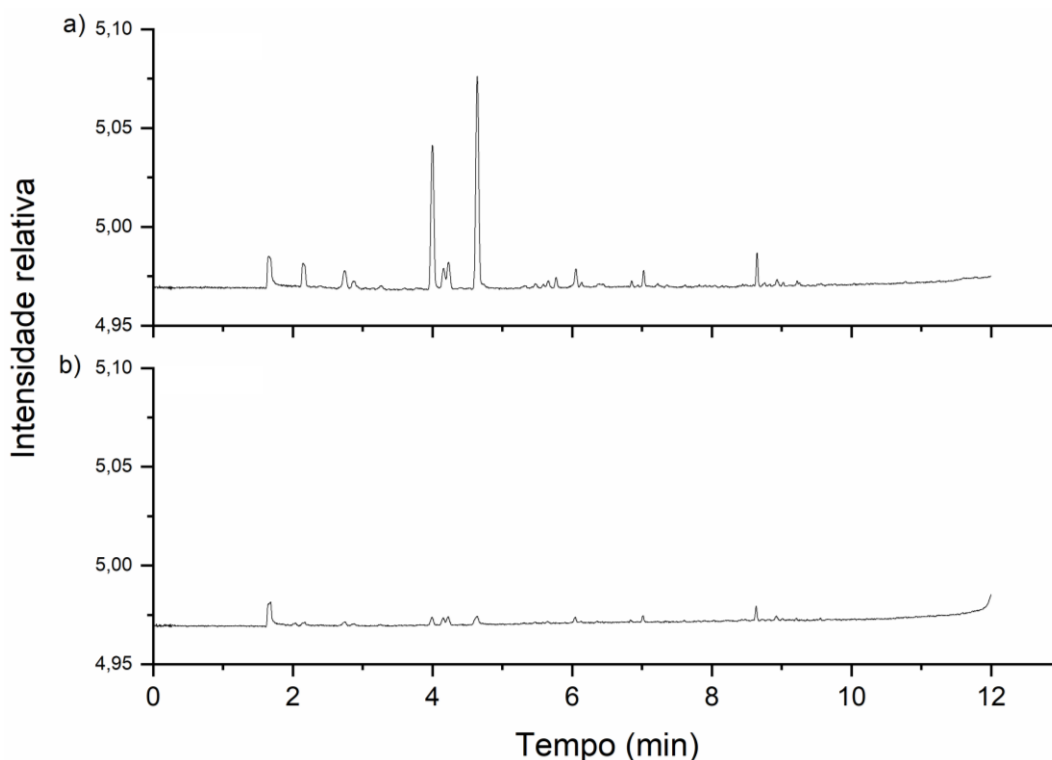
4.5.1 Avaliação do método de extração

Embora as avaliações de perfis dos compostos orgânicos voláteis em café são geralmente realizadas com a microextração em fase sólida com headspace (TOCI; FARAH, 2008; BERTRAND et al., 2012; TOCI; FARAH, 2014; ERÖZ POYRAZ et al., 2016) ou por pré-concentração, como o rotaevaporador ou destilação com pressão reduzida (LEE; SHIBAMOTO, 2002; HAFSAH; IRIAWATI; SYAMSUDIN, 2020),

optou-se previamente por avaliar a utilização da extração por headspace, conforme adotado por Bandeira et al. (2009) e Somporn et al. (2011).

Na Figura 10 estão apresentados os perfis cromatográficos obtidos das duas extrações avaliadas (headspace): 0,55 g de amostra no vial de 20 mL (Figura 10a); extração realizada conforme protocolo da xícara, 0,55 g de amostra e adição de 10 mL de água aquecida (Figura 10b).

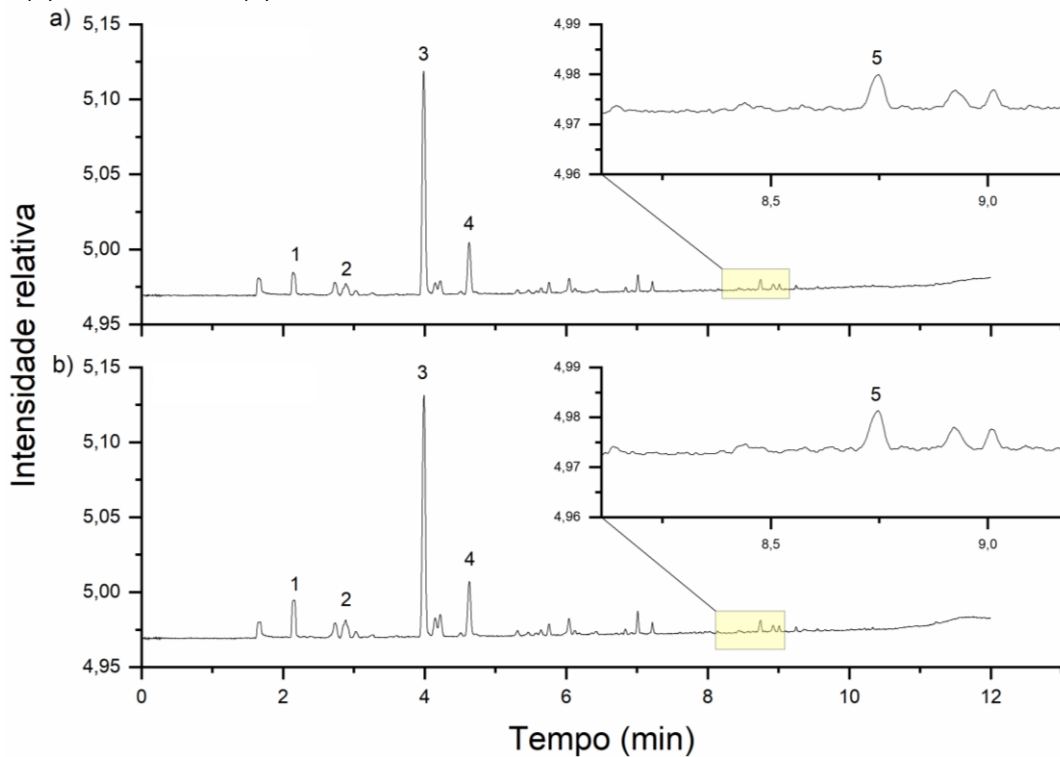
Figura 10 - Perfil cromatográfico para extração dos compostos voláteis. Amostra de café verde diretamente no vial (a) e com extração (b)



Fonte: Autor.

A utilização da água diminuiu a intensidade relativa dos picos cromatográficos (Figura 10) e dificultou a quantificação dos compostos orgânicos voláteis. Então, nos estudos subsequentes, a extração com 0,55 g de amostra em vial de 20 mL foi empregada, com tempos de agitação do headspace avaliados em 5 e 10 minutos. Os perfis cromatográficos obtidos são apresentados na Figura 11 e as área dos picos dos analitos na Tabela 18.

Figura 11 - Perfil cromatográfico para extração dos compostos voláteis. Amostra de café verde com (a) 5 e 10 minutos (b) de agitação. Analitos: Acetaldeído (1), acetona (2), metanol (3), etanol (4) e iso-amílico (5)



Fonte: Autor.

Tabela 18 - Área dos picos em 5 e 10 minutos de agitação por headspace

Analito	Tempo de retenção (min)	Área - 5 min	Área - 10 min	Fator (10min/5min)
(1) Acetaldeído	2,15	68,28	75,32	1,10
(2) Acetona	2,89	38,76	41,32	1,07
(3) Metanol	4,03	467,00	485,00	1,04
(4) Etanol	4,66	114,39	109,98	0,96
(5) Iso-amílico	8,76	17,10	17,74	1,04

Fonte: Autor.

Não houve diferenças no perfil cromatográfico (Figura 11) e nas áreas obtidas dos picos dos analitos (acetaldeído, acetona, metanol, etanol e iso-amílico), conforme a Tabela 18, alterando o tempo de agitação no headspace. Embora no trabalho de Bandeira et al. (2009) tenha sido utilizado o aquecimento em 100°C em banho maria, optou-se pela utilização de temperatura menor para garantia da volatilização dos compostos voláteis sem risco de iniciar o processo de torrefação das amostras durante a extração, o que geralmente tem início em temperatura igual ou superior a

100°C (PEREIRA et al., 2021). As condições de extração realizada nas análises por cromatografia a gás estão resumidas na Tabela 19.

Tabela 19 - Condições de extração empregadas nas análises por cromatografia a gás

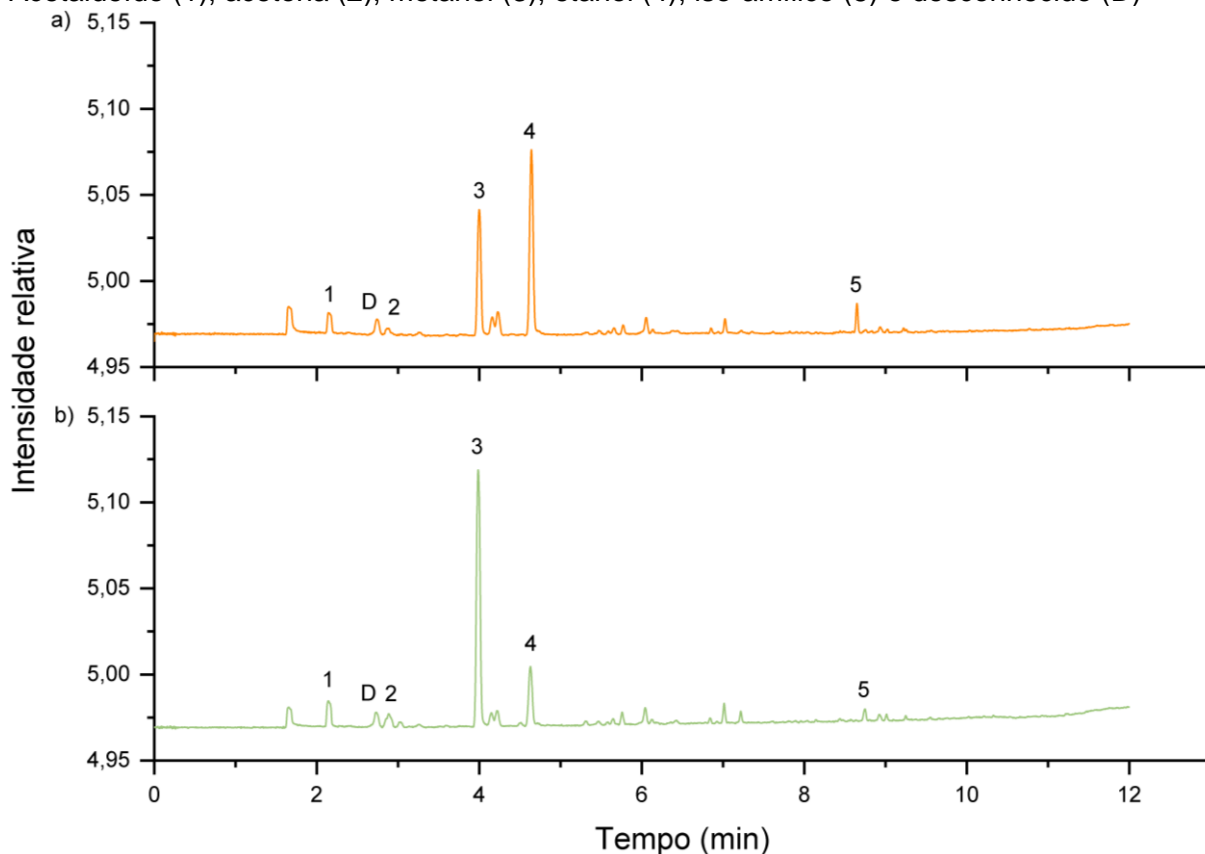
Parâmetros	
Massa da amostra	0,55 g
Volume do vial	20 mL
Agitação no headspace	5 min
Aquecimento	80°C
Solvente extrator	Sem utilização

Fonte: Autor.

4.5.2 Determinação dos compostos voláteis

O perfil cromatográfico obtido na análise de compostos voláteis (Figura 12) foi similar para as amostras de cafés especiais (Figura 12a) e tradicionais (Figura 12b).

Figura 12 - Perfil cromatográfico das amostras especiais (a) e tradicionais (b). Analitos: Acetaldeído (1), acetona (2), metanol (3), etanol (4), iso-amílico (5) e desconhecido (D)

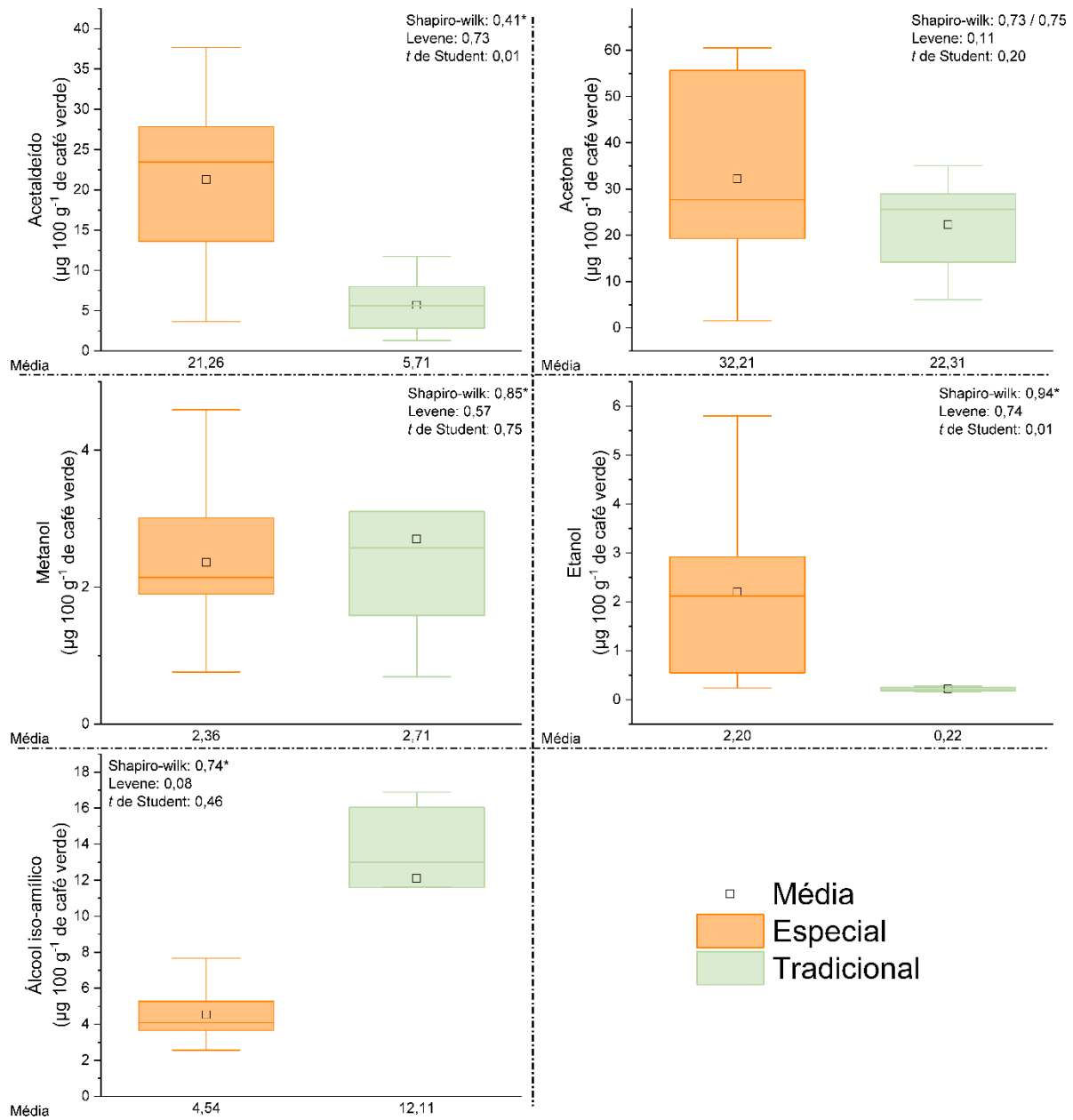


Fonte: Autor.

Na Figura 12, foi realizada a identificação dos compostos acetaldeído (2,15 min), acetona (2,89 min), metanol (4,03 min), etanol (4,66 min) e iso-amílico (8,76 min). Para a acetona (pico 2, Figura 12), a resolução em relação ao pico denominado “D” foi calculada, obtendo valor superior a 1,25, sendo a separação classificada como adequada para fins de quantificação (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; SKOOG et al., 2017). Como na análise dos compostos não voláteis, o que diferiu entre as amostras de cafés, foi somente a área obtida para os picos identificados.

Na Figura 13, estão apresentados os resultados da avaliação estatística dos compostos voláteis das amostras de café verde especial e tradicional. Nos testes de Shapiro-Wilk e Levene, os dados foram normais e homogêneos, respectivamente, com valor- p maior que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%. O resultado obtido para o teste t de Student bicaudal para as amostras não apresentou diferenças significativas quanto aos teores de acetona, metanol e iso-amílico. Os valores obtidos de p foram maiores que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%. Para os analitos acetaldeído e etanol, houve diferença significativa, em que os valores de p foram menores que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%.

Figura 13 – Boxplot dos testes estatísticos para avaliação dos teores dos compostos voláteis, entre os grãos de café especiais e tradicionais



Fonte: Autor. *Valor-p obtidos pela transformação de Johnson (1949) para distribuição normal dos dados.

Os resultados obtidos para a determinação dos compostos voláteis nas diferentes amostras de café verde especial e tradicional são apresentados na Tabela 20. Para estimar a concentração dos compostos presentes nos grãos de café verde, foi utilizado como densidade média $0,630 \text{ g mL}^{-1}$ (RAMALAKSHMI; KUBRA; RAO, 2007; BICHO et al., 2012; 2013; 2014). Os valores resultantes podem diferir dos valores apresentados pela literatura, visto que os teores estão relacionados a alguns fatores, como a extração, os solventes empregados e fatores edafoclimáticos (LIMA et al., 2010; BUNZEL; SCHENDEL, 2017). A maioria dos trabalhos que avaliam os compostos voláteis em grãos de café verde não apresentam a concentração dos compostos, apenas valores de áreas dos picos (CANTERGIANI et al., 2001; GONZALEZ-RIOS et al., 2007; BERTRAND et al., 2012; ERÖZ POYRAZ et al., 2016; LEE et al., 2017; KIM et al., 2019; TSEGAY et al., 2019).

Tabela 20 - Teores de compostos voláteis nas amostras de café verde especial e tradicional

Amostra	Acetaldeído	Acetona	Metanol			Etanol	Iso-amílico
			(µg 100 g ⁻¹ de café verde)				
E1	27,84 ± 0,01	1,52 ± 0,15	0,76 ± 0,11		0,35 ± 0,05	2,77 ± 0,69	
E2	3,66 ± 0,25	14,70 ± 2,92	1,99 ± 0,17		0,55 ± 0,03	2,57 ± 0,48	
E3	4,59 ± 0,57	29,46 ± 2,13	3,01 ± 0,14		0,24 ± 0,02	7,67 ± 0,72	
E4	23,45 ± 0,96	19,30 ± 2,81	1,48 ± 0,10		1,37 ± 0,08	7,12 ± 0,50	
E5	18,13 ± 1,51	20,66 ± 1,39	1,96 ± 0,11		0,68 ± 0,02	5,28 ± 0,77	
E6	ND*	60,54 ± 9,65	4,59 ± 0,36		5,80 ± 0,16	3,67 ± 0,32	
E7	34,57 ± 7,25	25,91 ± 1,64	1,90 ± 0,07		2,88 ± 0,10	4,06 ± 0,94	
E8	27,84 ± 0,01	55,61 ± 9,61	2,50 ± 0,15		4,35 ± 0,18	4,35 ± 0,04	
E9	37,68 ± 1,90	57,08 ± 6,88	3,11 ± 0,14		2,92 ± 0,11	3,77 ± 0,26	
E10	13,59 ± 0,71	37,33 ± 0,52	2,30 ± 0,10		2,87 ± 0,09	4,13 ± 0,67	
T1	5,60 ± 0,41	25,44 ± 0,38	2,55 ± 0,19		0,17 ± 0,01	12,10 ± 1,39	
T2	11,73 ± 1,05	31,70 ± 1,42	3,11 ± 0,19		0,21 ± 0,01	16,89 ± 2,28	
T3	2,82 ± 1,26	18,56 ± 0,33	2,60 ± 0,04		0,20 ± 0,01	11,60 ± 0,69	
T4	7,99 ± 0,73	35,07 ± 1,42	6,42 ± 0,36		0,28 ± 0,01	16,04 ± 1,27	
T5	ND*	6,08 ± 1,68	0,69 ± 0,04		0,17 ± 0,01	ND*	
T6	3,29 ± 0,41	25,69 ± 2,72	1,48 ± 0,09		0,37 ± 0,04	2,12 ± 0,33	
T7	1,27 ± 0,30	9,78 ± 0,69	1,69 ± 0,10		0,18 ± 0,01	ND*	
T8	7,24 ± 0,17	26,13 ± 2,74	3,10 ± 0,06		0,19 ± 0,01	13,89 ± 2,40	

Fonte: Autor. *ND: Não detectado, abaixo do LD e LQ.

A formação dos aldeídos é resultado da autooxidação dos ácidos graxos insaturados. A presença no grão de café verde pode ser considerada como índice de deterioração da qualidade; quanto maior a concentração do acetaldeído, pior será a qualidade da bebida (RODRIGUEZ; FRANK; YAMAMOTO, 1969). As amostras de café verde especial apresentaram teores variando de $3,66 \pm 0,25$ até $37,68 \pm 1,90$ μg por 100 g e as amostras tradicionais apresentaram teores de $1,27 \pm 0,30$ até $11,73 \pm 1,05$ μg por 100 g de café verde. Diferenças significativas entre as amostras foram determinadas, sendo o acetaldeído um possível marcador para diferenciar a classificação dos cafés em especial ou tradicional (Figura 13 e Tabela 20). O fato de algumas amostras especiais apresentarem maior teor de acetaldeído em relação às amostras tradicionais, ao contrário do relatado por Rodriguez, Frank e Yamamoto, (1969), pode ser indicativo de que tenham passado pelo processo de desmucilagem por fermentação (processo por via úmida). Além disso, o acetaldeído é um indicador de cafés produzidos em altitudes elevadas, o que condiz com as amostras especiais (Tabela 2) (RODRIGUEZ; FRANK; YAMAMOTO, 1969; FLAMENT, 2001; BERTRAND et al., 2012). Os teores obtidos neste trabalho, por diferirem dos valores (de 38,95 até 572,30 μg por 100 g e 0,24 até 0,54 μg por 100 g de café verde, respectivamente,) obtidos por Procida et al. (2020) e Elhalis et al. (2021), sugerem que a quantidade do composto esteja relacionada às características edafoclimáticas e ao processo de extração da amostra (LIMA et al., 2010; BUNZEL; SCHENDEL, 2017).

A acetona, como o acetaldeído, é formada devido à oxidação lipídica e pode resultar de processo fermentativo na desmucilagem (processo de via úmida), no qual pode haver a presença da bactéria *Clostridium acetobutylicum*, produtora de alguns compostos responsáveis pelo flavor do café. Na presente análise, o teor (Tabela 20) variou de $1,52 \pm 0,15$ até $60,54 \pm 9,65$ μg por 100 g para as amostras especiais, enquanto que para as amostras tradicionais, foi de $6,08 \pm 1,68$ até $35,07 \pm 1,42$ μg por 100 g de café verde. Mesmo com essa variação, não ocorreu diferença significativa nos teores (Figura 13), o que inviabiliza a utilização da acetona como marcador de diferenciação. As amostras especiais apresentaram teor médio maior que as amostras tradicionais (Tabela 20), o que pode ser explicado pelo cultivo em maiores altitudes (Tabela 2) e pelo fato das amostras especiais geralmente passarem pelo processo de via úmida (FLAMENT, 2001; BERTRAND et al., 2012; CARDOSO et al., 2021). No trabalho de Procida et al. (2020), os valores obtidos foram de

16,38 até 186,10 µg por 100 g de café verde, sendo valores próximos dos quantificados nas amostras analisadas.

O etanol e o metanol, presentes no café verde, não possuem funções definidas descritas na literatura (FLAMENT, 2001; GONZALEZ-RIOS et al., 2007; YERETZIAN et al., 2019; PROCIDA et al., 2020; ELHALIS et al., 2020; ELHALIS et al., 2021). Em 1974, Gibson (apud FLAMENT, 2001) relatou que a relação etanol/metanol em café verde confere flavor conhecido como “Solai” ou “up-country”, cuja característica é desejável, pois alta relação proporciona melhor qualidade ao café.

A Tabela 21 apresenta o fator da relação dos teores etanol/metanol para as amostras de cafés especiais e tradicionais.

Tabela 21 - Fator de relação dos teores de etanol/metanol

Amostra	Fator (Etanol/Metanol)	Amostra	Fator (Etanol/Metanol)
E1	0,46 ± 0,01	T1	0,07 ± 0,01
E2	0,28 ± 0,01	T2	0,07 ± 0,01
E3	0,08 ± 0,01	T3	0,08 ± 0,01
E4	0,92 ± 0,01	T4	0,04 ± 0,01
E5	0,35 ± 0,01	T5	0,25 ± 0,01
E6	1,27 ± 0,08	T6	0,25 ± 0,02
E7	1,52 ± 0,01	T7	0,11 ± 0,01
E8	1,74 ± 0,03	T8	0,06 ± 0,01
E9	0,94 ± 0,01		
E10	1,25 ± 0,02		
Média	0,88 ± 0,57a*	Média	0,12 ± 0,09b*

Fonte: Autor. *Os dados foram transformados por Johnson (1949) para distribuição normal (Valor-*p* 0,74) e no teste Levene apresentou valor-*p* maior que $\alpha = 0,05$, ao nível de confiança de 95%. Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem pelo teste de *t* de Student ao nível de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$).

Conforme afirmação de Gibson (1974 apud FLAMENT, 2001), as amostras especiais analisadas apresentaram, na grande maioria, fatores superiores em relação as amostras tradicionais. A amostra E3 apresentou a menor relação etano/metanol, o que também apresenta menor pontuação (84,00) e altitude (860 m). Diante disso, a relação etanol/metanol pode ser utilizada com uma forma de diferenciação de amostras especiais e tradicionais.

Quanto a origem, o metanol no café verde pode ser resultado da presença de microrganismos codificadores de enzimas responsáveis pela desmetilesterificação da pectina, visto que a mucilagem que reveste o grão de café verde é rica nesse

composto (DOROKHOV et al., 2015; HAILE; KANG, 2019). Diante disso, o metanol pode servir como um importante marcador de presença de contaminação microbiológica devido ao menor controle no processamento do fruto (DOROKHOV et al., 2015).

Os teores de metanol nas amostras analisadas variaram de $0,76 \pm 0,11$ a $4,59 \pm 0,36$ μg por 100 g para cafés especiais, enquanto que para as amostras tradicionais foi de $0,69 \pm 0,04$ a $6,42 \pm 0,36$ μg por 100 g de café verde (Tabela 20), diferentemente de Procida et al. (2020) que obtiveram de: 33 amostras de café verde avaliadas teores de 26,74 até 242,20 μg por 100 g. Como não houve diferença significativa entre as amostras analisadas (Tabela 21), o metanol não pode ser empregado como marcador para diferenciar as amostras em especial e tradicional.

O etanol é proveniente dos processos de fermentação que pode ocorrer durante o processamento do café, sendo condizente aparecer em maior concentração e com diferença estatística (Figura 13), em amostras especiais, que passam por processo de via úmida (CARDOSO et al., 2021). Na literatura foi descrito variação do teor de etanol de 14,70 até 384,10 μg por 100 g de café verde, diferentemente dos teores obtidos nas amostras analisadas. As especiais variaram de $0,24 \pm 0,02$ a $5,80 \pm 0,16$ μg por 100 g, enquanto que as amostras tradicionais apresentaram teores de $0,17 \pm 0,01$ a $0,37 \pm 0,04$ μg por 100 g de café verde (Tabela 20) (PROCIDA et al., 2020; ELHALIS et al., 2021).

O iso-amílico, que tem como função contribuir com o flavor de frutado, é um dos álcoois mais abundantes encontrados em grãos de café devido as reações metabólicas de microrganismos (ELHALIS et al., 2021). Conforme a Tabela 20, o álcool iso-amílico apresentou teores de $2,57 \pm 0,48$ até $7,67 \pm 0,50$ μg por 100 g para as amostras especiais e para as amostras tradicionais os teores variaram de $2,12 \pm 0,33$ até $16,89 \pm 2,28$ μg por 100 g de café verde, conseqüentemente as amostras tradicionais apresentaram teor médio maior, porém sem diferença significativa em relação às amostras especiais (Figura 13). As altas concentrações presentes nas amostras tradicionais podem contribuir para classificação, pois características sensoriais de asfixiante, desagradável, acre e pungente são predominantes.

Em baixas concentrações, como é o caso das amostras especiais, características sensoriais frutado-vinho, banana e pera, são predominantes (FLAMENT, 2001; ELHALIS et al., 2021). Os teores obtidos nas amostras analisadas condizem com os valores descritos na literatura, que variam de 0,83 até 14,69 µg por 100 g de café verde (PROCIDA et al., 2020; ELHALIS et al., 2021).

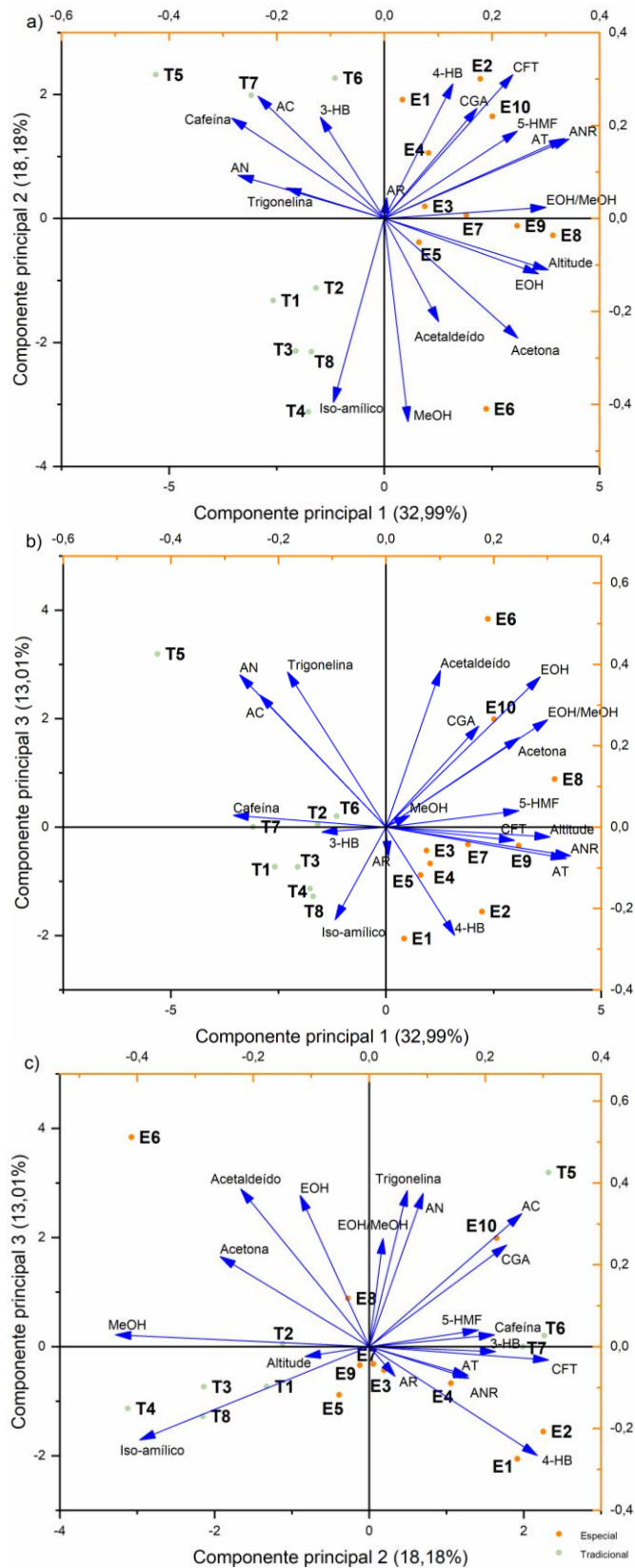
4.6 Análise quimiométrica

Buscando avaliar diferenças entre amostras de cafés especiais e tradicionais foi explorada análise multivariada. Para isso, Análise de Componentes Principais (PCA) foi empregada para correlacionar as variáveis (altitude, compostos fenólicos totais (CFT), açúcares redutores (AR), não redutores (ANR) e totais (AT), cafeína, ácido 3-hidroxibenzoico (3-HB), ácido 4-hidroxibenzoico (4-HB), ácido clorogênico (CGA), ácido cafeico (AC), trigonelina, ácido nicotínico (AN), 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), acetaldeído, acetona, metanol (MeOH), etanol (EOH) e iso-amílico) com as amostras estudadas.

As PCAs foram geradas combinando dois critérios, a variação percentual cumulativa e a regra de Kaiser, que apresentam pontos de corte dos autovalores. (WOLD; ESBENSEN; GELADI, 1987; FERRÉ, 1995; VALLE; LI; QIN, 1999; JOLLIFFE, 2005; TZENG; BERNIS, 2005). Os autovalores selecionados foram os que possibilitaram maior variância dos dados e permitiram diferenciação dos grãos de café verde em especial ou tradicional.

As PCAs das Figuras 14a-c foram geradas com todas as variáveis obtidas das amostras de café verde especial e tradicional.

Figura 14 - Biplot das três primeiras componentes principais para as amostras de café verde especial (cor laranja) e tradicional (cor verde) correlacionadas com todas as variáveis estudadas



Fonte: Autor.

As três primeiras componentes principais foram selecionadas devido aos autovalores maiores que 2 (Tabela 22) e por terem sido responsáveis por 64,18% da variação total dos dados (Figuras 14a-c).

Tabela 22 - Autovalores obtidos para cada componente obtida na PCA

Componente	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Autovalor	6,27	3,45	2,47	1,53	1,45	1,08	0,77	0,66	0,48
Componente	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Autovalor	0,27	0,20	0,15	0,13	0,06	0,03	0,01	0,00	0,00

Fonte: Autor.

Houve a formação de dois grupos nas PCAs (Figuras 14a e 14b), um formado pelas amostras de cafés especiais (cor laranja) e outro pelas amostras de cafés tradicionais (cor verde), ambos ao longo do eixo x (Componente principal 1) e no qual as amostras especiais possuem maior valor do que as amostras tradicionais. As variáveis que permitiram a caracterização dos grupos foram associadas à componente principal 1, com valores de loadings diferenciados, conforme Tabela 23.

Tabela 23 - Loadings de cada variável nas três primeiras componentes principais

Variável	PC1	PC2	PC3
Açúcares não redutores (ANR)	0,34	0,17	-0,07
Açúcares totais (AT)	0,34	0,17	-0,08
Altitude	0,30	-0,11	-0,02
Etanol/ Metanol (EOH/MeOH)	0,30	0,02	0,26
Etanol (EOH)	0,29	-0,12	0,37
Acetona	0,25	-0,26	0,22
5-hidroximetilfurfural (5-HMF)	0,25	0,19	0,04
Compostos fenólicos totais (CFT)	0,24	0,31	-0,03
Ácidos clorogênicos (CGA)	0,17	0,24	0,25
4-hidroxibenzoico (4-HB)	0,13	0,29	-0,27
Acetaldeído	0,10	-0,22	0,39
Metanol (MeOH)	0,04	-0,44	0,03
Açúcares redutores (AR)	0,00	0,04	-0,07
Iso-amílico	-0,09	-0,40	-0,23
3-hidroxibenzoico (3-HB)	-0,12	0,22	-0,01
Trigonelina	-0,18	0,07	0,38
Ácido cafeico (AC)	-0,24	0,26	0,33
Ácido nicotínico (NA)	-0,27	0,09	0,37
Cafeína	-0,28	0,22	0,03

Fonte: Autor.

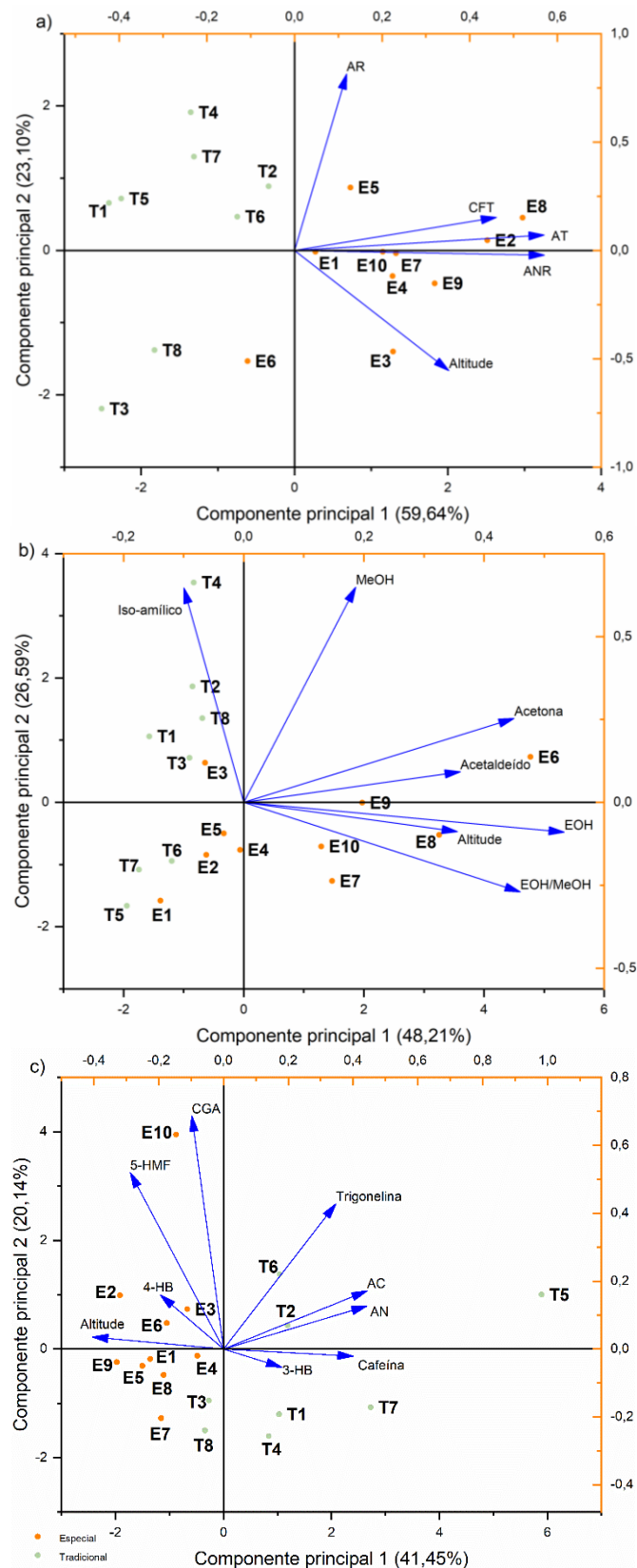
Além disso, nas Figuras 14a e 14b os compostos cafeína, ácido nicotínico (AN), ácido cafeico (AC), trigonelina, ácido 3-hidrozibenzoico (3-HB) e o álcool iso-amílico foram os que representaram melhor os cafés tradicionais (cor verde), o que está de acordo com as características asfíxiante, desagradável, acre, pungente, amargor, adstringência, processos com temperaturas elevadas e pelo processamento por via seca (FLAMENT, 2001; MACRAE, 2012; MUÑOZ et al., 2020). Enquanto, que as amostras especiais (cor laranja) foram melhores representadas pelos atributos açúcares não redutores (ANR), açúcares totais (AT), altitude, etanol/metanol (EOH/MeOH), etanol (EOH), acetona, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), compostos fenólicos totais (CFT), ácido clorogênicos (CGA), 4-hidroxibenzoico (4-HB), acetaldeído e metanol. Espécies responsáveis por serem precursores aromáticos devido as reações de Maillard e Strecker's, acidez final e pelos sabores doces, herbáceo, frutado, odores suaves e "Solai", sendo fatores que irão influenciar as características finais da bebida (HOLSCHER; STEINHART, 1995;

FLAMENT, 2001; FARAH; DONANGELO, 2006; GONZALEZ-RIOS et al., 2007; MOON; YOO; SHIBAMOTO, 2009; AYELIGN; SABALLY, 2013; ELHALIS et al., 2020; CARDOSO et al., 2021).

Ao plotar a PC2xPC3 (Figura 14c), não houve separação entre as amostras especiais e tradicionais, visto que a componente principal 1 foi realmente a responsável pela maior variação dos dados e que permitiu a classificação das amostras.

As altitudes dos cultivares das amostras de cafés foram correlacionadas com os grupos de análises instrumentais realizadas, espectrofotométrica (Figura 15a), cromatografia gasosa (Figura 15b) e cromatografia líquida (Figura 15c).

Figura 15 - Biplot das duas primeiras componentes principais para as amostras de café verde especial (cor laranja) e tradicional (cor verde) correlacionadas com as análises instrumentais (a) espectrofotométricas; (b) cromatográficas a gás e (c) a líquido



Fonte: Autor.

A PCA (Figura 15a) elaborada com as determinações de açúcares redutores (AR), açúcares não redutores (ANR), açúcares totais (AT), compostos fenólicos totais (CFT) atreladas a altitude, permitiu diferenciar as amostras em especiais e tradicionais. Enquanto, as PCAs (Figuras 15b e 15c) elaboradas com as determinações cromatográficas não possibilitaram a diferenciação entre as amostras. As determinações espectrofotométricas atreladas as altitudes podem ser empregadas para classificação de amostras de cafés em especiais e tradicionais. E apresentam vantagens, principalmente no equipamento empregado, além das análises de açúcares redutores, totais, não redutores e compostos fenólicos totais que são mais simples por utilizar reagentes mais comuns e com menor custo quando comparadas com análises que necessitem de cromatógrafos.

Na Tabela 24 são apresentados os coeficientes de correlação de Pearson entre os compostos químicos determinados para os cafés especiais e tradicionais. A magnitude do coeficiente pode ser interpretada como: 0,00 até 0,10 - “insignificante”; 0,10 até 0,39 - “fraco”; 0,40 até 0,69 - “moderado”; 0,70 até 0,89 - “forte” e 0,90 até 1,00 - “muito forte” (SCHOBER; BOER; SCHWARTE, 2018).

A correlação entre os atributos altitude-açúcares não redutores (0,58), altitude-etanol/metanol (0,54), compostos fenólicos totais-açúcares não redutores (0,74), açúcares não redutores-etanol/metanol (0,62) e ácido clorogênico-5-hidroximetilfurfural (0,67), foram atributos com correlação moderada e estão relacionados aos cafés especiais, pois são compostos precursores aromáticos das reações de Maillard e Strecker's, acidez final e pelos flavors doces, herbáceo, odores suaves e “Solai” (HOLSCHER; STEINHART, 1995; FLAMENT, 2001; FARAH; DONANGELO, 2006; GONZALEZ-RIOS et al., 2007; MOON; YOO; SHIBAMOTO, 2009; AYELIGN; SABALLY, 2013; ELHALIS et al., 2020; CARDOSO et al., 2021).

Os atributos altitude-cafeína (-0,68), altitude-ácido cafeico (-0,53), cafeína-etanol (-0,50), trigonelina-altitude (-0,47), ácido nicotínico-açúcares não redutores (-0,53), ácido nicotínico-trigonelina (0,70), ácido cafeico-cafeína (0,61), ácido cafeico-trigonelina (0,58) e ácido cafeico-ácido nicotínico (0,86), afetam as características asfixiante, desagradável, acre, pungente, amargor e adstringência, e sofrem influência da utilização de processos com temperaturas elevadas e por via seca (FLAMENT, 2001; MACRAE, 2012; MUÑOZ et al., 2020), devendo ser minimizados em cafés verdes, sobretudo por estarem associadas às características indesejadas.

Tabela 24 - Matriz de correlação de Pearson entre os compostos químicos obtidos nas análises espectrofotométricas e cromatográficas

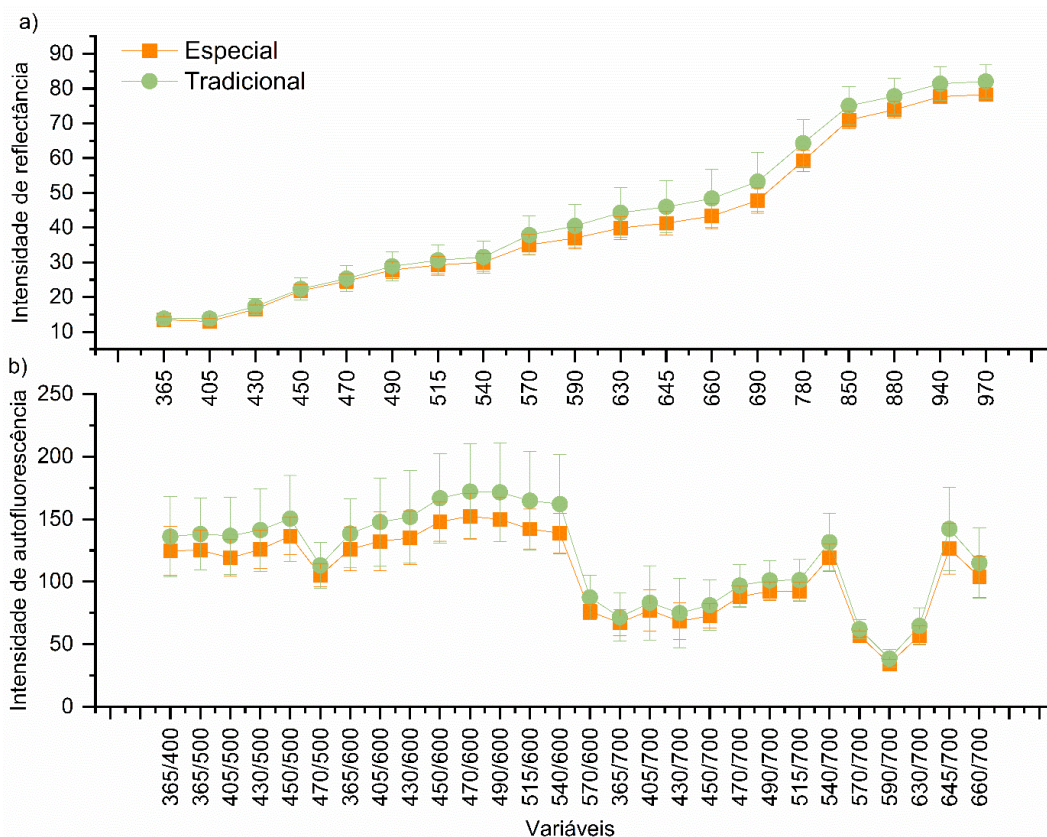
Composto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	1,00																		
2	0,17	1,00																	
3	-0,17	0,10	1,00																
4	0,54*	0,73*	0,27	1,00															
5	0,58*	0,74*	0,16	0,99*	1,00														
6	0,26	-0,14	-0,26	-0,12	-0,09	1,00													
7	0,44	0,19	0,06	0,40	0,40	0,37	1,00												
8	0,03	-0,24	0,06	-0,11	-0,12	0,38	0,56*	1,00											
9	0,55*	0,24	-0,03	0,43	0,45	0,67*	0,76*	0,24	1,00										
10	-0,05	-0,40	0,00	-0,34	-0,35	-0,14	0,14	0,61*	-0,30	1,00									
11	0,54*	0,39	0,08	0,61*	0,62*	0,34	0,60*	-0,05	0,89*	-0,40	1,00								
12	-0,68*	-0,14	-0,04	-0,47*	-0,48*	-0,45	-0,51*	-0,44	-0,50*	-0,04	-0,30	1,00							
13	-0,47*	-0,09	0,03	-0,34	-0,35	0,04	-0,08	0,04	-0,17	0,09	-0,26	0,36	1,00						
14	-0,46	-0,39	0,01	-0,52*	-0,53*	0,11	-0,33	-0,26	-0,21	-0,18	-0,28	0,51*	0,70*	1,00					
15	0,16	0,58*	-0,22	0,39	0,43	0,12	0,19	-0,17	0,27	-0,38	0,29	-0,15	0,40	-0,08	1,00				
16	-0,53*	-0,14	0,09	-0,30	-0,32	-0,13	-0,38	-0,41	-0,21	-0,46	-0,17	0,61*	0,58*	0,86*	0,00	1,00			
17	0,42	0,48*	-0,08	0,45	0,47*	0,04	0,13	-0,23	0,34	-0,32	0,43	-0,35	-0,06	-0,41	0,67*	-0,27	1,00		
18	0,11	0,49*	-0,07	0,41	0,43	-0,15	-0,27	-0,36	-0,12	-0,39	-0,02	-0,11	-0,35	-0,29	0,23	-0,16	0,35	1,00	
19	-0,39	0,14	0,16	-0,19	-0,22	-0,09	-0,30	-0,23	-0,22	-0,40	-0,23	0,32	0,00	0,05	-0,04	0,33	-0,12	0,02	1,00

Fonte: Autor. (1) Altitude, (2) Compostos fenólicos totais, (3) Açúcares redutores, (4) Açúcares totais, (5) Açúcares não redutores, (6) Acetaldeído, (7) Acetona, (8) Metanol, (9) Etanol, (10) Iso-amílico, (11) Etanol/Metanol, (12) Cafeína, (13) Trigonelina, (14) Ácido nicotínico, (15) Ácido clorogênico, (16) Ácido cafeico, (17) 5-hidroxiacetilfurfural, (18) 4-hidroxibenzoico e (19) 3-hidroxibenzoico. *Significativo a 5% de probabilidade.

4.7 Análise multiespectral

As médias de reflectância e intensidade de autofluorescência obtidas em 19 comprimentos de onda e 28 combinações de excitação/emissão, respectivamente, para todos os grãos de café verde, tradicionais e especiais, são apresentadas na Figura 16.

Figura 16 - Assinatura espectral (média \pm desvio padrão) de grãos de café verde especial e tradicional (n = 1024) para reflectância de 365 a 970 nm (a) e autofluorescência de 365/400 a 660/700 nm combinações de excitação/emissão (b)



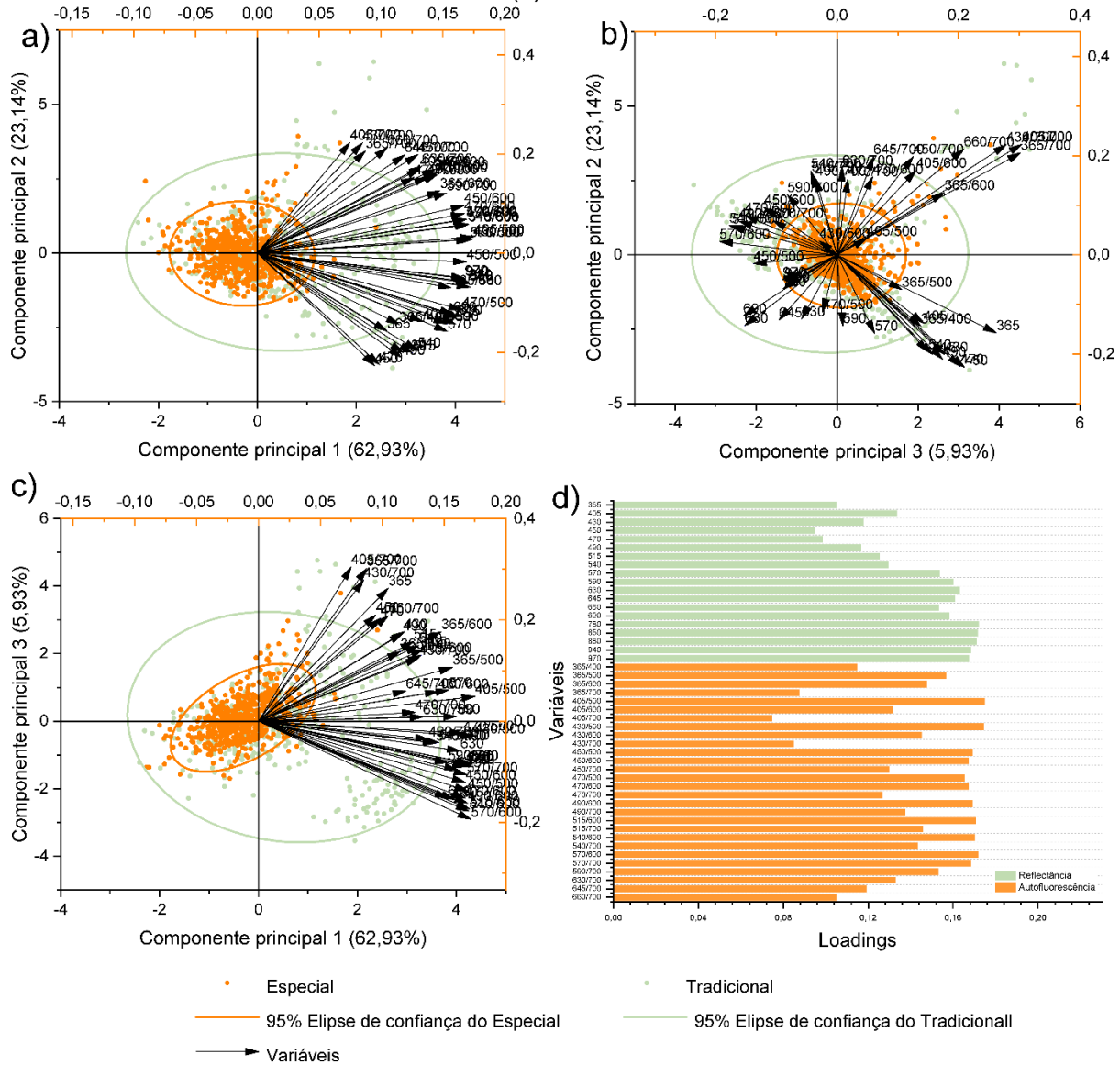
Fonte: Autor.

Os grãos de café verde tradicionais apresentaram maior reflectância (Figura 16a) e autofluorescência (Figura 16b). Entretanto, as diferenças foram mais evidentes para a intensidade da autofluorescência, principalmente, na combinação de 405/500 a 540/600 nm, em que também apresentaram maiores valores de desvio padrão. As amostras de grãos de cafés especiais apresentaram desvios menores, o que era esperado, pois esse tipo de grão é considerado de alta qualidade, com poucos ou nenhum defeito físico. Isso resulta em amostras mais uniformes, diferentemente das

amostras tradicionais (DA SILVA TAVEIRA et al., 2014; ALCANTARA; DRESCH; MELCHERT, 2021; BEMFEITO et al., 2021).

Os dados de refletância e autofluorescência obtidos de grãos de café verde especial e tradicional foram inicialmente testados usando PCA. A variação espectral entre as classes explicadas nas PCAs (Figuras 17a-c) foi de 92,01% (PC1 + PC2 + PC3), em que PC1 explica 62,93% da variação total. A PCA, porém, não separou de forma eficiente as classes de grãos de café especiais e tradicionais, conforme sobreposição das elipses (nível de significância de 95%). No entanto, a PC1 indicou que a variável 405/500 nm teve maior influência na variabilidade dos dados, evidenciado pelos valores de loadings (Figura 17d).

Figura 17 - Análise de componentes principais biplot para reflectância em 19 comprimentos de onda e autofluorescência usando 28 combinações de excitação/emissão obtidas de café verde especial ou tradicional (n = 1024) (a-c). Valores de loadings de cada variável na análise do componente principal para diferenciação do café verde especial e tradicional com base em dados de reflectância e autofluorescência (d)



Fonte: Autor.

Como não houve separação das amostras de café por meio da análise não supervisionada (PCA), quatro algoritmos de aprendizado de máquina foram empregados (SVM, RF, XGBoost e CatBoost) para identificação dos modelos com melhor desempenho na busca da discriminação dos grãos de café verde especial e tradicional, conforme Tabela 25.

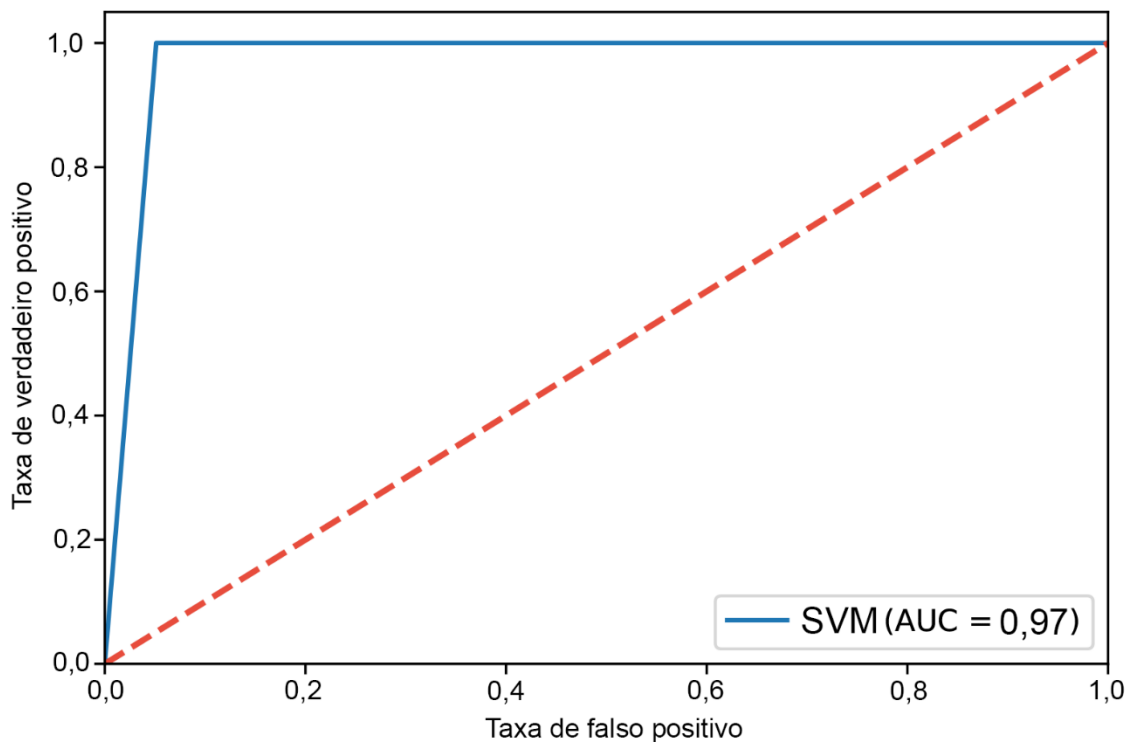
Tabela 25 - Desempenho de diferentes modelos usando reflectância (dados de 365 a 970 nm) e autofluorescência (dados de 365/400 a 660/700 nm) para classificar café verde especial e tradicional para o conjunto teste

Algoritmo	AUC	Acurácia	Precisão	Sensibilidade	Especificidade	F-score
SVM	0,97	0,96	0,86	1,00	0,95	0,93
XGBoost	0,84	0,86	0,69	0,80	0,88	0,74
RF	0,80	0,88	0,84	0,64	0,96	0,73
CatBoost	0,84	0,86	0,69	0,80	0,88	0,74

Fonte: Autor.

Os resultados mostraram que o SVM obteve a melhor acurácia para o conjunto de dados teste (0,94) e os melhores valores na área sob a curva (AUC) (0,97) (Tabela 25), para discriminação de café especial ou tradicional, (Figura 18).

Figura 18 – Gráfico ROC/AUC para verificação do desempenho do modelo SVM para o conjunto teste dos grãos de café verde especiais e tradicionais (n = 1024)



Fonte: Autor.

Quanto mais próximo de 1,00, melhor é o modelo na validação cruzada, pois valores de 0,7 a 0,8 são considerados aceitáveis, entre 0,8 e 0,9 excelentes e maiores que 0,9 são tidos como excepcionais na curva característica de operação do receptor (curva ROC) (MANDREKAR, 2010). O valor AUC foi calculado, pois a sensibilidade (avaliação do valor positivo verdadeiro) e a especificidade (avaliação do valor falso positivo) foram parâmetros de desempenho (GORDINI; VEGLIO, 2017). Portanto, o

modelo desenvolvido possuiu alto potencial para classificação das amostras como verdadeiro positivo (FAWCETT, 2004).

Na Tabela 26 é apresentando a matriz de confusão obtida para o algoritmo SVM.

Tabela 26 - Matriz de confusão para conjunto de dados de teste usando modelo SVM para classificar grãos de café verde tradicionais e especiais

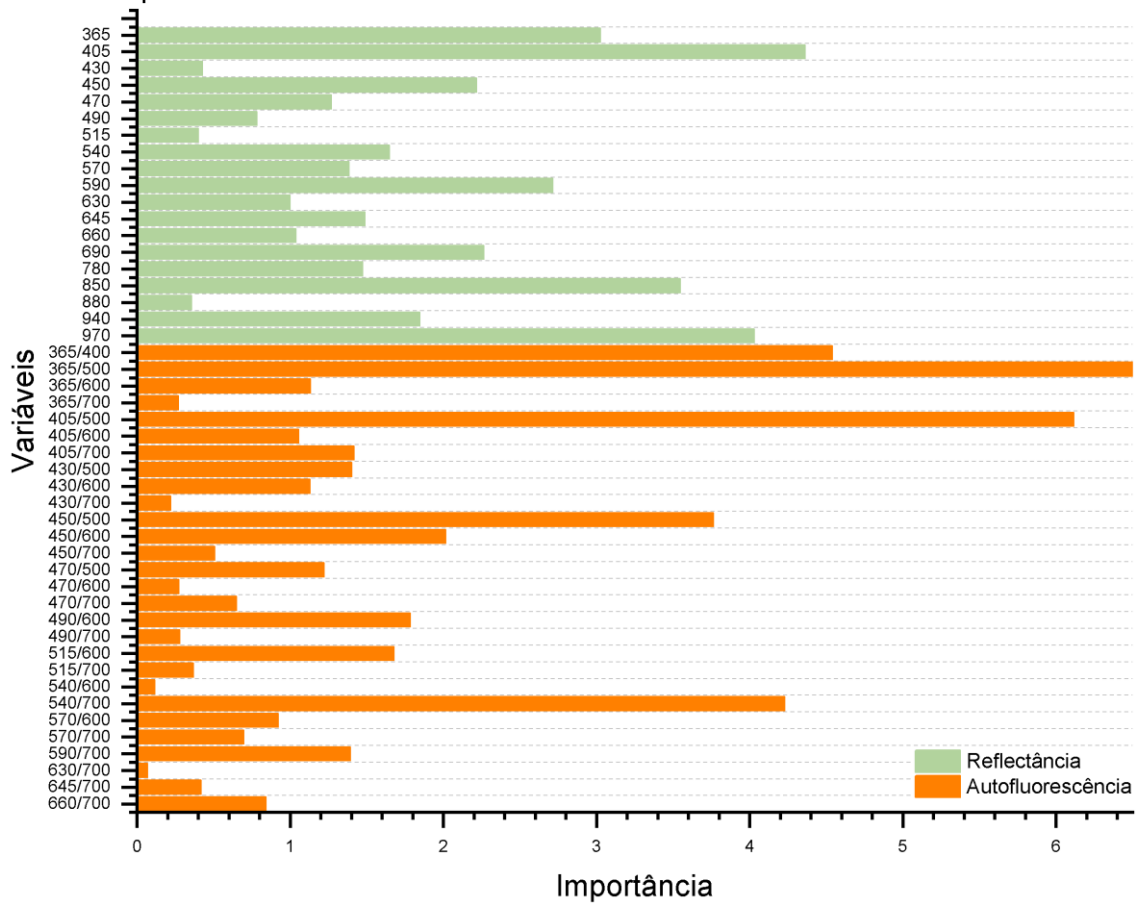
		Valor previsto	
		Especial	Tradicional
Valor verdadeiro	Especial	74	4
	Tradicional	0	25

Fonte: Autor.

Na matriz de confusão (Tabela 26), para o conjunto de dados teste, foram utilizadas métricas de desempenho conforme item 3.11.1. O modelo SVM atingiu 0,96; 0,86; 1,00; 0,95 e 0,93 para exatidão, precisão, sensibilidade, especificidade e F-score, respectivamente, evidenciado ter grande potencial para discriminação de grãos de café verdes especiais e tradicionais. As métricas de desempenho obtidas no modelo SVM foram consistentes com aquelas obtidas em estudos anteriores sobre grãos de café verde quando utilizado aprendizagem de máquina (KILIÇ et al., 2007; ARBOLEDA; FAJARDO; MEDINA, 2018; GARCÍA; CANDELO-BECERRA; HOYO, 2019; OLIVERI et al., 2019).

Conforme demonstrado para PCA, a predição por modelo SVM também revelou que a variável 405/500 nm foi importante para construção do modelo (Figura 19), a qual representa a fluorescência na região verde. Em grãos de café verdes, a fluorescência verde é associada aos compostos fenólicos, que são fluoróforos naturais (SOMPORN et al., 2011; BELGUIDOUM et al., 2014; WEI; TANOKURA, 2015; MUÑOZ et al., 2020).

Figura 19 - Importância de cada variável com base no algoritmo SVM para discriminação de café verde especial ou tradicional usando dados de reflectância e fluorescência



Fonte: Autor.

A fluorescência verde foi avaliada a partir de 10 compostos fenólicos em concentração de 0,1 mg L⁻¹ (Tabela 27).

Tabela 27 - Fluorescência emitida por diferentes fluoróforos usando a combinação de excitação/emissão de 405/500 nm

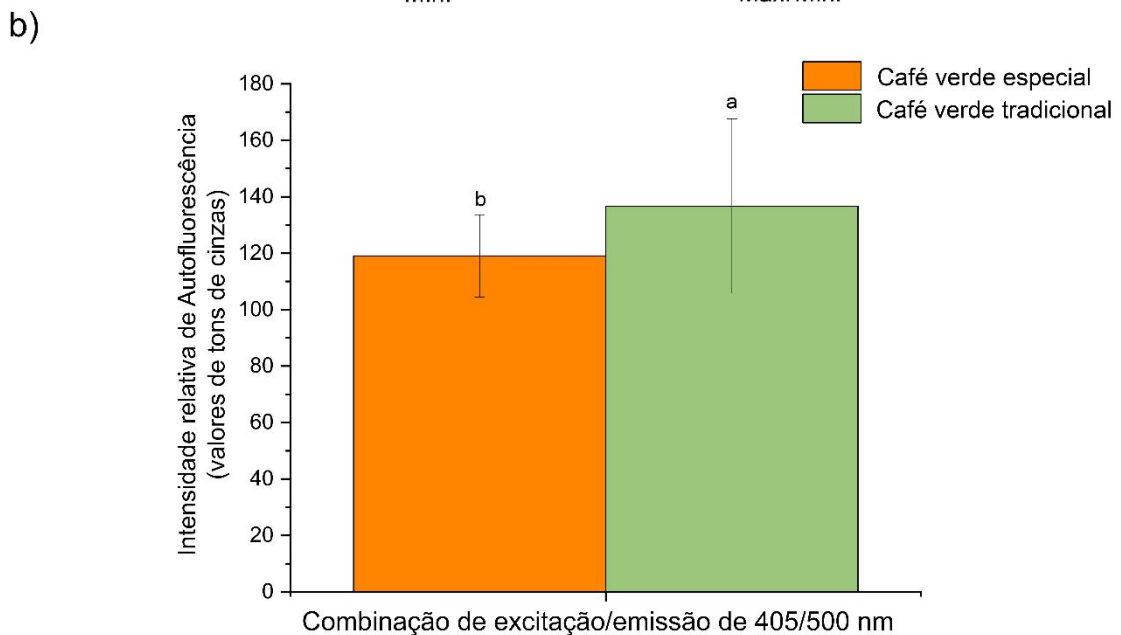
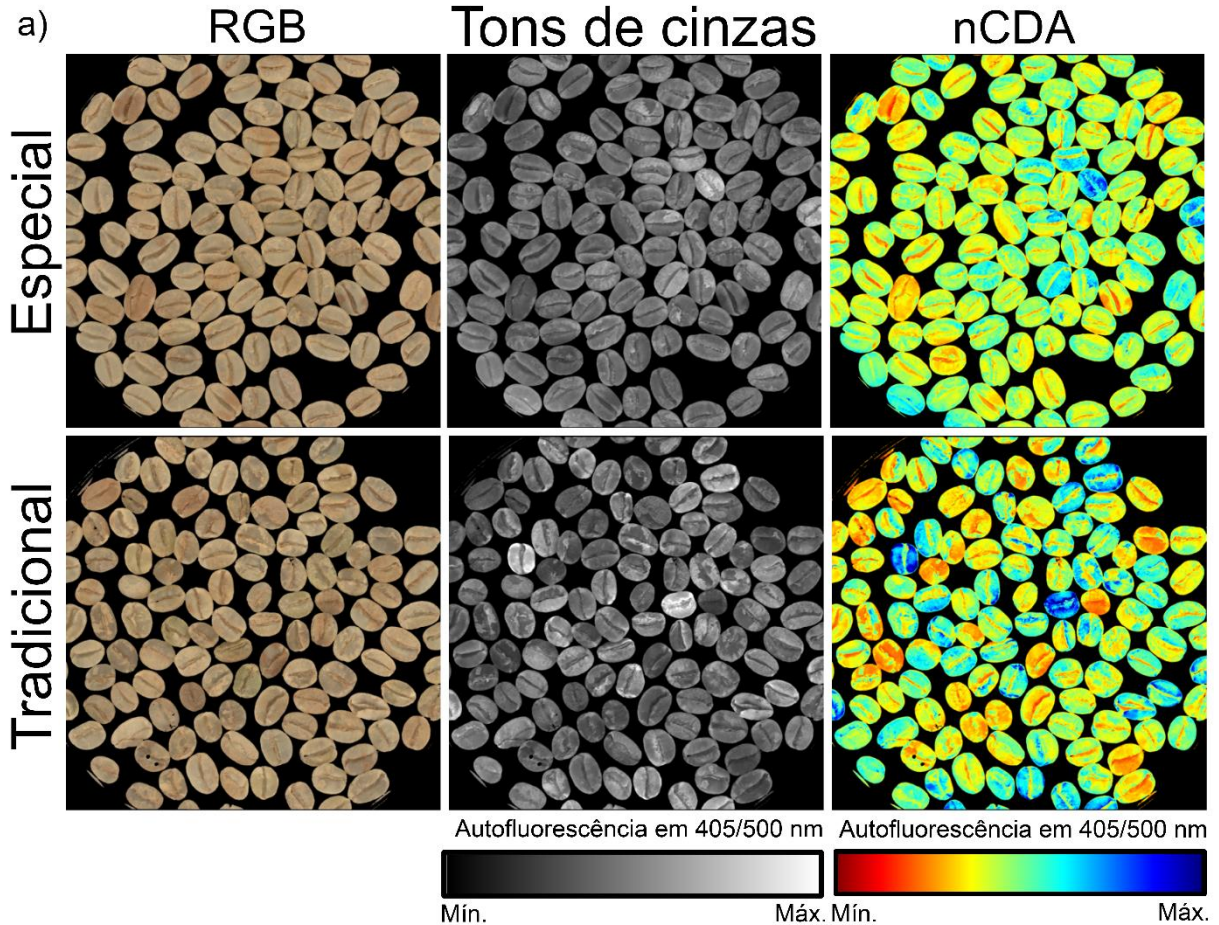
Analitos	Intensidade 405/500 nm
Ácido 4-hidroxibenzoico	0,100
Ácido caféico	0,000
Ácido cinâmico	0,000
Ácido clorogênico	0,077
Ácido ferúlico	0,000
Ácido gálico	0,000
Ácido sinápico	0,025
Cafeína	0,048
Catequina	0,100
Trigonelina	0,000

Fonte: Autor.

As maiores intensidades de fluorescência foram observadas para os ácidos 4-hidroxibenzoico, sinápico e clorogênico, cafeína e catequina na combinação excitação/emissão de 405/500 nm. Apesar da complexidade da matriz da amostra e das condições químicas na fluorescência, essas espécies químicas podem influenciar na discriminação dos grãos de café verde especial ou tradicional (SIKORSKA; KHMELINSKII; SIKORSKI, 2019).

As imagens RGB (ou seja, imagens capturadas no espectro visível) de grãos de café verde especiais e tradicionais e imagens de autofluorescência (escala de cinza e nCDA) foram capturadas na combinação de 405/500 nm, com valores médios de autofluorescência obtidos para ambas as classes, Figura 20. Essas imagens foram selecionadas para ilustrar o padrão de autofluorescência usando a variável que mais influenciou a PCA e o modelo SVM (405/500 nm) para discriminação de grãos de café verde especial ou tradicional.

Figura 20 - Imagens RGB brutas (espectro visível) de grãos de café verde tradicionais ou especiais; imagens de autofluorescência correspondentes capturadas na combinação de excitação/emissão de 405/500 nm (escala de cinza e imagens transformadas pelo algoritmo nCDA) (a). Intensidade média de autofluorescência referente aos grãos especiais (n=640) e tradicionais (n=384) na combinação 405/500 nm, onde as médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste t de Student ao nível de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$) (b).



Fonte: Autor.

Nas imagens RGB, Figura 20a, o café especial apresentou melhor uniformidade de formato em relação ao café tradicional. Enquanto, as imagens de autofluorescência (imagens em tons de cinza e nCDA), revelaram maior intensidade de autofluorescência na classe de café tradicional (Figura 20a). Essa diferença foi significativa a um nível de significância de 95% pelo teste t de Student (Figura 20b), lembrando que mudanças nos padrões espectrais do café verde especial e tradicional podem resultar de fatores edafoclimáticos, composição química e processamento. Por exemplo, os cafés especiais caracterizam-se pela alta qualidade, sabor superior, potencial de aroma e ausência de defeitos, enquanto o café tradicional apresenta baixo potencial de sabor e aroma e também pode apresentar defeitos na composição (DA SILVA TAVEIRA et al., 2014; BEMFEITO et al., 2021).

Com os resultados da análise MSI combinados com o modelo de aprendizado de máquina, foi possível fornecer abordagem rápida, eficiente, não destrutiva e quimicamente amigável para classificação dos grãos de café verde em especial ou tradicional. O que pode também ser perfeitamente adotado, vantajosamente, pela própria indústria cafeeira, maior interessada em avaliações rápidas e não destrutivas.

No futuro, porém, investigações com amostras de café de outras regiões deverão desenvolver novos modelos matemáticos de classificação e de predição, com a indicação da pontuação de classificação de acordo com o protocolo da prova da xícara (para grãos especiais).

5 CONCLUSÃO

Nas análises de composição química dos compostos em grãos verdes de cafés especiais e tradicionais foi observado que os parâmetros avaliados estão presentes em ambos os cafés e que a diferenciação ocorre em relação à concentração.

Dos dezenove parâmetros avaliados houve diferença estatística somente entre os compostos fenólicos totais, cafeína, açúcares não redutores, açúcares totais, ácido nicotínico, 5-hidroximetilfurfural, acetaldeído, etanol e etanol/metanol. O café verde tradicional apresentou maiores teores de cafeína e ácido nicotínico, enquanto que o café verde especial apresentou maiores teores dos demais parâmetros.

O ácido 4-hidroxibenzoico pode ser utilizado como marcador de café verde especial, pois foi quantificado apenas em uma das oito amostras do café verde tradicional analisadas.

Quanto ao perfil cromatográfico obtido nas análises de compostos voláteis e não voláteis não foram observadas diferenças significativas entre as amostras.

Nas análises de componentes principais foi possível realizar a diferenciação dos grãos de café verde em especial e tradicional, tanto utilizando os 19 parâmetros avaliados, quanto utilizando apenas os parâmetros das análises espectrofotométricas (em ambos os casos, sempre considerando o fator altitude de cultivo). Além disso, os atributos cafeína, ácido nicotínico, ácido cafeico, trigonelina, ácido 3-hidrozibenzoico e o álcool iso-amílico são atribuídos aos grãos de café verde tradicional e estão relacionados com características indesejadas e com a forma de processamento (por via seca), influenciando negativamente na qualidade. Os grãos de café verde especial são correlacionados aos açúcares não redutores, açúcares totais, altitude, etanol/metanol, etanol, acetona, 5-hidroximetilfurfural, compostos fenólicos totais, ácido clorogênico, 4-hidroxibenzoico, acetaldeído e metanol, que são responsáveis por características desejadas que influenciam positivamente quanto à qualidade.

A análise multiespectral demonstrou as diferenças espectrais entre os grãos de café verde tradicionais e especiais, em que os padrões de autofluorescência na combinação de excitação/emissão de 405/500 nm, contribuíram mais para diferenciar as classes. O modelo SVM apresentou melhor desempenho com precisão de 0,96 para o conjunto de dados teste e 0,97 para a AUC. Na matriz de confusão, o modelo SVM também apresentou resultados satisfatórios para precisão, exatidão,

sensibilidade, especificidade e F-score. Além disso, alguns possíveis fluoróforos foram identificados com fluorescência verde que podem influenciar na discriminação do café verde pela tecnologia de imagem de autofluorescência. Assim, o uso de imagens multiespectrais combinado com o modelo de aprendizado de máquina pode ser um método vantajoso para a triagem de grãos de café verde tradicionais e especiais, com resultados rápidos que não requerem pré-tratamento ou destruição das amostras.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M. B. et al. Spectroscopic and chromatographic fingerprints for discrimination of specialty and traditional coffees by integrated chemometric methods. **Food Analytical Methods**, v. 13, p. 2204-2212, 2020.
- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, n. 1, p. 46-55, 2014.
- AGNOLETTI, B. Z. et al. Discrimination of arabica and conilon coffee from physicochemical properties allied to chemometrics. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 785-805, 2019.
- ALCANTARA, G. M. R. N.; DRESCH, D.; MELCHERT, W. R. Use of non-volatile compounds for the classification of specialty and traditional Brazilian coffees using principal component analysis. **Food Chemistry**, v. 360, art. 130088, 2021.
- ALOGLU, A. K. et al. Chemical profiling of floral and chestnut honey using high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 62, p. 205-210, 2017.
- ALVARADO, R. A.; LINNEMANN, A. R. The predictive value of a small consumer panel for coffee-cupping judgment. **British Food Journal**, v. 112, n. 9, p. 1023-1032, 2010.
- ALVES, R. C. et al. State of the art in coffee processing by-products. In: GALANAKIS, C. M. (ed.). **Handbook of coffee processing by-products**. Philadelphia, PA:Academic Press, 2017. p. 1-26.
- AMIGO, J. M. Hyperspectral and multispectral imaging: setting the scene. In: AMIGO, J. M. (ed.). **Hyperspectral imaging**. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 3-16. (Data Handling in Science and Technology, v. 32).
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ANGELONI, G. et al. Characterization and comparison of cold brew and cold drip coffee extraction methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 1, p. 391-399, 2018.
- AQUINO, D. F. de. **Análises do Mercado. Análise Mensal. Café**. Brasília, DF: CONAB, 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuaria-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-cafe/item/download/24706_40a7583bf5ec7d1e8a7fe8e6c5df7a32>. Acesso em: 5 out. 2019.
- ARAGÃO, N. M. de; VELOSO, M. C. da C.; ANDRADE, J. B. de. Validação de métodos cromatográficos de análise: um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os princípios da "Química Verde" na determinação de metilxantinas em bebidas. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2476-2481, 2009.

ARBOLEDA, E. R.; FAJARDO, A. C.; MEDINA, R. P. An image processing technique for coffee black beans identification. In: 2018 IEEE International Conference on Innovative Research and Development (ICIRD), 2018, Bangkok, Thailand. **Proceedings...** New York: IEEE, 2018. p. 1-5.

ATLABACHEW, M. et al. Rapid and simultaneous determination of trigonelline, caffeine, and chlorogenic acid in green coffee bean extract. **Food Science & Nutrition**, v. 9, p. 5028-5035, 2021.

AYELIGN, A.; SABALLY, K. Determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans using HPLC. **American Journal of Research Communication**, v. 1, n. 2, p. 78-91, 2013.

BACKHAUS, A.; BOLLENBECK, F.; SEIFFERT, U. High-throughput quality control of coffee varieties and blends by artificial neural networks and hyperspectral imaging. In: International Congress on Cocoa, Coffee and Tea, CoCoTea, 1., 2011, Novara, Italy. **Proceedings...** Novara, Italy, 2011.

BANDEIRA, R. D. C. C. et al. Composição volátil dos defeitos intrínsecos do café por CG/EM-headspace. **Química Nova**, v. 32, p. 309-314, 2009.

BARBOSA, R. M. et al. The use of advanced chemometric techniques and trace element levels for controlling the authenticity of organic coffee. **Food Research International**, v. 61, p. 246-251, 2014.

BARBOZA DA SILVA, C. et al. Autofluorescence-spectral imaging as an innovative method for rapid, non-destructive and reliable assessing of soybean seed quality. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2021.

BELCHIOR, V. et al. Attenuated total reflectance fourier transform spectroscopy (atr-ftir) and chemometrics for discrimination of espresso coffees with different sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 273, p. 178-185, 2019.

BELGUIDOUM, K. et al. HPLC coupled to UV-vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 45, p. 1314-1320, 2014.

BEMFEITO, C. M. et al. Do consumers perceive sensory differences by Knowing information about coffee quality? **LWT - Food Science and Technology**, v. 138, art. 110778, 2021.

BEMILLER, J. N. Carbohydrate analysis. In: NIELSEN, S. S. (ed.). **Food analysis**. 5. ed. New York: Springer, 2017. p. 333-360.

BERTRAND, B. et al. Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2575-2583, 2012.

BHANDARKAR, N. S. et al. Green coffee ameliorates components of diet-induced metabolic syndrome in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 57, p. 141-149, 2019.

BIANCHINI, V. J. M. et al. Multispectral and X-ray images for characterization of *Jatropha curcas* L. seed quality. **Plant Methods**, v. 17, n. 1, p. 1-13, 2021.

BICHO, N. C. et al. Use of colour parameters for roasted coffee assessment. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 3, p. 436-442, 2012.

BICHO, N. C. et al. Quality assessment of Arabica and Robusta green and roasted coffees-A review. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, n. 12, p. 945-950, 2013.

BICHO, N. C. et al. Application of colour parameters for assessing the quality of Arabica and Robusta green coffee. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 26, n. 1, p. 9-17, 2014.

BONA, E. et al. Support vector machines in tandem with infrared spectroscopy for geographical classification of green arabica coffee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 330-336, 2017.

BONETTI, F.; BROMBO, G.; ZULIANI, G. Nootropics, Functional Foods, and Dietary Patterns for Prevention of Cognitive Decline. In: WATSON, R. R. (ed.). **Nutrition and functional foods for healthy aging**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 211-232.

BRADBURY, A. G. W. Chemistry I: Non-volatile Compounds. In: CLARKE, R.; VITZTHUM, O. G. (eds.). **Coffee: recent developments**. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 1-17.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8 de 11 de junho de 2003. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 jun. 2003. Seção 1, p. 4.

BRESSANI, R. et al. Niacin content of coffee in Central America. **Food Research**, v. 24, p. 344-351, 1959.

BREUIL, C.; SADDLER, J. N. Comparison of the 3,5-dinitrosalicylic acid and Nelson-Somogyi methods of assaying for reducing sugars and determining cellulase activity. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 7, n. 7, p. 327-332, 1985.

BUDRYN, G. et al. Influence of addition of green tea and green coffee extracts on the properties of fine yeast pastry fried products. **Food Research International**, v. 50, p. 149-160, 2013.

BUDRYN, G. et al. Properties of model systems of sunflower oil and green coffee extract after heat treatment and storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p. 467-478, 2014.

BUNZEL, M.; SCHENDEL, R. R. Determination of (Total) Phenolics and Antioxidant Capacity in Food and Ingredients. In: NIELSEN, S. S. (ed.). **Food analysis**. 5. ed. New York: Springer, 2017. p. 455-468.

BURATTI, S. et al. Discrimination between washed Arabica, natural Arabica and Robusta coffees by using near infrared spectroscopy, electronic nose and electronic tongue analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 11, p. 2192-2200, 2015.

BURDAN, F. Caffeine in coffee. In: PREEDY, V. R. (ed.). **Coffee in health and disease prevention**. Amsterdam: Elsevier, 2015. p. 201-207.

CALVINI, R.; AMIGO, J. M.; ULRICI, A. Transferring results from NIR-hyperspectral to NIR-multispectral imaging systems: A filter-based simulation applied to the classification of Arabica and Robusta green coffee. **Analytica Chimica Acta**, v. 967, p. 33-41, 2017.

CALVINI, R.; ULRICI, A.; AMIGO, J. M. Practical comparison of sparse methods for classification of Arabica and Robusta coffee species using near infrared hyperspectral imaging. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 146, p. 503-511, 2015.

CAMPA, C. et al. Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. **Food Chemistry**, v. 88, n. 1, p. 39-43, 2004.

CANTERGIANI, E. et al. Characterisation of the aroma of green Mexican coffee and identification of mouldy/earthy defect. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 6, p. 648-657, 2001.

CARDOSO, W. S. et al. Biochemical aspects of coffee fermentation. In: PEREIRA, L. L.; MOREIRA, T. R. (ed.). **Quality determinants in coffee production**. Cham, NE: Springer Nature, 2021. p. 149-208.

CARMO, L. B. do. **Extrato de café verde microencapsulado com diferentes agentes e métodos de secagem e sua aplicação em bebida láctea: efeitos sobre características físico-químicas, estabilidade e aspectos sensoriais**. 2019. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2019.

CASAL, S.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. HPLC/diode-array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. **Food Chemistry**, v. 68, n. 4, p. 481-485, 2000.

CASAL, S.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. Development of an HPLC/diode-array detector method for simultaneous determination of trigonelline, nicotinic acid, and caffeine in coffee. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 21, n. 20, p. 3187-3195, 1998.

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

CHEMURA, A. et al. Mapping spatial variability of foliar nitrogen in coffee (*Coffea arabica* L.) plantations with multispectral Sentinel-2 MSI data. **ISPRS ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 138, p. 1-11, 2018.

CHEN, C. et al. Fast detection of cumin and fennel using NIR spectroscopy combined with deep learning algorithms. **Optik**, v. 242, art. 167080, 2021.

CHENG, F. et al. Simultaneous determination of metal ions in zinc sulfate solution using UV-Vis spectrometry and SPSE-XGBoost method. **Sensors**, v. 20, n. 17, art. 4936, 2020.

CHENG, K. et al. Evaluation of the impact of different drying methods on the phenolic compounds, antioxidant activity, and in vitro digestion of green coffee beans. **Food Science & Nutrition**, v. 7, p. 1084-1095, 2019.

CHEONG, M. W. et al. Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 388-396, 2013.

CHIRFA, G.; MERDASSA, Y.; GURE, A. Salting-out Assisted Liquid-Liquid Extraction for Analysis of Caffeine and Nicotinic Acid in Coffee by HPLC-UV/Vis Detector. **Journal of Analysis and Testing**, v. 4, n. 4, p. 298-306, 2020.

CHOI, S. Y. et al. Protective effect of the coffee diterpenes kahweol and Cafestol on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative hepatotoxicity. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 27, n. 9, p. 1368-1392, 2006.

CLIFFORD, M. N. et al. Hierarchical Scheme for LC-MSⁿ Identification of Chlorogenic Acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2900-2911, 2003.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (org.). **Fundamentos de cromatografia**. Campinas, SP: Editora Unicamp, 2006.

DA ROCHA MIRANDA, J. et al. Detection of coffee berry necrosis by digital image processing of landsat 8 oli satellite imagery. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 85, art. 101983, 2020.

DA SILVA TAVEIRA, J. H. et al. Potential markers of coffee genotypes grown in different Brazilian regions: A metabolomics approach. **Food Research International**, v. 61, p. 75-82, 2014.

DE MELO PEREIRA, G. V. et al. Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 91, p. 65-96. 2020.

DE NOVAES, Q. S. et al. Quality of coffee produced in the Southwest region of Bahia, Brazil subjected to different forms of processing and drying. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 20, p. 2334-2339, 2013.

DE OLIVEIRA, E. M. et al. A computer vision system for coffee beans classification based on computational intelligence techniques. **Journal of Food Engineering**, v. 171, p. 22-27, 2016.

DE OLIVEIRA PIRES, M. S.; DE CARVALHO ALVES, M.; POZZA, E. A. Multispectral radiometric characterization of coffee rust epidemic in different irrigation management systems. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v. 86, art. 102016, 2020.

DE SOUZA, L. dos S. et al. Effect of the roasting levels of *Coffea arabica* L. extracts on their potential antioxidant capacity and antiproliferative activity in human prostate cancer cells. **RSC Advances**, v. 10, n. 50, p. 30115-30126, 2020.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

DESAI, N. M. et al. Prebiotic oligosaccharide enriched green coffee spent cookies and their nutritional, physicochemical and sensory properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 134, p. 1-7, 2020.

DÖNMEZ, Ö.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 901-907, 2017.

DOROKHOV, Y. L. et al. Metabolic Methanol: Molecular Pathways and Physiological Roles. **Physiological Reviews**, v. 95, p. 603-644, 2015.

DZIKI, D. et al. Ground green coffee beans as a functional food supplement - Preliminary study. **Food Science and Technology**, v. 63, p. 691-699, 2015.

ELHALIS, H. et al. The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, art. 108796, 2020.

ELHALIS, H. et al. The role of wet fermentation in enhancing coffee flavor, aroma and sensory quality. **European Food Research and Technology**, v. 247, p. 485-498, 2021.

ERÖZ POYRAZ, Í. et al. Volatile compounds of *Coffea arabica* L. green and roasted beans. **Anadolu University Journal of Science and Technology - C. Life Sciences and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 31-35, 2016.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488-495, 2012.

ESTEBAN-DIEZ, I.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M.; PIZARRO, C. An evaluation of orthogonal signal correction methods for the characterisation of arabica and robusta coffee varieties by NIRS. **Analytica Chimica Acta**, v. 514, n. 1, p. 57-67, 2004.

ESTEBAN-DÍEZ, I. et al. Coffee varietal differentiation based on near infrared spectroscopy. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 221-229, 2007.

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

FARAH, A. et al. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. **Journal of Nutrition**, v. 138, n. 12, p. 2309-2315. 2008.

FARAH, A. Coffee constituents. In: CHU, Y. F. (Ed.). **Coffee: emerging health effects and disease prevention**. 1. ed. Hoboken, NY: Wiley-Blackwell, 2012. p. 21-58.

FAWCETT, T. ROC graphs: Notes and practical considerations for researchers. **Machine Learning**, v. 31, n. 1, p. 1-38, 2004.

FELBERG, I. et al. Effect of simultaneous consumption of soymilk and coffee on the urinary excretion of isoflavones, chlorogenic acids and metabolites in healthy adults. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 688-699, 2015.

FERIA-MORALES, A. M. Examining the case of green coffee to illustrate the limitations of grading systems/expert tasters in sensory evaluation for quality control. **Food Quality and Preference**, v. 13, n. 6, p. 355-367, 2002.

FERRÃO, R. G. et al. *Coffea canephora*. In: FERRÃO, R. G. et al. (ed.). **Café Conilon**. 2. ed. rev. atual e ampl. Vitória, ES: Incaper, 2017. p. 37-53.

FERRÉ, L. Selection of components in principal component analysis: a comparison of methods. **Computational Statistics & Data Analysis**, v. 19, n. 6, p. 669-682, 1995.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. Campinas: Editora UNICAMP, 2015.

FERREIRA, T. et al. Three centuries on the science of coffee authenticity control. **Food Research International**, v. 149, art. 110690, 2021.

FIORE, A. G. et al. Quality assessment of roasted coffee blends by hyperspectral image analysis. In: International Conference on Coffee Science, 22., 2008, Campinas, SP. **Proceedings...** Paris: Association Scientifique Internationale du Café (ASIC), 2008.

FLAMENT, I. **Coffee flavor chemistry**. Hoboken, NY: John Wiley & Sons, 2001.

FOWBLE, K. L. et al. Spatial distributions of furan and 5-hydroxymethylfurfural in unroasted and roasted *Coffea arabica* beans. **Food Research International**, v. 119, p. 725-732, 2019.

GALANTER, J. M.; BOUSHEY, H. A. Fármacos usados na asma. In: KATZUNG, B. G., TREVOR, A. J. (ed.). **Farmacologia básica e clínica**. 13. ed. Porto Alegre: AMGH, 2017. p. 336-354.

GALLETTI, P. A. et al. Integrating optical imaging tools for rapid and non-invasive characterization of seed quality: tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and carrot (*Daucus carota* L.) as study cases. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, art. 577851, 2020. Doi: 10.3389/fpls.2020.577851.

GAO, Y. et al. Characterization of free, conjugated, and bound phenolic acids in seven commonly consumed vegetables. **Molecules**, v. 22, n. 11, art. 1878, 2017. Doi: 10.3390/molecules22111878.

GARCÍA, M.; CANDELO-BECERRA, J. E.; HOYOS, F. E. Quality and defect inspection of green coffee beans using a computer vision system. **Applied Sciences**, v. 9, n. 19, art. 4195, 2019. Doi: 10.3390/app9194195.

GARG, S. K. Green coffee bean. In: GUPTA, R. C. (ed.). **Nutraceuticals: efficacy, safety and toxicity**. Amsterdam, NE: Elsevier, 2016. p. 653-667.

GEMECHU, F. G. Embracing nutritional qualities, biological activities and technological properties of coffee byproducts in functional food formulation. **Trends in Food Science and Technology**, v. 104, p. 235-261, 2020.

GIL-AGUSTI, M. T. et al. Two-dimensional mapping as a tool for classification of green coffee bean species. **Proteomics**, v. 5, n. 3, p. 710-718, 2005.

GIRMA, B. Simultaneous Determination of Some Biochemical Contents of Coffee Arabica (*Coffea arabica* L.) Varieties and Correlation with Organoleptic Cup Quality in Contrasting Altitudes in Southwest Ethiopia. **Food Science and Quality Management**, v. 93, p. 22-33, 2020.

GIRMA, B; GURE, A; WEDAJO, F. Influence of Altitude on Caffeine, 5-caffeoylquinic acid, and nicotinic acid contents of arabica coffee varieties. **Journal of Chemistry**, v. 2020, p. 1-7, 2020.

GONÇALVES, M. D. B. **Produção e consumo de café: uma análise do custo de oportunidade de produção de cafés especiais e convencionais**. 2018. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Economia de São Paulo, Fundação Getúlio Vargas, São Paulo, 2018.

GONZALEZ-RIOS, O. et al. Impact of "ecological" post-harvest processing on coffee aroma: II. Roasted coffee. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3-4, p. 297-307, 2007.

GORDINI, N.; VEGLIO, V. Customers churn prediction and marketing retention strategies. An application of support vector machines based on the AUC parameter-selection technique in B2B e-commerce industry. **Industrial Marketing Management**, v. 62, p. 100-107, 2017.

HAFSAH, H.; IRIAWATI, I.; SYAMSUDIN, T. S. Dataset of volatile compounds from flowers and secondary metabolites from the skin pulp, green beans, and peaberry green beans of robusta coffee. **Data in Brief**, v. 29, art. 105219, 2020.

HAGOS, M. et al. Correlation between caffeine contents of green coffee beans and altitudes of the coffee plants grown in southwest Ethiopia. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 32, n. 1, p. 13-25, 2018.

HAILE, M.; KANG, W. H. The role of microbes in coffee fermentation and their impact on coffee quality. **Journal of Food Quality**, v. 2019, art. 4836709, 2019.

HAN, J.; KAMBER, M.; PEI, J. **Data Mining: concepts and techniques**. 3. ed. Amsterdam, NE: Elsevier, 2011. (The Morgan Kaufmann Series in Data Management Systems).

HASTIE, T. et al. **The elements of statistical learning: data mining, inference, and prediction**. New York: Springer, 2009.

HOLSCHER, W.; STEINHART, H. Aroma compounds in green coffee. In: CHARALAMBOUS, G. (ed.). **Food Flavors: generation, analysis and process influence**, 1995. p. 785-803. (Developments in Food Science, 37B).

HUANG, G. et al. Evaluation of CatBoost method for prediction of reference evapotranspiration in humid regions. **Journal of Hydrology**, v. 574, p. 1029-1041, 2019.

HUANG, N.-F.; CHOU, D.-L.; LEE, C.-A. Real-time classification of green coffee beans by using a convolutional neural network. In: International Conference on Imaging, Signal Processing and Communication (ICISPC), 3., 2019, Singapore. New York: IEEE, 2019. p. 107-111.

HUBER, W. W. et al. Effects of coffee and its chemopreventive components kahweol and cafestol on cytochrome P450 and sulfotransferase in rat liver. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 4, p. 1230-1238, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION - ICO. **International Coffee Agreement 2007**. London, 2007. Disponível em: <<http://www.ico.org/documents/ica2007e.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2020.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY - IUPAC. Compendium of Chemical Terminology. In: McNaught, A. D.; Wilkinson, A. (comp.). **The "Gold Book"**. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications, 1997. Doi: 10.1351/goldbook.

JAKUBCZYK, A. et al. Nutritional potential and inhibitory activity of bread fortified with green coffee beans against enzymes involved in metabolic syndrome pathogenesis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 95, p. 78-84, 2018.

JESZKA-SKOWRON, M.; ZGOŁA-GRZEŚKOWIA, A.; GRZEŚKOWIAK, T. Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. **European Food Research and Technology**, v. 240, p. 19-31, 2015.

JIMÉNEZ-CARVELO, A. M. et al. Alternative data mining/machine learning methods for the analytical evaluation of food quality and authenticity-A review. **Food Research International**, v. 122, p. 25-39, 2019.

JIMÉNEZ-CARVELO, A. M. et al. Fast-HPLC fingerprinting to discriminate olive oil from other edible vegetable oils by multivariate classification methods. **Journal of the AOAC International**, v. 100, n. 2, p. 345-350, 2017.

JOËT, T. et al. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 693-701, 2010.

JOHNSON, N. L. Systems of frequency curves generated by methods of translation. **Biometrika**, v. 36, n. 1/2, p. 149-176, 1949.

JOLLIFFE, I. Principal component analysis. **Encyclopedia of statistics in behavioral science**, v. 3, p. 1580-1584, 2005.

KILIÇ, K. et al. A classification system for beans using computer vision system and artificial neural networks. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 3, p. 897-904, 2007.

KIM, H.-J. et al. Identification of Headspace Volatile Compounds of Blended Coffee and Application to Principal Component Analysis. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 24, n. 2, p. 217-223, 2019.

KIM, J. Y. et al. The coffee diterpene kahweol suppress the inducible nitric oxide synthase expression in macrophages. **Cancer Letters**, v. 213, n. 2, p. 147-157, 2004.

KIM, J. Y.; JUNG, K. S.; JEONG, H. G. Suppressive effects of the kahweol and cafestol on cyclooxygenase-2 expression in macrophages. **FEBS Letters**, v. 569, n. 1-3, p. 321-326, 2004.

KITZBERGER, C. S. G. et al. Composição química de cafés árabica de cultivares tradicionais e modernas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 11, p. 1498-1506, 2013.

KITZBERGER, C. S. G. et al. Flavor precursors and sensory attributes of coffee submitted to different post-harvest processing. **AIMS Agriculture and Food**, v. 5, n. 4, p. 700-714, 2020

KLEINWÄCHTER, M.; BYTOF, G.; SELMAR, D. Coffee beans and processing. In: PREEDY, V. R. (ed.). **Coffee in health and disease prevention**. Amsterdam: Elsevier, 2015. p. 73-81.

LANGFORD, J. The cross validation problem. In: AUER, P.; MEIR, R. (eds.). **Learning Theory**. Berlin: Springer, 2005. p. 687-688. (Lecture Notes in Computer Science - LNCS, v. 3559).

LEE, K.-G.; SHIBAMOTO, T. Analysis of volatile components isolated from Hawaiian green coffee beans (*Coffea arabica* L.). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 5, p. 349-351, 2002.

LEE, K. J.; JEONG, H. G. Protective effects of kahweol and cafestol against hydrogen peroxide-induced oxidative stress and DNA damage. **Toxicology Letters**, v. 173, p. 80-87, 2007.

LEE, L. W. et al. Modulation of the volatile and non-volatile profiles of coffee fermented with *Yarrowia lipolytica*: I. Green coffee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 225-232, 2017.

LI, L. et al. Spectroscopy-Based Food Internal Quality Evaluation with XGBoost Algorithm. In: Asia-Pacific Web (APWeb) and Web-Age Information Management (WAIM). **Joint International Conference on Web and Big Data**. Cham: Springer, 2018. p. 56-64.

LIMA, F. A. de et al. Café e saúde humana: um enfoque nas substâncias presentes na bebida relacionadas às doenças cardiovasculares. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 6, p. 1063-1073, 2010.

LIU, J. et al. Nondestructive detection of sunset yellow in cream based on near-infrared spectroscopy and interval random forest. **Spectrochimica Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 242, art. 118718, 2020.

LIU, S.; WHITTY, M. Automatic grape bunch detection in vineyards with an SVM classifier. **Journal of Applied Logics**, v. 13, n. 4, p. 643-653, 2015.

MACHEINER, L. et al. Green coffee infusion as a source of caffeine and chlorogenic acid. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 84, p. 103307, 2019.

MACRAE, R. Nitrogenous Components. In CLARKE, R. J. (ed.). **Coffee**. v. 1: Chemistry. Heidelberg: Springer Science, 2012.

MADHAVA NAIDU, M. et al. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 377-384, 2008.

MAIONE, C. et al. Comparative study of data mining techniques for the authentication of organic grape juice based on ICP-MS analysis. **Expert Systems with Applications**, v. 49, p. 60-73, 2016.

MANDREKAR, J. N. Receiver operating characteristic curve in diagnostic test assessment. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 5, n. 9, p. 1315-1316, 2010.

MANLEY, M.; BAETEN, V. Spectroscopic technique: Near infrared (NIR) spectroscopy. In: SUN, D.-W. (ed.). **Modern techniques for food authentication**. Amsterdam, NE: Elsevier, 2018. p. 51-102.

MARASCO JUNIOR, C. A. et al. Automated method to determine pharmaceutical compounds in wastewater using on-line solid-phase extraction coupled to LC-MS/MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 413, n. 20, p. 5147-5160, 2021.

MARTÍN, M. J. et al. Determination of trigonelline in green and roasted coffee from single column ionic chromatography. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 357, n. 3, p. 357-358, 1997.

MAZZAFERA, P. Trigonelline in coffee. **Phytochemistry**, v. 30, n. 7, p. 2309-2310, 1991.

MONAKHOVA, Y. B. et al. Rapid approach to identify the presence of Arabica and Robusta species in coffee using ¹H NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 182, p. 178-184, 2015.

MOON, J.-K.; YOO, H. S.; SHIBAMOTO, T. Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: correlation with coffee acidity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 5365-5369, 2009.

MORAIS, S. A. L. de. Análise química de café arábica (*Coffea arabica* L.) e grãos pretos, verdes e ardidos (PVA) submetidos a diferentes graus de torração. **Coffee Science**, v. 2, n. 2, p. 97-111, 2007.

MUÑOZ, A. E. et al. Evaluation of differences in the antioxidant capacity and phenolic compounds of green and roasted coffee and their relationship with sensory properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 128, art. 109457, 2020.

MYLES, A. J.; ZIMMERMAN, T. A.; BROWN, S. D. Transfer of multivariate classification models between laboratory and process near-infrared spectrometers for the discrimination of green Arabica and Robusta coffee beans. **Applied Spectroscopy**, v. 60, n. 10, p. 1198-1203, 2006.

NAVARRA, G. et al. Simultaneous determination of caffeine and chlorogenic acids in green coffee by UV/Vis spectroscopy. **Journal of Chemistry**, v. 2017, art. 6435086, 2017. Doi: 10.1155/2017/6435086.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v. 153, n. 2, p. 375-380, 1944.

OGASAWARA, G. A. **Variabilidade de diterpenos e estresse hídrico em *Coffea* spp.** 2015. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo, Campinas, 2015.

OLIVEIRA, A. C. de et al. Fontes Vegetais Naturais de Antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, N. A. de. **Análise da concentração de compostos bioativos e avaliação da toxicidade aguda *in vivo* dos diterpenos cafestol e caveol presentes no óleo de grãos de café verdes obtidos por extração supercrítica e por extração com fluido pressurizado**. 2016. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

OLIVEIRA, N. M. et al. Hormetic effects of low-dose gamma rays in soybean seeds and seedlings: A detection technique using optical sensors. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 187, art. 106251, 2021.

OLIVEIRA, P. M. A. de. **Óleo de grãos de café verde obtidos por extração supercrítica, extração com fluido pressurizado e comparação de sua composição com o óleo de café extraído pelos pequenos produtores do estado de São Paulo: análise da concentração de compostos bioativos**. 2013. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

OLIVERI, P. et al. An innovative multivariate strategy for HSI-NIR images to automatically detect defects in green coffee. **Talanta**, v. 199, p. 270-276, 2019.

OECD/FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2019-2028**. Rome: FAO, 2019. Doi: 10.1787/agr_outlook-2019-en.

ORIGINLAB CORPORATION. **ORIGINPRO**. Version 2021. Northampton, MA, 2021. Disponível em: <<https://www.originlab.com/>>. Acesso em: 14 jan. 2021.

PAL, M.; MATHER, P. M. Support vector machines for classification in remote sensing. **International Journal of Remote Sensing**, v. 26, n. 5, p. 1007-1011, 2005.

PALMIERI, M. G. S. **Atividade antioxidante de extratos de café verde biotransformado pelo fungo *Aspergillus oryzae***. 2017. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2017.

PEREIRA, G. V. de M. et al. Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 91, p. 65-96, 2020a.

PEREIRA, L. L. et al. New propositions about coffee wet processing: Chemical and sensory perspectives. **Food Chemistry**, v. 310, p. 125943, 2020b.

PEREIRA, L. L. et al. Roasting Process. In: PEREIRA, L. L.; MOREIRA, T. R. (ed.). **Quality Determinants in Coffee Production**. Cham: Springer, 2021. p. 303-372.

PINHEIRO, P. F. et al. Chemical Constituents of Coffee. In: PEREIRA, L. L.; MOREIRA, T. R. (ed.). **Quality Determinants in Coffee Production**. Cham: Springer, 2021. p. 209-254.

PROCIDA, G. et al. Characterization of Arabica and Robusta volatile coffees composition by reverse carrier gas headspace gas chromatography-mass spectrometry based on a statistical approach. **Food Science and Biotechnology**, v. 29, n. 10, p. 1319-1330, 2020.

RAMALAKSHMI, K.; KUBRA, I. R.; RAO, L. J. M. Physicochemical characteristics of green coffee: Comparison of graded and defective beans. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 5, p. S333-S337, 2007.

REDGWELL, R.; FISCHER, M. Coffee carbohydrates. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 165-174, 2006.

RENCHE, A. C. **Methods of multivariate analysis**. 2. ed. Hoboken, NY: John Wiley & Sons, 2002.

RICCI, A.; PARPINELLO, G. P.; VERSARI, A. The Nutraceutical impact of polyphenolic composition in commonly consumed green tea, green coffee and red wine beverages: a review. **Recent Advances in Food and Nutrition Research**, v. 1, n. 1, p. 12-27, 2018.

RODRIGUEZ, D. B.; FRANK, H. A.; YAMAMOTO, H. Y. Acetaldehyde as a possible indicator of spoilage in green Kona (Hawaiian) coffee. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 20, n. 1, p. 15-17, 1969.

RODRIGUEZ, J. D.; PEREZ, A.; LOZANO, J. A. Sensitivity analysis of k-fold cross validation in prediction error estimation. **IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence**, v. 32, n. 3, p. 569-575, 2009.

ROMERO, N. G. **Extração de compostos fenólicos a partir de café e sua caracterização química e funcional**. 2017. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2017.

ROSA, G. M. **Análise química e atividade antioxidante de quatro amostras de café (*Coffea arabica*) comerciais**. 2010. 113 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

ROSTAGNO, M. A. et al. Phenolic compounds in coffee compared to other beverages. In: PREEDY, V. R. (ed.). **Coffee in health and disease prevention**. Amsterdam: Elsevier, 2015. p. 137-142.

SANTIAGO, W. D. et al. Development and validation of chromatographic methods to quantify organic compounds in green coffee (*Coffea arabica*) beans. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 8, p. 1275-1282, 2020.

SANTOS, J. R. et al. Evaluation of green coffee beans quality using near infrared spectroscopy: A quantitative approach. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1828-1835, 2012.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Resolução SAA nº 31 de 22 de junho de 2007. Norma de padrões mínimos de qualidade para café torrado em grão e torrado e moído - característica especial: café gourmet. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**. Executivo, São Paulo, 23 jun. 2007. Seção I, n. 117, p. 24.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Resolução SAA nº 19 de 05 de abril de 2010. Norma de padrões mínimos de qualidade para café torrado em grão e torrado e moído – característica: café tradicional. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**. Executivo, São Paulo, 09 abr. 2010. Seção I, n. 120, p. 66.

SCHOBER, P.; BOER, C.; SCHWARTE, L. A. Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. **Anesthesia & Analgesia**, v. 126, n. 5, p. 1763-1768, 2018.

SEÇZYK, Ł.; ŚWIECA, M.; GAWLIK-DZIKI, U. Soymilk enriched with green coffee phenolics - Antioxidant and nutritional properties in the light of phenolics-food matrix interactions. **Food Chemistry**, v. 223, p. 1-7, 2016.

SHAO, Y.; LIN, A. H.-M. Improvement in the quantification of reducing sugars by miniaturizing the Somogyi-Nelson assay using a microtiter plate. **Food Chemistry**, v. 240, p. 898-903, 2018.

SHMILOVICI, A. Support vector machines. In: MAIMON, O.; ROKACH, L. (ed.). **Data mining and knowledge discovery handbook**, p. 231-247, 2009.

SIKORSKA, E.; KHMELINSKII, I.; SIKORSKI, M. Fluorescence spectroscopy and imaging instruments for food quality evaluation. In: ZHONG, J.; WANG, X. (ed.). **Evaluation technologies for food quality**. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 491-533.

SILVA, J.; VARELA, N.; LEZAMA, O. B. P. Multispectral image analysis for the detection of diseases in coffee production. In: International Symposium on Distributed Computing and Artificial Intelligence, 2020, L'Aquila, Italy. **Proceedings...** p. 198-205. (Advances in Intelligent and Soft Computing - AINSC, v. 91).

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de química analítica**. 9. ed. Boston: Cengage Learning, 2017.

SOKOLOVA, M.; LAPALME, G. A systematic analysis of performance measures for classification tasks. **Information Processing and Management**, v. 45, n. 4, p. 427-437, 2009.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química orgânica**. 7. ed. São Paulo: LTC - Livros Técnico e Científicos, 2002. v. 2.

SOMPORN, C. et al. Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 11, p. 2287-2296, 2011.

SOUZA, L. dos S. de. **Compostos bioativos do café**: Atividade antioxidante e influência sobre linhagens celulares humanas de adenocarcinoma de próstata. 2019. 80 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA - SCAA. **SCAA Protocols**. Cupping Specialty Coffee. Santa Ana, CA, 2009. p. 1-7. Disponível em: <<https://www.scaa.org/PDF/PR%20-%20CUPPING%20PROTOCOLS%20V.21NOV2009A.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2020.

STEINWART, I.; CHRISTMANN, A. **Support vector machines**. Heidelberg: Springer Science, 2008.

SU, W.-H.; HE, H.-J.; SUN, D.-W. Non-destructive and rapid evaluation of staple foods quality by using spectroscopic techniques: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 5, p. 1039-1051, 2017.

SU, W.-H.; SUN, D.-W. Multispectral imaging for plant food quality analysis and visualization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 1, p. 220-239, 2018.

ŚWIECA, M. et al. Wheat bread enriched with green coffee - in vitro bioaccessibility and bioavailability of phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1451-1457, 2017.

TAJIK, N. et al. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. **European Journal of Nutrition**, v. 56, n. 7, p. 2215-2244, 2017.

TSEGAY, G. et al. Volatile profile of green coffee beans from *Coffea arabica* L. plants grown at different altitudes in Ethiopia. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 33, n. 3, p. 401-413, 2019.

THIGPEN, J.; SHAH, S. K. Multispectral Imaging. In: WU, Q.; MERCHANT, F.; CASTLEMAN, K. (ed.). **Microscope image processing**. Amsterdam: Elsevier, 2010. p. 299-327.

TOCI, A. T.; FARAH, A. Volatile compounds as potential defective coffee beans' markers. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1133-1141, 2008.

TOCI, A. T.; FARAH, A. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. **Food Chemistry**, v. 153, p. 298-314, 2014.

TORRES, H. T. **Tributação do café exportado precisa ser revista**. Consultor Jurídico, on-line, 29 fev. 2012. Disponível em: <<https://www.conjur.com.br/2012-fev-29/consultor-tributario-inconstitucionalidades-tributacao-cafe-importado>>. Acesso em: 28 jun. 2020.

TRETTNER, D.; MEMON, N.; BOUMAN, C. Multispectral image coding. In: BOVIK, A. (ed.). **Handbook of Image and Video Processing**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2005. p. 747-760.

TRINH, K. et al. Decaffeinated Coffee and Nicotine-Free Tobacco Provide Neuroprotection in Drosophila Models of Parkinson's Disease through an NRF2-Dependent Mechanism. **Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 16, p. 5525-5532, 2010.

TRIPETCH, P.; BOROMPICHAICHARTKU, C. Effect of packaging materials and storage time on changes of colour, phenolic content, chlorogenic acid and antioxidant activity in Arabica green coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). **Journal of Stored Products Research**, v. 84, art. 101510, 2019.

TSAKANIKAS, P. et al. A machine learning workflow for raw food spectroscopic classification in a future industry. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2020.

TSUKUI, A.; OIGMAN, S. S.; REZENDE, C. M. Óleo de grãos de café cru: Diterpenos Cafestol e Caveol. **Revista Virtual Química**, v. 6, n. 1, p. 16-33, 2014.

TZENG, D.-Y.; BERNS, R. S. A review of principal component analysis and its applications to color technology. **Color Research and Application**, v. 30, n. 2, p. 84-98, 2005.

VALLE, S.; LI, W.; QIN, S. J. Selection of the number of principal components: the variance of the reconstruction error criterion with a comparison to other methods. **Industrial & Engineering Chemistry**, v. 38, n. 11, p. 4389-4401, 1999.

VIGNOLI, J. A. et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International**, v. 61, p. 279-285, 2014.

VIEIRA, L. do C. G. **Características fitoquímicas e propriedades antioxidantes do grão de café verde**. 2018. 53 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2018.

WEI, F. et al. ¹³C NMR-based metabolomics for the classification of green coffee beans according to variety and origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 40, p. 10118-10125, 2012.

WEI, F.; TANOKURA, M. Organic Compounds in Green Coffee Beans. In: PREEDY, V. R. (ed.). **Coffee in health and disease prevention**. Amsterdam: Elsevier, 2015. p. 149-162.

WESTERVELD, J. J. L. et al. Forecasting transitions in the state of food security with machine learning using transferable features. **Science of the Total Environment**, v. 786, p. 147366, 2021.

WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. Principal component analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 2, n. 1-3, p. 37-52, 1987.

YERETZIAN, C. et al. Coffee volatile and aroma compounds-from the green bean to the cup. In: FARAH, A. (ed.). **Coffee: production, quality and chemistry**. London: Royal society of Chemistry, 2019. p. 726-770.

YISAK, H.; REDI-ABSHIRO, M.; CHANDRAVANSI, B. S. Selective determination of caffeine and trigonelline in aqueous extract of green coffee beans by FT-MIR-ATR spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 97, p. 33-38, 2018.

ZAIN, M. Z. M.; BABA, A. S.; SHORI, A. B. Effect of polyphenols enriched from green coffee bean on antioxidant activity and sensory evaluation of bread. **Journal of King Saud University - Science**, v. 30, n. 2, p. 278-282, 2018.

ZHANG, S. et al. Determination of the food dye indigotine in cream by near-infrared spectroscopy technology combined with random forest model. **Spectrochimica Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 227, art. 117551, 2020.