

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

**ANÁLISE QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
DE QUATRO AMOSTRAS DE CAFÉ (*Coffea arabica*)
COMERCIAIS**

Gabriel Marques Rosa

**Uberlândia
2010**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

**ANÁLISE QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
DE QUATRO AMOSTRAS DE CAFÉ (*Coffea arabica*)
COMERCIAIS**

Gabriel Marques Rosa

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antônio Lemos de Moraes

**Uberlândia
2010**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU – MG, Brasil

R788a Rosa, Gabriel Marques, 1983-
Análise química e atividade antioxidante de quatro amostras de café
(*Coffea arabica*) comerciais [manuscrito] / Gabriel Marques Rosa. - 2010.
113 f. : il.

Orientador: Sérgio Antônio Lemos de Moraes.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa
de Pós-Graduação em Química.
Inclui bibliografia.

1. Café - Composição - Teses. I. Moraes, Sérgio Antônio Lemos de.
II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Química. III. Título.

CDU: 543.582.972.3



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Química
Programa de Pós Graduação em Química – MESTRADO
E-mail: cpqquimica@ufu.br - Fone: 3239-4385

ALUNO(A): GABRIEL MARQUES ROSA

NÚMERO DE MATRÍCULA: 93820

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA

PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA: NÍVEL MESTRADO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

***“Análise química e atividade antioxidante de quatro
amostras de café (Coffea arábica) comerciais”***

ORIENTADOR(A):

PROF. DR. SÉRGIO ANTÔNIO LEMOS DE MORAIS

A Dissertação foi **APROVADA** em apresentação pública realizada sala 1B204 do Bloco 1B, no Campus Santa Mônica, no dia 3 de agosto de 2010, às 9:00 horas, tendo como Banca Examinadora:

NOME:

ASSINATURA:

Prof. Dr. Sérgio Antônio Lemos de Moraes
(IQUFU)

Prof. Dr. Carlos Frederico de Souza Castro
(IF-Goiano)

Prof. Dr. Welington de Oliveira Cruz
(IQUFU)

Uberlândia, 3 de agosto de 2010.

AGRADECIMENTOS

Á Deus e aos meus pais por acreditarem no meu trabalho e por todo apoio que me deram em minha vida acadêmica.

Ao meu filho Daniel, pelos sorrisos e bagunças.

A Thaís Moraes Arantes: apenas nós dois sabemos quão grande e importante foi sua ajuda para a conclusão desse trabalho.

Aos meus orientadores e colegas de laboratório, por acreditarem em mim e por palavras de incentivo e suporte nesta tão importante etapa de minha carreira profissional.

A Universidade Federal de Uberlândia (UFU), por ceder materiais e reagentes, além da estrutura e equipamentos.

Ao Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) e ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP – São Carlos) pelas contribuições nas análises.

A FAPEMIG pelo suporte à pesquisa, ao Instituto Federal Goiano Campus Rio Verde por permitir que adaptasse meu horário de uma maneira que pudesse concluir o programa de mestrado.

As pessoas que mesmo com seu dia corrido tiraram um tempinho para trocar algumas idéias ou palavras gentis.

Obrigado

.Resumo

A padronização adotada para o café vendido ao consumidor brasileiro é muito flexível e não existe um controle de qualidade rígido, este trabalho busca criar um parâmetro dentre quatro amostras (A, B, C e D) de cafés comerciais do Triângulo Mineiro e Sul Goiano e um padrão selecionado de café arábica.

As amostras A e C apresentaram teor de umidade superior aos recomendados pela ANVISA. As amostras A e B apresentam uma maior quantidade de sólidos solúveis, que é desejável para garantir o corpo da bebida de qualidade. Todas as amostras apresentaram teores de cafeína de acordo com os valores estipulados pela legislação vigente de pelo menos 0,7%, a amostra C apresentou o menor valor de cafeína entre as amostras comerciais e amostra D apresentou o maior teor, o que sugere um teor superior de café robusta, misturado nesta amostra. Os teores de proteínas para o café padrão e amostras em pó variaram de 16,56 a 18,69% e para as frações solúveis variaram de 21,88 a 25,25%. Todas as amostras tanto do padrão como dos cafés comerciais apresentaram atividade seqüestradora do radical DPPH[•], a amostra D, juntamente com o café selecionado apresentou maior percentagem de inibição de radicais DPPH[•].

O Padrão apresentou maior número de compostos voláteis identificados e as Amostras C e D apresentaram os menores teores destes constituintes. O IVTF possibilitou a identificação de grupos funcionais ativos nesta região do espectro em todas as amostras, tanto na forma de pó como no extrato solúvel da bebida,

mas nenhuma amostra apresentou características que pudessem ser utilizadas como forma de diferenciação.

Na fração solúvel de todos os espectros de RMN de ^1H foram observados os sinais referentes ao ácido quínico, cafeína, ácidos clorogênicos, ácido fórmico e trigonelina; na amostra A foi verificado um sinal bastante intenso na região 0,9 a 1,2 ppm, característico de sinais de prótons de grupos CH_3 e CH_2 .

O teor mais elevado de ácidos clorogênicos da amostra padrão foi evidenciado pela presença do ácido quínico identificado pelo sinal por volta de 2,0 ppm. Através do RMN de ^{13}C no estado sólido foi possível observar a presença de sinais característicos de carbonos possivelmente referentes à cafeína, ácidos clorogênicos e ácido quínico em todas as amostras e no padrão.

Abstract

The ground coffee consumed in Brazil has a poor standardization and there is a lack of a rigid quality control in this kind of coffee. The present work compared four commercial brands of cerrado coffee (A, B, C and D) with a standard cerrado coffee. We intended to establish a quality relationship between the standard coffee and the commercial ones that are sold in Triângulo Mineiro – MG and Southern of Goiás – GO regions.

Brands A and C showed humidity content above the permitted by ANVISA (National Agency for Sanitary Vigilance). Brands A and B showed a higher soluble solids content, which is desirable, adding body to a quality drink. All samples showed caffeine levels within permitted range by actual legislation, and, brand C showed the lowest caffeine level and brand D showed the highest level, what suggests that this brand could have more robusta grains on its composition. The protein levels for the standard coffee and ground samples varied from 16.56 to 18.69% and for the soluble fraction varied from 21.88 to 25.25%. All samples presented scavenger activity against free radical DPPH[•] and brand D and the standard coffee showed the highest inhibition percentage. The standard coffee also presented the highest number of volatile compounds identified by GC/MS, and brands C and D showed the lowest levels for these constituents. The FTIR identified active functional groups for all samples, in the ground coffee as in the soluble drinkable extract, but no one brand showed properties that could be used in its differentiation.

The ^1H NMR of all soluble fractions allowed the observation of signals referring to quinic acid, caffeine, chlorogenic acids, formic acid and trigoneline. In brand A, was observed an intense signal near 0.9 to 1.2 ppm, peculiar to CH_3 and CH_2 protons. The highest chlorogenic acid level was in standard coffee, evidenced by a signal near 2.0 ppm. The solid state ^{13}C NMR allowed the observation of peculiar signals of caffeine, chlorogenic acid and quinic acid in all samples, including the standard, but it was not possible to distinguish among them.

Índice

1. Introdução	14
1.1 O Cafeeiro	15
1.2 Grãos com defeitos do tipo verdes, pretos e ardidos	17
1.3 Classificação dos Grãos de Café	17
1.4 Torra	18
1.5 Composição Química do Café	22
1.5.1 Compostos Fenólicos	23
1.5.1.1 Proantocianidinas	24
1.5.1.2 Flavonóides	25
1.5.2 Cafeína	27
1.5.3 Trigonelina	29
1.5.4 Ácidos Clorogênicos	30
1.5.5 Polissacarídeos	32
1.5.6 Metais	33
1.5.7 Constituintes Voláteis	34
1.6 Atividade Antioxidante de Cafés	36
2 Objetivos	41
3. Materiais e Métodos	42
3.1 Amostras	42
3.2 Torra e Moagem	42
3.3 Umidade	43

3.4 Solubilidade em Água á 96 °C	43
3.5 Determinação do Teor de Cafeína	44
3.6 Análise Elementar	44
3.7 Espectroscopia no Infravermelho	45
3.8 RMN de ¹ H	45
3.9 RMN de ¹³ C no Estado Sólido	46
3.10 Determinação de OH Fenólicos e Carboxílicos (Ácidos Totais)	47
3.11 Determinação da Atividade Antioxidante pelo Método do Radical DPPH	47
3.12 Determinação Simultâneade Trigonelina, Ácidos Clorogênicos, Ácido Cafeíco e Cafeína	49
3.13 Extração do Óleo Essencial	50
3.14 Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectroscopia de Massas	50
3.15 Análises Estatísticas	50
4 Resultados e Discussão	51
4.1 Determinação da Umidade	51
4.2 Solubilidade em Água à 96 °C	52
4.3 Extração de Cafeína	55
4.4 Análise Elementar	58
4.5 Determinação de OH Fenólicos e Carboxílicos (Ácidos Totais)	60
4.6 Atividade Antioxidante e CE ₅₀	61
4.7 Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectroscopia de Massa	73
4.8 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	80
4.9 Espectroscopia no Infra Vermelho com Transformada de Forrier (IVTF)	87

4.10 RMN de ^1H	94
4.11 RMN de ^{13}C no Estado Sólido	99
5 Conclusão	102
6 Referências	104

Índice de Figuras

Figura 1. Reação do ácido 5-cafeoilquínico durante o processo de torra	20
Figura 2. Estrutura das proantocianidinas	25
Figura 3. Taninos hidrolisáveis	26
Figura 4. Estrutura da cafeína	28
Figura 5. Estrutura da trigonelina	29
Figura 6. Estrutura geral dos ácidos clorogênicos	31
Figura 7. Estrutura dos galactomananos e arabinogalactanos	33
Figura 8. Teor de umidade dos cafés comerciais e padrão expresso em porcentagem	51
Figura 9. Porcentagem de sólidos solúveis de amostras dos cafés comerciais e do padrão	53
Figura 10. Porcentagem de sólidos insolúveis de amostras dos cafés comerciais e do padrão	53
Figura 11. Teor de cafeína dos cafés comerciais e padrão expresso em porcentagem	56
Figura 12. Teores de grupos hidroxila ácidos nas amostras de cafés comerciais e do padrão	60
Figura 13. Curva de calibração do radical DPPH'	62
Figura 14. Estrutura do radical livre e estável DPPH' e sua redução para DPPH-H pelos antioxidantes A-H presentes no café	64
Figura 15. Gráfico da atividade antioxidante do café Padrão em várias concentrações em função do tempo	65
Figura 16. Gráfico da atividade antioxidante da amostra de café A em várias concentrações em função do tempo	65
Figura 17. Gráfico da atividade antioxidante da amostra de café B em várias concentrações em função do tempo	66

Figura 18. Gráfico da atividade antioxidante da amostra de café C em várias concentrações em função do tempo	66
Figura 19. Gráfico da atividade antioxidante da amostra de café D em várias concentrações em função do tempo	67
Figura 20. Porcentagem de atividade antioxidante das amostras de café comerciais e padrão para o tempo de reação de 40 minutos	68
Figura 21. Gráfico da reta obtida para cálculo de CE ₅₀ do padrão	69
Figura 22. Gráfico da reta obtida para calculo de CE ₅₀ da amostra A	69
Figura 23. Gráfico da reta obtida para calculo de CE ₅₀ da amostra B	70
Figura 24. Gráfico da reta obtida para calculo de CE ₅₀ da amostra C	70
Figura 25. Gráfico da reta obtida para calculo de CE ₅₀ da amostra D	71
Figura 26. Concentração efetiva média (CE ₅₀ em µg mL ⁻¹) calculada para as amostras de café comerciais e padrão	72
Figura 27. Cromatograma do padrão de Trigonelina	80
Figura 28. Cromatograma do padrão de Ácido Cafeíco	80
Figura 29. Cromatograma do padrão de Cafeína	81
Figura 30. Padrão Ácido Clorogênico	81
Figura 31. Curva de calibração para a Trigonelina	82
Figura 32. Curva de calibração do Ácido Cafeíco	82
Figura 33. Curva de calibração da Cafeína	83
Figura 34. Curva de Calibração do Ácido Clorogênico	83
Figura 35. Quantidade de cafeína presente por grama de amostra	84

Figura 36. Quantidade de trigonelina presente por grama de amostra	84
Figura 37. Quantidade de Acido Cafeico presente por grama de amostra	85
Figura 38. Quantidade de Ácidos Clorogênicos presentes em um grama de amostra.	85
Figura 39. Espectros de infravermelho relativos às amostras do pó de café para as amostra A, B, C, D e Padrão.	88
Figura 40. Espectros de infravermelho da parte solúvel das amostras de café A, B, C, D e Padrão.	91
Figura 41. Estruturas dos compostos caracterizados por RMN de ¹ H (TAVARES e FERREIRA, 2006)	94
Figura 42. Espectro de RMN de ¹ H obtido diretamente da bebida de café.	98
Figura 43. Espectro de RMN de ¹³ C obtido diretamente do pó de café.	100

Índice de Tabelas

Tabela 1. Condições para torra do café	22
Tabela 2. Composição química de grãos de café (arábica e robusta) crus e torrados	23
Tabela 3. Concentração de alguns metais presentes na bebida de café	34
Tabela 4. Odorantes potentes detectados nos óleos essenciais do café e PVA	35
Tabela 5. Análise elementar do pó de café	58
Tabela 6. Análise elementar parte solúvel do café	59
Tabela 7. Compostos voláteis do Padrão	73
Tabela 8. Compostos voláteis da Amostra A	75
Tabela 9. Compostos voláteis da Amostra B	76
Tabela 10. Compostos voláteis da Amostra C	77
Tabela 11. Compostos Voláteis da Amostra D	78
Tabela 12. Atribuição das bandas de absorção no infravermelho para as amostras referentes ao pó das amostras A, B, C, D e padrão	89
Tabela 13. Atribuição das bandas de absorção no infravermelho referente à parte solúvel das amostras dos A, B, C, D e padrão	92
Tabela 14. Deslocamentos químicos δ (ppm) de RMN de ^1H para os compostos identificados na bebida de café	95

1. Introdução

O café chegou ao Brasil em 1727, trazido da Guiana Francesa, pelo Sargento-Mor Francisco de Mello Palheta. Devido às nossas condições climáticas o café se adaptou muito bem e no início do século XIX despertou interesse nos grandes proprietários, tornando-se rapidamente a principal atividade agrícola do país sendo responsável por mais da metade das divisas oriundas das exportações brasileiras.

Nas primeiras décadas do século XIX, o Brasil dominou o cenário mundial respondendo em média por 70% da produção. Atualmente o Brasil é o maior produtor mundial de café, sendo responsável por 30% do mercado internacional, suas áreas cafeeiras estão concentradas principalmente nos estados de: Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Paraná (ABIC-a).

A Colômbia e outros países produtores que buscavam competitividade neste mercado perceberam rapidamente às exigências crescentes por um produto com padrão de qualidade e introduziram modificações significativas no cultivo, como exemplo, a colheita seletiva que consiste em colher somente os grãos maduros, garantindo maior homogeneidade e qualidade no produto final.

Para não perder mercado o Brasil vem desde a década de 80 implantando ações como investimentos em melhorias para aumentar a produtividade e a criação de selos de qualidade. Houve uma ampliação dos recursos gastos em propaganda e buscando atender um mercado mais seletivo foram inseridos cafés especiais como o orgânico, o “gourmet” e o expresso. Outra maneira que se têm

buscado para valorizar o café é através de pesquisas que agregam valor ao produto, como cremes faciais que combatem o envelhecimento da pele.

1.1. O Cafeeiro

O cafeeiro é uma planta que pertence à família *Rubiaceae* e ao gênero *Coffea* e contêm cerca de 60 espécies, pelo menos 25 são originárias da África e ilhas do Oceano Índico, entre elas duas espécies de cafeeiro são representativas economicamente, o café arábica (*Coffea arabica*), e o café robusta (*Coffea canephora*).

A espécie conhecida como arábica produz cafés de melhor qualidade, pois possui nuances de sabores gerando cafés mais finos e requintados seus frutos são redondos, suaves, levemente amargos, de cor semelhante a chocolate, possuem crosta lisa e perfume intenso. Cultivada em regiões de altitude acima de 800 m, seus frutos ficam maduros em um período de 7 a 9 meses. (CNCAFE, 2010).

Conhecida como robusta esta espécie é originária da África, de trato mais rude pode ser cultivada ao nível do mar comparando-a com a arábica esta espécie tem maior precocidade, resistência e maior produtividade, porém não apresenta nuances de sabor. (CNCAFE, 2010).

Os grãos de café da espécie robusta são utilizados em “*Blends*” que constituem misturas de grãos de espécies diferentes, normalmente são misturados

com grãos de café oriundos da espécie arábica. Além disso, grande parte de sua produção é utilizada na fabricação de café solúvel, uma vez que apresenta maior teor de sólidos solúveis (CARRERA et al., 1998).

O cafeeiro é uma planta de floração gregária, ou seja, todos florescem simultaneamente em uma região, suas floradas variam desde poucas até várias ao longo do ano em regiões equatoriais (SOARES et al., 2005).

Seus frutos podem ser colhidos de forma manual, semi-mecanizada ou mecanizada.

A colheita manual pode ser seletiva, onde se retira a dedo somente os frutos maduros, ou concentrada, onde derriça-se a dedo somente os ramos maduros em panos ou em peneiras.

A colheita semi mecanizada utiliza derriçadeiras portáteis ou tracionadas desprovidas de recolhedores, todos os ramos do cafeeiro são derriçados.

A colheita mecanizada é feita com máquinas colhedoras completas automotrizes ou tracionadas por tratores.

O Brasil é o maior produtor mundial de grãos de café, números da safra 2006/2007 mostram que o país exportou 27 milhões de sacas de café verde e em 2008 a produção brasileira de café beneficiado foi de aproximadamente 46 milhões de sacas de 60 quilos. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC), o consumo interno de café foi de 16,3 milhões de sacas entre novembro/2006 e outubro/2007. Para 2010, a estimativa é de 21 milhões, o que fará do país o maior consumidor do produto no mundo, superando a posição ocupada pelos Estados Unidos, com média que atinge 20 milhões (MORAIS et. al., 2008).

1.2. Grãos com Defeitos do Tipo Pretos, Verdes e Ardidos

A melhor qualidade da bebida é propiciada por grãos que atingem um estágio de maturidade ideal, grãos cereja, no qual a casca, a polpa e a semente se encontram com composição química adequada a proporcionar ao fruto seu máximo de qualidade.

Os grãos pretos, verdes e ardidos (PVA) constituem defeitos intrínsecos do café e resulta da colheita atrasada ou adiantada (grãos verdes), excesso de umidade ou de grãos que permaneceram muito tempo no chão. Sua utilização na torra reduz a qualidade da bebida, pois altera cor, aroma e sabor (TOLEDO e BARBOSA, 1998; SAES e FARINA, 1999; MENDONÇA et al., 2003; AKIYAMA et al., 2005).

Os grãos de café defeituosos representam em torno de 20% do total da produção de café brasileiro e são separados dos grãos saudáveis antes da comercialização no mercado internacional, sendo inteiramente destinados ao mercado interno, porque permitem a redução de custos dos cafés vendidos no mercado interno (FRANCA et al., 2005).

1.3. Classificação dos Grãos de Café

A falta de regulamentação tem levado ao aparecimento de cafés de qualidade inferior ou de cafés adulterados, criando um comércio de produtos insatisfatórios. Em 2001, o governo do Estado de São Paulo definiu uma norma técnica para fixação de identidade e qualidade de café torrado em grão e café

torrado moído (SÃO PAULO, 2001). De acordo com essas recomendações, os grãos de cafés crus são classificados de acordo com sua composição em:

- Cafés Gourmet: Constituídos de grãos de cafés 100% arábica, de origem única ou misturados de bebida mole. Deve ser completamente ausente de grãos com defeitos, (PVA) e/ou fermentados.
- Cafés Superiores: Constituídos de grãos de cafés arábica ou misturados com grãos de café robusta (robusta), estes com limite de até 15% na mistura, desde que limpos e de bebida dura a mole, devem ter um máximo de 10% de defeitos pretos, verdes e ardidos (PVA) e/ou fermentados.
- Cafés Tradicionais: Constituídos de grãos de cafés arábica ou misturados com robusta, estes com limite de até 30% na mistura, desde que limpos, com bebida variando de mole a rio. Admite-se um máximo de 20% de grãos PVA e ausência de grãos fermentados.

1.4. Torra

O sabor e o aroma da bebida de café são influenciados por vários fatores que vão desde a colheita até o preparo da mesma. A torra é considerado uma das etapas mais importantes para o desenvolvimento do sabor e aroma do café, que são conferidos por compostos voláteis, presentes nos grãos antes e/ou após a torra. Nesta fase os grãos sofrem reações pirolíticas importantes, necessárias à formação da qualidade sensorial e mudanças físicas. As reações pirolíticas ocorrem nos compostos orgânicos do grão cru gerando produtos, tais como;

ácidos voláteis, sulfetos, caramelos e outros que podem variar de uma espécie a outra e também entre cultivares. É através da pirólise que ocorre o desenvolvimento do sabor do café, acontecendo simultaneamente degradações e síntese de novos compostos, mais de 800 compostos voláteis de várias classes já foram identificados no café torrado (CARVALHO et al., 1997; SIQUEIRA e ABREU, 2006).

O café verde apresenta um cheiro semelhante ao feijão verde, o aroma desejável no café só é atingido através da torra, para se obter o aroma ideal faz-se necessário uma torra com duração de 10 minutos e temperaturas que variam de 180 a 220 °C aproximadamente, nesse tempo é produzido um café onde o oxigênio é retirado de forma mais eficiente, quebrando as atividades biológicas do grão (NICOLI et al., 1997; DEL CASTILLO, AMES e GORDON, 2002; SINGH e MADHAVA, 2002).

O grau de torra tem impacto na concentração de vários compostos importantes, como exemplo o guaiacol e 2-furfuriltiol cuja concentração aumenta com o grau de torra, enquanto que a 2,3-butanodiona e 2,3-pentanodiona apresentam um máximo de concentração para um grau de torra médio e exibem concentração mínima em cafés com alto grau de torra.

Os ácidos clorogênicos, que exercem atividade biológica, degradam-se durante a torra produzindo compostos fenólicos de baixa massa molecular, tais como: 1,2,3-triidroxibenzeno (pirogalol), 1,2- diidroxibenzeno (catecol), 4-vinilbenzeno-1,2-diol (4-vinilcatecol), que apresentam características sensoriais bem variadas, como odores de especiarias, cravo, fumo e, também, sensação de amargor e adstringência.

TRUGO e MACRAE (1984), citado por TAVARES (2007) determinaram uma perda de 60,9% e 59,7% desses ácidos nas espécies arábica e robusta respectivamente, esse teste foi realizado analisando uma torra leve do café verde (205°C – 7min) (SCHENKER et al., 2002). Durante o processo da torra, os constituintes polifenólicos são transformados em uma mistura complexa de produtos.

Embora os ácidos clorogênicos sejam reduzidos drasticamente durante a torra, continuam contribuindo para a atividade sequestradora de radicais livres, uma vez que durante o rigor da temperatura estes constituintes são degradados a outros compostos ácidos (Figura 1) ou polimerizados com outros constituintes do café formando melanoidinas (MENEZES, 1994).

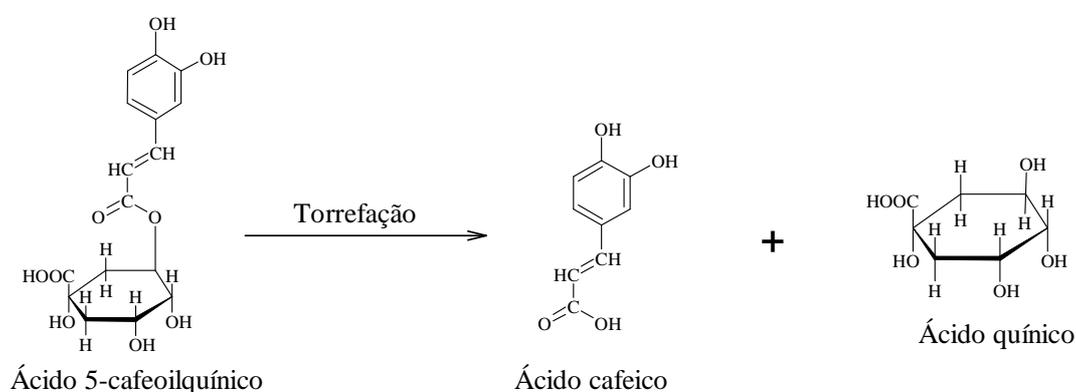


Figura 1. Reação do ácido 5-cafeoilquínico durante o processo de torra.

A trigonelina é outra substância importante presente no café, ela também é degradada durante a torra gerando entre vários produtos os pirróis, estes possuem relevada importância o aroma do café. O ácido nicotínico ou niacina permite a estimativa do grau de torra quando se estabelece uma relação entre seu

teor com o teor de trigonelina não degradada, além disso é uma importante vitamina para o metabolismo humano (CLARKE e MACRAE, 1985). A torra afeta também a concentração de ácidos cafeícos, que são compostos fenólicos naturais formados pela esterificação de ácidos, apesar do café de torra escura possuir um sabor mais forte, sua atividade antioxidante é diminuída porque ele perde muitos compostos fenólicos (DUARTE et al., 2005).

Durante a torra, as proteínas são desnaturadas e degradadas em moléculas menores, algumas proteínas ou aminoácidos livres também podem reagir com carboidratos ou compostos fenólicos e polimerizarem-se formando produtos caramelizados, os quais contribuem para a qualidade do café torrado e apresentam coloração escura.

Os lipídeos também sofrem degradação durante o processo de torra, gerando componentes voláteis como aldeídos e alcoóis alifáticos (metanol e etanol) e aromáticos, provocando, dessa forma, a perda do aroma.

A classificação das torras está relacionada com o tempo e a temperatura utilizados durante o processo, pois se o tempo de torra for insuficiente, os grãos perderão o sabor, se for longo demais, ficaram queimados e amargos, se a temperatura for muito alta a torra será rápida demais e os grãos não desenvolveram as qualidades desejáveis, se for muito baixa, os grãos ficarão cozidos e não torrados. Portanto, as torras podem ser classificadas quanto às condições de torra indicados na Tabela 1 (NASCIMENTO, 2006).

Tabela 1. Condições para torra do café

Torra	Temperatura final (°C)	Tempo (min)	Cor do grão
Clara	200 (± 20)	5	Marrom claro
Média	200 (± 20)	8	Marrom escuro
Escura	200 (± 20)	10	Preto

1.5. Composição Química do Café

O café é uma mistura complexa de compostos químicos de ocorrência natural e formados durante o processo de torra. Do ponto de vista químico, o café é uma das bebidas mais complexas, isto se deve tanto pela presença de uma grande quantidade de compostos químicos, como pela possível reação e interação desses compostos durante o processamento (CLARKE e MACRAE em MACRAE, 1989). Durante o processo de torra ocorrem consideráveis alterações na composição química do café, substâncias lábeis são degradadas, enquanto outras interagem para formar produtos complexos. Por essa razão, o café é uma dos alimentos que mais é alterado durante o seu processamento.

A Tabela 2 representa a composição química em grãos crus e torrados dos cafés arábica e robusta. Os carboidratos constituem 50% a 60% do café verde, nessa porcentagem, encontram-se a sacarose, a celulose, as substâncias pécticas e os polissacarídeos de alto peso molecular (SMITH em CLARKE e MACRAE, 1989).

Tabela 2. Composição química de grãos de café (arábica e robusta) crus e torrados

Componentes	Composição química / grão de café cru e torrado (g/100g)			
	Arábica		Robusta	
	Cru	Torrado	Cru	Torrado
Minerais	3,0-4,2	3,5-4,5	4,0-4,5	4,6-5,0
Cafeína	0,9-1,2	Aprox. 1,0	1,6-2,4	Aprox. 2,0
Trigonelina	1,0-1,2	0,5-1,0	0,6-0,75	0,3-0,6
Lipídeos	12,0-18,0	14,5-20,0	9,0-13,0	11,0-16,0
Ácido clorogênico total	5,5-8,0	1,2-2,3	7,0-10,0	3,9-4,6
Ácidos alifáticos	1,5-2,0	1,0-1,5	1,5-2,0	1,0-1,5
Oligossacarídeos	6,0-8,0	0-3,5	5,0-7,0	0-3,5
Polissacarídeos totais	50,0-55,0	24,0-39,0	37,0-47,0	n. d.
Aminoácidos	2,0	n. d.	2,0	n. d.
Proteínas	11,0-13,0	13,0-15,0	11,0-13,0	13,0-15,0

Fonte: SMITH (1989), dados em base seca. n. .d – não detectados

1.5.1. Compostos Fenólicos

Uma substância fenólica ou poli-fenólica é aquela que tem um ou mais núcleos aromáticos contendo substituintes hidroxilados e/ou seus derivados funcionais (ésteres, éteres, glicosídeos e outros), entretanto uma definição levando em conta somente a estrutura química não é apropriada, uma vez que existem compostos contendo hidroxilas fenólicas que fazem parte de outra classe

de metabólitos, assim é mais conveniente empregar-se uma definição que leva em conta também à origem biogenética (SIMÕES et al., 2003).

As classes de compostos fenólicos mais importantes são: a lignina, os pigmentos, os flavonóides e os taninos (proantocianidinas). Os flavonóides e as proantocianidinas são metabólitos secundários presentes em frutas e vegetais.

A maior parte dos polifenóis no café é ácido clorogênico, um éster formado entre ácidos *trans*cinâmico e os ácidos quínicos, os ácidos cinâmicos são comumente os ácidos cafeico, *p*-cumárico e o ferúlico (BONITA et al., 2007; PERRONE et al., 2008).

O teor de polifenóis livres é pequeno no café verde e aumenta durante a torra, este aumento segundo TRUGO e MACRAE (1989), está relacionado à degradação dos ácidos clorogênicos, os polifenóis aumentam e contribuem de maneira significativa para o aroma e sabor do produto final, sendo considerados responsáveis pela adstringência dos frutos.

1.5.1.1. Proantocianidinas

As proantocianidinas (Figura 2) correspondem atualmente à designação que há alguns anos era dada aos taninos condensados demonstrados na Figura 3, seus potenciais benefícios para a saúde humana têm merecido grande destaque nos últimos anos.

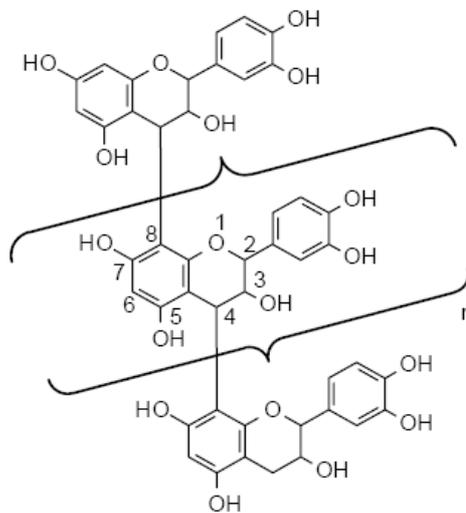


Figura 2. Estrutura das proantocianidinas.

Elas constituem a segunda fonte de polifenóis do reino vegetal, perdendo apenas para a lignina, além disso, são potentes antioxidantes e possuem larga aplicação na formação de complexos com proteínas, sendo por isto muito empregado na indústria de couros (HAGERMAN et al., em SHAHADI, 1997; ARGYROPOULOS, 1999).

Esses compostos são responsáveis pelas características gustativas dos vinhos, cafés, chás, bem como a cor e sabor destes devido à sua associação com as antocianinas, além disso, reagem com as proteínas da saliva, sendo esta reação a responsável pela adstringência evidenciada na bebida de cafés.

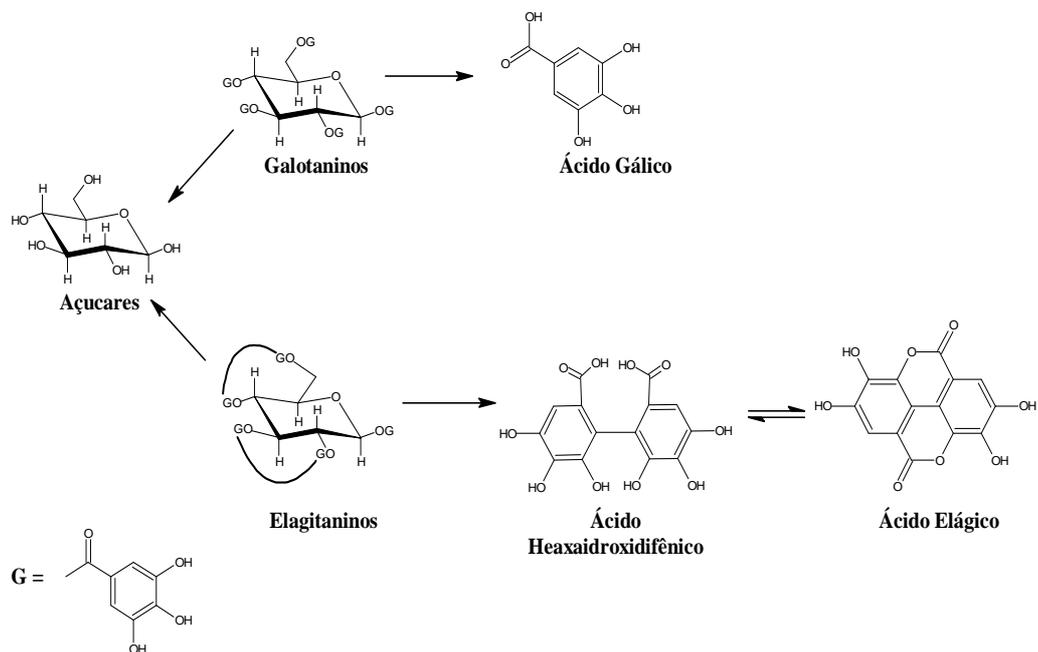


Figura 3. Taninos hidrolisáveis.

1.5.1.2. Flavonóides

Flavonóides são polifenóis que estão presentes em muitas plantas, incluindo medicinais e comestíveis (vegetais, frutas, etc.). Apresentam-se também em alguns alimentos e bebidas como chá, vinho tinto e sucos, nos últimos anos têm-se relatado um aumento no número de publicações a respeito da química dos flavonóides especialmente suas propriedades biológicas e suas habilidades como agente protetor e inibidor do câncer. A distribuição dos flavonóides nos vegetais depende de diversos parâmetros de acordo com o filo/ordem/família do vegetal, bem como da variação das espécies, ele se formam a partir da combinação de derivados sintetizados da fenilalanina e ácido acético (DEGÁSPARI, 2004).

1.5.2. Cafeína

A cafeína é uma metilxantina encontrada no café, estas por sua vez são constituintes químicos de várias bebidas alimentícias ou estimulantes não alcoólicas, pois sua origem biogenética não é de aminoácidos e sim de bases púricas e de caráter anfótero.

As metilxantinas são geralmente consideradas como semi-alcalóides, entretanto devido à sua atividade biológica marcante, distribuição restrita e presença de nitrogênio heterocíclico, muitos autores as classificam como alcalóides verdadeiros, denominados alcalóides purínicos. Aproximadamente 60 espécies vegetais distribuídas especialmente nos gêneros *Coffea* (Rubiaceae), *Cola* e *Theobroma* (Sterculiaceae), *Paullinina* (Sapindaceae), *Llex* (Aquifoliaceae) e *Camellia* (Theaceae) contêm metilxantinas (SIMÕES et al., 2003).

A cafeína (Figura 4) é o componente do café mais conhecido devido às suas propriedades fisiológicas e farmacológicas, foi a primeira substância presente no café a ser descoberta em 1920 e é também a mais estudada, compõe cerca de 1 a 2,5% (café arábica) do total da bebida do café e apresenta estabilidade térmica durante o processo de torra.

A cafeína é inodora e possui sabor amargo bastante característico o que contribui para o sabor da bebida do café, entre as diversas propriedades atribuídas algumas já apresentaram comprovação científica como o efeito estimulante do sistema nervoso central e do músculo cardíaco, a diminuição do sono e atividade inibidora em bactérias e fungos (IBRAHIM et al., 2006).

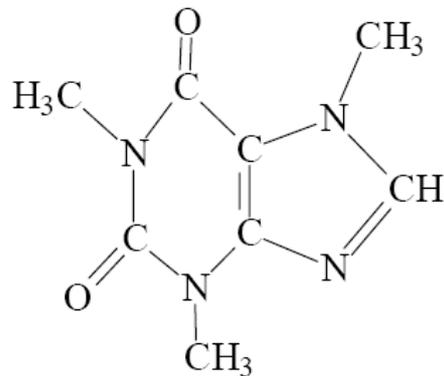


Figura 4. Estrutura da cafeína.

Doses excessivas de cafeína podem causar irritabilidade, cefaléia, insônia, diarreia e taquicardia, a dose letal para um adulto de 70 kg é cerca de 10g, isto equivale a 100 xícaras de café ou 200 latas de Coca-Cola ou 50 kg de chocolate.

A capacidade antioxidante da cafeína é exercida pelo mecanismo de captação de radicais hidroxila e oxigênio singlete e reação com elétrons (GEORGE et al., 1999; RABELLO et al., 2000; BRENELLI, 2003).

São relatados na literatura procedimentos para a análise desta substância presente na bebida do café por métodos químicos como exemplo a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), alguns destes estudos fazem à determinação simultânea com outros dos compostos como a trigonelina e ácidos clorogênicos, enquanto outros a determinam isoladamente (NASCIMENTO, 2006).

1.5.3. Trigonelina

A trigonelina (Figura 5) é um composto nitrogenado encontrado em maiores quantidades no café verde, é importante para o sabor e aroma do café e está presente em pequenas quantidades nos grãos, correspondendo a 1,0% no café arábica e a 0,7% no café robusta (SMITH em CLARKE E MACRAE, 1989).

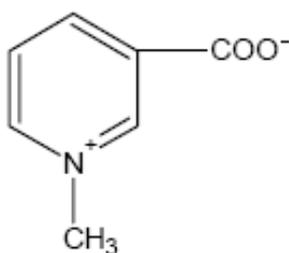


Figura 5. Estrutura da trigonelina.

A grande importância da trigonelina concentra nos aspectos nutricionais, pois durante a torra essa substância é convertida a ácido nicotínico (niacina), fazendo do café uma fonte dessa vitamina na dieta, sendo um dos únicos produtos que mediante um processo tão drástico produz uma vitamina importante para o metabolismo humano. A niacina também é conhecida como vitamina B3 e apresenta eficácia na redução do colesterol competindo com muitos medicamentos alopáticos prescritos (MAZZAFERA, 1991; MONTEIRO e TRUGO, 2005).

Durante a etapa de torra a trigonelina é desmetilada formando a niacina em quantidades que podem chegar próximo a 20 mg a cada 100g de café torrado. Ainda durante a torra, pode ser transformada em diversos produtos voláteis, formando principalmente piridinas e pirróis, o conteúdo de ácido nicotínico no grão cru varia de 1,6 a 4,4 mg a cada 100g de grãos, aumentando aproximadamente, 10 vezes após a torra devido à degradação da trigonelina. Essa degradação é dependente do tempo e temperatura empregados (MACRAE em CLARKE e MACRAE, 1989).

1.5.4. Ácidos Clorogênicos

O termo ácido clorogênico é usado para designar uma família de ésteres formados principalmente pela esterificação do ácido quínico com os ácidos cafeíco, cinâmico, ferúlico ou *p*-cumárico (Figura 6) (AZUMA et al., 2000). A esterificação pode ainda ocorrer entre o ácido quínico e dois ácidos cafeícos, ou ainda, entre o ácido quínico com um ácido cafeíco e um ferúlico. Os principais grupos de ácidos clorogênicos são os cafeoilquínicos, que contém os ácidos cafeícos alternando-se nas posições 3, 4 e 5 do ácido quínico; os feruolquínicos (3, 4, 5), e os dicafeoilquínicos cujos isômeros principais ao 3, 4; 3, 5 e 4, 5 (MOREIRA *et al.*, 2000). Entre os ácidos clorogênicos contidos no café, o 5-*o*-cafeoilquínico é o mais abundante, que é a forma esterificada do ácido cafeíco com o ácido clorogênico, no café ele apresenta em sua composição 4,3 – 7,2% de ácidos cafeoilquínico (NATELLA et al., 2002; IWAI et al., 2004).

Segundo Saldaña et al. (1997) o conteúdo total de ácido clorogênico na espécie arábica é de 5,5 – 8,0% e na variedade robusta é de 7,0 – 10,0%. A determinação do ácido clorogênico no café é importante para o controle de qualidade final do produto, visto que seu valor comercial é determinado pelo aroma (MAESO et al., 2006).

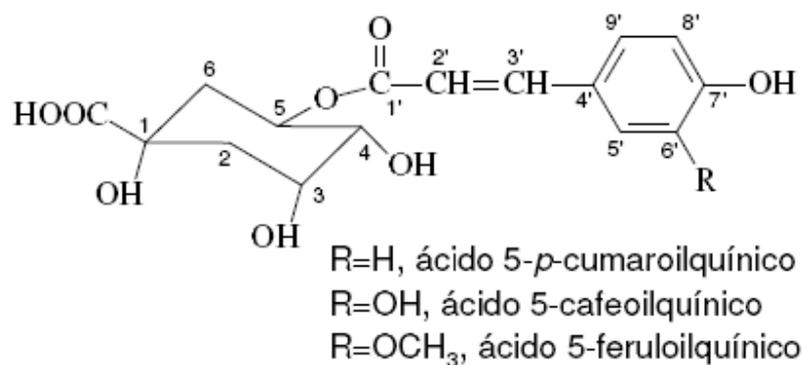


Figura 6. Estrutura geral dos ácidos clorogênicos.

Grande parte dos ácidos clorogênicos e principalmente os ácidos quínicos perdidos estarão presentes nos pigmentos, na formação de compostos fenólicos e nos gases emitidos durante o processo. Portanto, os ácidos clorogênicos são constituintes importantes que influenciam as características químicas e a formação de aroma durante o processamento (torra) do café.

Os ácidos clorogênicos têm chamado atenção devido à sua atividade anti cancerígena comprovada para alguns tipos de câncer (MATTILA E KUMPULAINEN, 2002), e a sua ação benéfica no combate a doenças cardiovasculares devido às suas propriedades antioxidantes (DEL CASTILLO et al., 2002).

1.5.5. Polissacarídeos

O café pode conter até 60% de açúcares, os açúcares encontrados são de baixa caloria como exemplo a galactose, manose e arabinose. Entre eles o que se apresenta maior concentração é a sacarose chegando a 7%.

Polissacarídeos e glicídios são de grande importância para o sabor e aroma do café, o teor de sacarose é extremamente relevante para a formação de pigmentos e outros compostos de alto massa molecular formados pela condensação e caramelização que ocorre durante o processo de torra, estes açúcares dão um toque levemente adocicado ao café originando seu sabor característico (TOCI et al., 2006; MARTINS et al., 2005).

Partes destes açúcares encontram-se no café na forma de cadeias longas, os polissacarídeos como os galactomananos e os arabinogalactanos não são aproveitados pelo sistema digestivo, mas que ajudam a reduzir a absorção de colesterol pelo organismo. Os galactomananos são compostos de uma cadeia linear de manoses unidas entre si por ligações de tipo β (1 – 4). Os arabinogalactanos possuem cadeia principal de galactose com ligações do tipo β (1 – 3) e (1 – 6), cadeias laterais de galactose e/ou arabinose (Figura 7) (MARTINS et al., 2005).

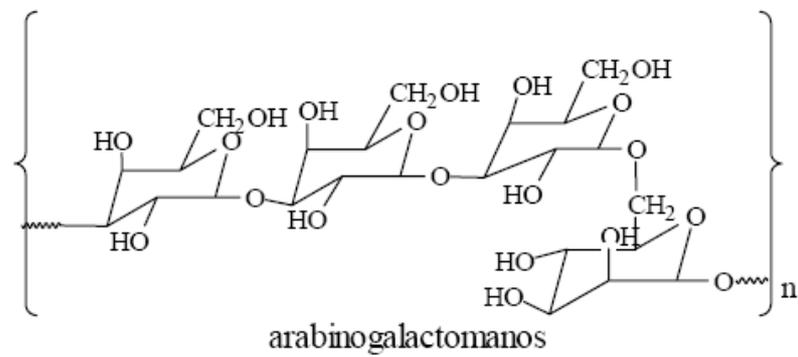
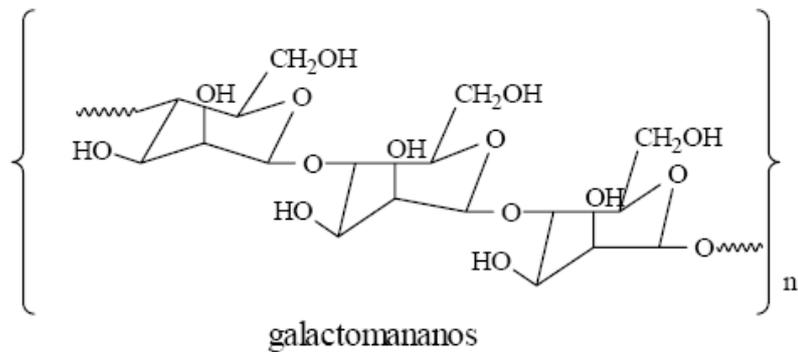


Figura 7. Estrutura dos galactomananos e arabinogalactanos.

1.5.6. Metais

Dependendo da espécie o café pode possuir de 3,5% a 4,5% de metais, alguns desses são metais essenciais para o metabolismo humano, sendo extremamente necessária uma concentração mínima no organismo para o seu bom funcionamento, são eles: Ca, K, Mg, Na, P, Co, Cr, Cu, Fe, Mn e Zn. Além disso, o café possui níquel, um elemento que provavelmente será inserido no grupo dos essenciais (MORGANO et al., 2002).

A Tabela 3 mostra a concentração de alguns metais presentes na bebida de café, segundo a ABIC.

Tabela 1. Concentração de alguns metais presentes na bebida de café

Metal	Concentração (mgL⁻¹)
K	100 – 500
Ca	100 – 300
Mg	120 – 250
Na	20 – 70
Fe	2 – 5
Zn	5 – 30
Sr	5 – 20
Outros	1 – 2

Fonte: (ABIC-b, 2010)

1.5.7. Constituintes Voláteis

A partir da década de 80 passou a interessar a determinação do potencial odorífico dos componentes voláteis para proceder-se à identificação daqueles que teriam maior impacto na constituição do aroma característico do café, Morais e colaboradores (2007) analisaram os odorantes do café e de PVA em diferentes torras por análise de CG/EM o que permitiu quantificar 184 constituintes com concentração acima de 0,07%. Dentre eles, somente 20 foram classificados como odorantes potentes (Tabela 4), mostram que as atividades odoríficas dos constituintes de forte impacto destacam-se sobre as demais, mesmo que sua concentração seja baixa. Essa constatação é muito importante porque comprova

que o aroma de cafés (e de outros produtos) é fundamentalmente apoiado em poucos componentes de forte impacto, mesmo havendo centenas de outros no seu óleo essencial, como é o caso do café torrado (MORAIS et al., 2007).

Tabela 4. Odorantes potentes detectados nos óleos essenciais do café e PVA

Composto		
2-metilpropanal	(<i>E,E</i>)-2,4-nonadieno	2,3-dietil-5-metilpirazina
Diacetila	Fenilacetaldéido	3,5-dietil-2-metilpirazina
3-metilbutanal	1-nonanol	Furfurilmetildissulfeto
2-metilbutanal	3-etil-2,5-dimetilpirazina	4-etilguaiacol
Pentan-2,3-diona	2-furfurilfurano	4-vinil-guaiacol
<i>n</i> -Hexanal	Isômero de 3-etil-2,5-dimetilpirazina	β -damascenona
Ácido isovalérico	Guaiacol	

Também segundo Morais e colaboradores (2007) a concentração do óleo essencial é maior no café sadio do que no PVA e a atividade odorífica total do café é maior quando comparada com a obtida para os grãos PVA. A torra prolongada (torração escura) reduz a diferença total dos odorantes potentes, dificultando a diferenciação do aroma das bebidas preparadas com grãos sadios e defeituosos.

1.6. Atividade Antioxidante de Cafés

Antioxidantes são compostos que, quando presentes em pequenas concentrações retardam ou inibem a oxidação do substrato, eles podem ser naturais ou sintéticos (DEL CARLO et al., 2004). As moléculas típicas de antioxidantes são derivadas das formas isoméricas dos polifenóis, flavonas, isoflavonas, flavonóis, catequinas, cumarinas, ácidos fenólicos e outras substâncias encontradas em vegetais, plantas que apresentam polifenóis demonstram uma alta atividade antioxidante em vários sistemas e já foram extensamente estudadas (MESKIN et al., 2004).

A preferência do consumidor por aditivos naturais tem estimulado a realização de estudos visando a identificação de antioxidantes de fontes naturais para aplicação em produtos alimentícios. O β -caroteno, ácido ascórbico, α -tocoferol, ácidos fenólicos e outros compostos são antioxidantes naturais que apresentam a propriedade de eliminar o oxigênio singlete, doar átomos de hidrogênio, sequestrar íons metálicos e decompor peróxidos (SOARES, 2002; PROESTOS et al., 2005; SOOBRAATTEE et al., 2005; SANTOS et al., 2006).

Recentemente a bebida feita pela infusão de grãos de café torrado passou a ser considerada uma fonte natural de compostos com propriedades nutricionais e farmacêuticas por diversos pesquisadores. O café apresenta atividade antimicrobiana (ALMEIDA, 2007), antibacteriana (DAGLIA et al., 1994), antioxidante (DEL CASTILHO et al., 2002) e substâncias benéficas para o funcionamento do cérebro humano.

A atividade antioxidante da bebida do café resulta principalmente, da presença da cafeína, trigonelina, ácido cafeico, compostos voláteis como furanos e pirróis e de polifenóis. Os polifenóis principais dos cafés são os ácidos clorogênicos e eles figuram entre os principais constituintes fenólicos responsáveis pela ação antioxidante dos cafés.

Del Castillo e colaboradores (2002) avaliaram a atividade antioxidante de extratos de grãos de café submetidos a diferentes graus de torra, foram obtidas as torras clara, média e escura. Em relação às torras clara e média, apesar da diminuição do conteúdo de ácidos clorogênicos, a atividade antioxidante foi maior na torra média do que na torra clara em comparação ao café *in natura*, entretanto, a atividade antioxidante da torra escura é reduzida em relação a torra média, os autores sugerem que a formação de melanoidinas com capacidade antioxidante ocorra somente em uma fase da torra de café, as condições aplicadas na torra escura causam degradação parcial de ácidos clorogênicos, o que leva a essa redução.

Melanoidinas são produtos da reação de Maillard que ocorre durante o processamento do café, durante a reação de Maillard um carboidrato com extremidade redutora condensa-se com um composto que tenha um grupo amino livre. A torra faz com que parte dos compostos fenólicos do café seja incorporada às melanoidinas (DAGLIA et al., 2000), os ácidos clorogênicos doam um grupo carbonil para as melanoidinas no primeiro estágio da reação de Maillard. O interesse sobre esses compostos tem aumentado devido ao seu efeito antioxidante cujos mecanismos de ação são quelar metais para formar complexos inativos, interromper a reação em cadeia doando um átomo de hidrogênio,

reduzindo hidroperóxidos a produtos não radicalares e capturando radicais hidroxilas (BRENELLI et al., 2003; ADAMS et al., 2005).

A atividade antioxidante da cafeína foi testada por pesquisadores em microsomas de fígado de ratos e apresentou efetiva inibição sobre a peroxidação lipídica. A ação antioxidante da cafeína foi semelhante a da glutathione e significativamente maior do que do ácido ascórbico (DEVASAGAYAM et al., 1996).

Segundo MAZZAFERA e ROBINSON (2000), os compostos fenólicos principalmente os ácidos clorogênico e cafeico exercem uma ação protetora antioxidante dos aldeídos. Quando há qualquer condição adversa aos grãos como colheita inadequada, problemas no processamento e armazenamento, as polifenoloxidasas agem sobre os polifenóis diminuindo sua ação antioxidante sobre os aldeídos facilitando a oxidação destes, ao mesmo tempo produz quinonas, as quais agem como substrato inibidor da ação da polifenoloxidase.

Os polifenóis ajudam na manutenção da saúde humana diminuindo a quantidade de radicais livres no organismo, dessa maneira protegem-se moléculas bio ativas importantes. Quando um polifenol reage com um radical livre ele forma uma molécula mais fácil de ser eliminada, diminuindo assim a concentração de radicais no organismo.

Resultados obtidos em estudos feitos em cultura de células mostram que os flavonóides e outros fenóis agem em sinergia com os polifenóis potencializando assim o combate a radicais livres (HALLIWELL, 2003), em razão disso supõe-se que os maiores benefícios em incluir polifenóis na dieta é o de reduzir a geração de hidroperóxidos de lipídeos no fluido gástrico durante a digestão (HALLIWELL, 2003; KANNER e LAPIDOT, 2001).

A inclusão de polifenóis na dieta iria prevenir não só a peroxidação na refeição, mas também no estomago, contudo o entusiasmo inicial foi seguido pelo conceito de atividade pro oxidante que seria a capacidade que os polifenóis têm de se auto oxidar e dessa maneira reduzir a transmissão de íons metálicos (HALLIWELL, 2003; STADLER, 2001), perante oxidação os polifenóis facilmente sofrem decomposição gerando produtos que podem ser pro-oxidantes, esses radicais fenóxi ou cátions fenólicos são envolvidos em polimerizações oxidativas de fenóis (FULCRAND et al., 1998; KOBAYASHI e HIGAHIMURA, 2003).

Ao processar alimentos a altas temperaturas poderiam ser gerados carbocátions por clivagem (BRITT et al., 1995), sendo assim, os polifenóis que serviriam como antioxidantes dão origem a compostos pró-oxidante como consequência desse processamento (NICOLI et al., 2000), em outras palavras, os polifenóis adicionados ao alimento para terem atividade antioxidante estariam gerando compostos oxidantes favorecendo assim a peroxidação dos lipídeos.

No entanto o aparecimento de substâncias com atividade pró-oxidante é previsível com base na atividade antioxidante do composto fenólico original, o ácido cafeíco é um exemplo de ácido hidroxicinâmico que contribui principalmente para a dieta de polifenóis sendo comumente consumido nas bebidas de café (CLIFFORD, 1999).

Entre os métodos utilizados para a determinação da atividade antioxidante de compostos orgânicos encontra-se o método espectrofotométrico baseado na redução do radical estável DPPH[•] (radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila). A conversão do radical DPPH[•] em DPPH-H resulta do declínio relativamente rápido da

absorvância a 517 nm, nessa reação a espécie DPPH• é reduzida pelos constituintes antioxidantes presentes no café. (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

2. Objetivos

A padronização adotada para o café vendido ao consumidor brasileiro é muito flexível e não existe um controle de qualidade rígido, este trabalho comparou quatro amostras de cafés comerciais (A, B, C e D) do cerrado de diferentes marcas com um padrão selecionado de café do tipo arábica, procurando estabelecer uma relação entre o padrão e os cafés comercializados adquiridos no mercado.

O presente trabalho tem como objetivo identificar os constituintes químicos do café (*Coffea arabica*) e de quatro cafés comerciais da região do Cerrado, as amostras serão analisadas quanto à composição química, potencial odorífico e atividade antioxidante.

3. Materiais e Métodos

3.1. Amostras

A amostra de café arábica (padrão) foi cedida pela Cooperativa de Produção dos Cafeicultores do Cerrado de Araguari Ltda. (COOCACER) [18°40'26"S e 48°09'07", altitude de 949 m]. A amostra foi seca ao sol em terreiro de cimento e pertencem à safra de 2006/2007, três amostras comerciais (A, B e C) foram adquiridas na cidade de Uberlândia - MG e uma amostra (D) na cidade de Pires do Rio – GO.

3.2. Torra e Moagem

Os grãos do café padrão foram torrados em um micro torrador elétrico de bancada, marca Pinhalense®-BR modelo TC-0, à temperatura de 190 ± 10 °C. O ponto da torra média escuro foi alcançado em aproximadamente $10,0 \pm 1,0$ minutos, sua tonalidade foi classificada de acordo com o sistema de referência usado pela ABIC que utiliza sistema colorimétrico "Roast Color Classification System" (AGTRON–SCAA, 1997; SWEET MARIA'S, 2008): torra média escura (marrom escuro) #45. A amostra torrada foi moída em moedor elétrico em granulometria fina (peneira de malha 24 mesh) e empacotada em embalagens de polietileno/alumínio, que foram seladas e armazenadas a -15 ± 5 °C, até o momento das análises. As amostras comerciais A, B e C, indicadas no rótulos como torra média (cor marrom), apresentaram cor marrom escuro #45 (SWEET MARIA'S, 2008) e a amostra D apresentou coloração um pouco mais escura

(preto) #35. Todas as quatro amostras apresentaram granulometria semelhante (24 meshes).

3.3. Umidade

A umidade do café utilizado como padrão foi determinada após sua torra, para os cafés comerciais a umidade foi determinada assim que a embalagem foi aberta. Amostras de aproximadamente 1,00 g foram deixadas a uma temperatura de 105 °C por 15 minutos em uma balança de luz infravermelha da marca Kett, modelo FD-60 do Instituto de Química da UFU.

3.4. Solubilidade em Água a 96 °C

A solubilidade em água a 96 °C foi determinada conforme metodologia indicada pelo Instituto Adolf Lutz (NASCIMENTO, 2006). Em um filtro de papel qualitativo previamente tarado imerso em um funil de vidro foram colocados cerca de 10,00 g de café moído, em seguida, a amostra foi lavada com 100,0 mL de água a 96 °C. O filtrado foi seco por 6 horas à temperatura de 105 °C. A parte solúvel foi obtida pela diferença de massa.

3.5. Determinação do Teor de Cafeína

O teor de cafeína foi calculado de acordo com o método da AOAC – Associação de Química Analítica (1945). Cerca de 2,0 g de cada amostra foram acidulados com 4,00 mL de ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹ e aquecidos em banho-maria por 15 min. Em seguida 50,0 mL de água quente foram adicionados e aqueceu-se por mais 15 min. Filtrou-se a quente e o filtro foi lavado com 3 porções de 10,0 mL de água quente acidulada. O filtrado e as águas de lavagem foram recolhidos em um funil de separação. Após resfriamento, foi adicionado clorofórmio (30,0 mL). Agitou-se a mistura e esperou-se a separação das camadas, o clorofórmio foi transferido para um balão de fundo chato previamente tarado. A extração com clorofórmio foi repetida com mais três porções de 30,0 mL. A fase orgânica foi filtrada e destilada até reduzir o volume a cerca de 20,0 mL e levada a banho-maria até secar. O resíduo foi recristalizado e dissolvido em 4,0 mL de tolueno a quente. Em seguida adicionaram-se algumas gotas de éter de petróleo (p. e. 60-80°C) até a formação de precipitado. Logo após, o resíduo foi filtrado e seco em estufa a 105°C, por 1 hora, resfriado em dessecador e pesado.

3.6. Análise Elementar

As amostras foram submetidas à análise elementar dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN). O teor de oxigênio foi obtido por diferença, as análises foram realizadas na Central de Análises Químicas e Instrumentais (CAQI)

do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, em um aparelho marca Carlo Erba modelo Eager 200. As análises foram realizadas por detecção cromatográfica dos produtos de combustão das amostras a 925 °C na presença de oxigênio.

3.7. Espectroscopia no Infravermelho

As análises das amostras foram realizadas por transmissão em um equipamento de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) marca Bomem Modelo MB-102, empregando-se o método de pastilhas de KBr. As análises foram realizadas na Central de Análises Químicas e Instrumentais (CAQI) do Instituto de Química de São Carlos na Universidade de São Paulo.

As misturas de KBr e amostra (~100mg:1mg) foram maceradas e secas em estufa à vácuo por um período de 3 horas. Preparadas como pastilhas de KBr e compactadas a 10 – 12 Kgf.cm⁻². Os espectros foram obtidos com 16 varreduras na resolução de 4 cm⁻¹, na região de 4000-400 cm⁻¹.

3.8. Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H

Os espectros de RMN de ¹H da fração solúvel das amostras A, B e C e do padrão foram obtidos em instrumento Varian INOVA 400 (9,2 T), operando a 400 MHz. As análises foram realizadas na Central de Análises Químicas e

Instrumentais (CAQI) do Instituto de Química de São Carlos na Universidade de São Paulo.

O solvente utilizado foi D₂O. Condições de aquisição: comprimento de pulso ($\pi/2$)-14 μ s (zero dB); intervalo entre os pulsos - 1s, em temperatura ambiente. As amostras foram preparadas transferindo-se 40 mg do extrato evaporado em evaporador rotativos a pressão reduzida para um tubo de RMN de 5 mm de diâmetro, seguido da adição de 0,6 mL de D₂O.

3.9. Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹³C no Estado Sólido

Todos os espectros no estado sólido foram obtidos em um espectrofotômetro VARIAN Unity 400 operado em 100,2 MHz para ¹³C, com a sonda em temperatura ambiente e com desacoplamento de alta eficiência. As análises foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos.

Para a aquisição dos espectros de RMN utilizou-se um rotor de óxido de zircônio de 7 mm de diâmetro com velocidade de 6 kHz. Com aquisição de 0,3 s entre os pulsos de 90°.

3.10. Determinação de OH Fenólicos e Carboxílicos (Ácidos Totais)

Devido à pequena concentração de OH fenólicos e carboxílicos seus teores foram determinados juntos por titulação condutivimétrica. Cerca de 0,200 g de amostras são solubilizadas em água (30,00 mL). Em seguida, os respectivos filtrados são colocados em um balão de três bocas e titulados condutivimetricamente com uma solução de NaOH 0,1 molar, sob agitação em atmosfera de nitrogênio. Foram registradas as curvas de calibrações que apresentam o ponto de equivalência para a ionização dos grupos carboxílicos e hidroxílicos. A porcentagem de hidroxilas (carboxílicas e fenólicas) foi determinada pela fórmula:

$$\text{OH}_{\text{total}} (\%) = M \times V \times 17 \times 100 / m$$

Onde: M = molaridade da solução de NaOH;

V = volume da solução de NaOH (mL);

m = massa de café em mg.

3.11. Determinação da Atividade Antioxidante Pelo Método do Radical DPPH[·]

Os pós das amostras (A, B, C e D) e do padrão foram submetidos à extração com água destilada em béquer de 40,0 mL (cerca de 1,00 g de pó em 20,0 mL por 10 minutos a 100°C). O béquer foi tampa do com vidro de relógio para

minimizar perda de água por evaporação, a solução obtida foi filtrada em filtro de papel e seu volume ajustado em balão volumétrico de 50,0 mL.

Deste, foram retirados 15,0 mL e ajustados para outro balão de 50,0 mL, diluindo-se assim a solução a uma proporção 15/50. Para quantificar os extrativos solúveis, 1,0 mL deste extrato foi recolhido e seco a 105 C° em um frasco tarado durante 24 horas, resfriado à temperatura ambiente e pesado.

A solução obtida na segunda diluição foi submetida a três diluições sucessivas: 66,7%, 33,3% e 16,7%. Com isso, utilizaram-se na análise quatro soluções de extrato de café em diferentes concentrações: 100%; 66,7%; 33,3%; e 16,67%.

Foi preparada uma solução de DPPH· em balão volumétrico de 50,0 mL, utilizando metanol como solvente. A concentração foi de aproximadamente de 80,0 mg. L⁻¹.

Para cada uma das quatro amostras de extrato de café, preparou-se em um tubo de ensaio uma solução contendo 0,10 mL do respectivo extrato e 3,90 mL da solução de DPPH· . A solução obtida foi transferida para uma cubeta de 1cm e levada a um espectrofotômetro UV-Vis da marca Hitachi U-2000. Suas absorbâncias foram registradas no comprimento de onda de 517 nm durante 40 minutos, com intervalos de 5 minutos entre cada leitura.

Também foi feito um controle em branco para cada uma das quatro diluições do extrato de café.

3.12. Determinação Simultânea de Trigonelina, Ácidos Clorogênicos, Ácido Cafeíco e Cafeína

A CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) foi realizada em um cromatógrafo líquido da marca Shimadzu, modelo SCL-10A VP, equipado com detector SPD-M10A VP do tipo *diodearray*.

Para cada amostra tomou-se cerca de 2,00 g do pó de café e submeteu-se a uma extração com 20,0 mL de água em ebulição por 5 minutos sob agitação em agitador magnético. Depois de filtrado em papel de filtro, o extrato foi transferido para um balão volumétrico de 100,0 mL e diluído para este volume. A solução foi novamente filtrada por intermédio de um filtro de 0,45 μm e 20,0 μL foram injetados no cromatógrafo. O eluente usado foi uma combinação da solução tampão de fosfato (pH 4,0), preparada com 5% de fosfato diácido de potássio 0,2 mol dm^{-3} (A), e metanol (B). O gradiente utilizado foi: 7% de B (0 min); 9% de B (4 min); 25% de B (6 min); 29% de B (13 min); 50% de B (21 min); e 7% de B (26 min). Foram feitas curvas de calibração para os padrões utilizados. A absorvância foi registrada em 213 nm para a trigonelina, 323 nm para o ácido 5-cafeoilquínico, 310 nm para ácido cafeíco e 269 nm para cafeína.

3.13. Extração do Óleo Essencial

Para a extração do óleo essencial foi utilizado um aparelho de Clevenger modificado, para extração em contracorrente com diclorometano, foi pesado 3,00g de amostra, no balão contendo a amostra foi colocado 30 mL de água destilada, após 90 minutos de extração o volume de diclorometano foi reduzido lentamente através de evaporação em condições normais de temperatura e pressão.

3.14. Cromatografia gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas foi feita num aparelho da Shimadzu, modelo GC17A/QP5000. Foi usada uma coluna capilar DB5 de 30 m, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de filme. O programa de temperatura foi de 60 °C – 240 °C (3 °C min^{-1}), 240 °C (20 min). A energia de impacto foi de 70 eV e foram captados os fragmentos de 40 a 650 u. A identificação dos compostos foi feita por meio das bibliotecas de espectros de massas da Wiley (140, 229 e 275) e por índices de Kovat⁷⁹.

3.15. Análises Estatísticas

Todas as determinações foram feitas em triplicatas e os resultados correspondem à média \pm o desvio padrão.

4. Resultados e Discussão

4.1. Determinação da Umidade

A umidade dos cafés comerciais foi determinada após a abertura da embalagem e do café padrão após sua torra. Aos resultados médios em valores percentuais estão expressos na Figura 8.

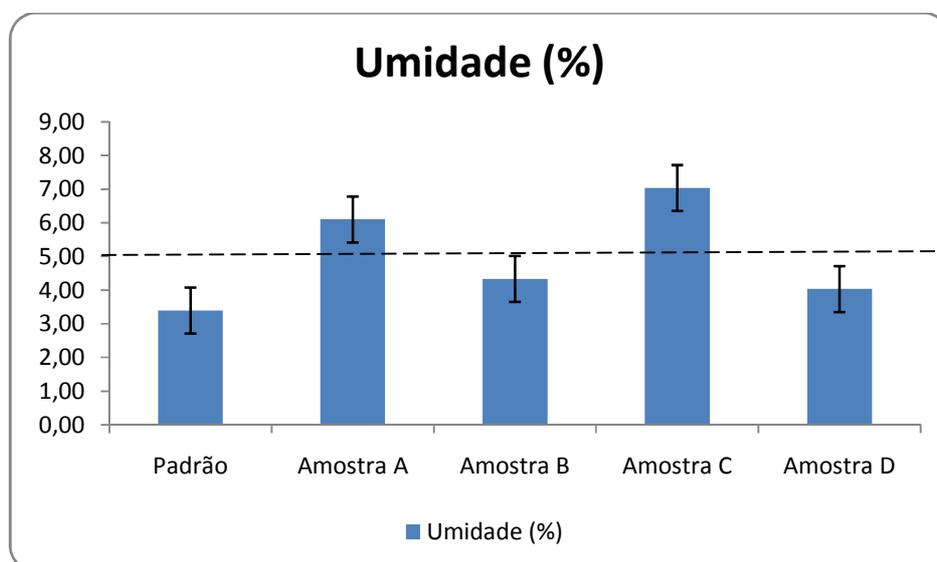


Figura 8. Teor de umidade dos cafés comerciais e padrão expresso em porcentagem.

A ANVISA (Brasil, 1999) estabelece que, segundo o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Café Torrado Moído, o teor máximo de umidade permitido é de 5,0%, ao analisarmos os resultados constatamos que os cafés Padrão, Amostra B e D estão dentro dos padrões estabelecidos pela ANVISA, as Amostra A e C estão fora desses padrões.

4.2. Solubilidade em água a 96 °C

Os sólidos solúveis representam a massa de pó de café que é dissolvida durante o preparo de sua infusão, um valor elevado é desejado para garantir o corpo da bebida tornando-a uma bebida de qualidade, esse dado é valioso porque pode servir como um indício de fraude ou adulteração no café torrado indicando a possível mistura de outra substância no mesmo.

ANVISA (Brasil, 1999) determina que no mínimo 25% do café em pó comercializado deve ser solubilizado em água, analisando os valores obtidos nos quatro tipos de café comerciais e no padrão vemos todos os teores estão abaixo dos padrões estabelecidos, como ilustrado na figura 9. Essa diferença pode ser devido à metodologia de extração utilizada neste trabalho, a ANVISA adota uma metodologia que faz uso de refluxo e ebulição por uma hora, nosso método foi utilizar uma extração simples e rápida em papel de filtro onde o café fica pouco tempo em contato com a água, essa metodologia foi escolhida porque é utilizada diariamente pelas pessoas no preparo do cafezinho habitual.

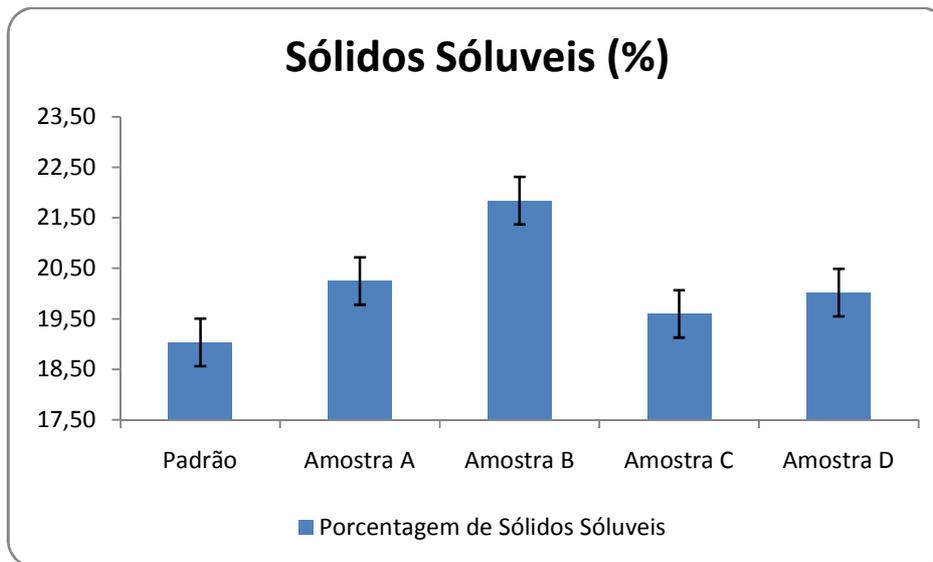


Figura 9. Porcentagem de sólidos solúveis de amostras dos cafés comerciais e do padrão.

A Figura 10 representa a fração de material insolúvel nas amostras de cafés comerciais e do padrão.

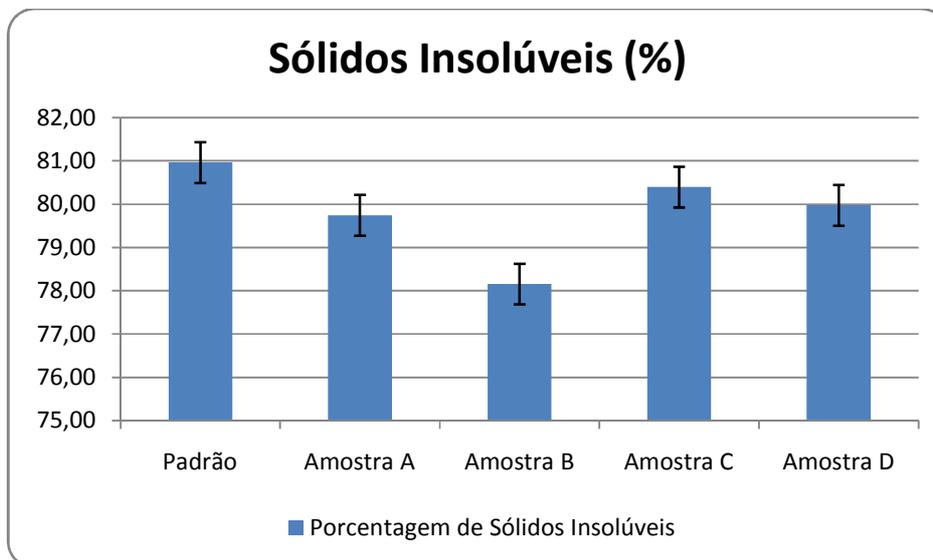


Figura 10. Porcentagem de sólidos insolúveis de amostras dos cafés comerciais e do padrão.

Os resultados encontrados nos extratos aquosos indicam que as amostras A e B apresentam uma maior quantidade de sólidos solúveis, diferenças encontradas em relação ao padrão para os teores de extrato aquoso podem ter sido ocasionada pelo processo de torração e moagem empregado no laboratório para o padrão e aqueles empregado pelas indústrias para as amostras comerciais.

Um baixo índice de sólidos solúveis implica em uma bebida menos saborosa, visto que inúmeros compostos que agregam sabor à bebida deveriam estar presente no “cafezinho” cotidiano.

4.3. Cafeína

De acordo com as recomendações do Estado de São Paulo que definiu norma técnica para fixação de identidade e qualidade de café torrado em grão e café torrado moído (SÃO PAULO, 2001), os cafés comerciais deste trabalho estão enquadrados de acordo com os “cafés tradicionais” e são constituídos de grãos de cafés arábica ou misturados com robusta, estes com limite de até 30%, admite-se um máximo de 20% de defeitos pretos, verdes e ardidos e ausência de grãos preto-verdes e/ou fermentados.

O teor de cafeína de cada tipo de café varia, o café arábica produz cafés com teores de cafeína relativamente baixos (entre 0,9% e 1,5%) e o café tipo robusta apresenta teor de cafeína maiores (entre 2% e 4,5%) (CNCAFE, 2010), a quantidade de cada tipo de café para a produção de um café comercial irá influenciar no teor de cafeína, isso pode ser observado na Figura 11, onde houve grande variação no teor de cafeína das amostras comerciais (amostra A, B, C e D).

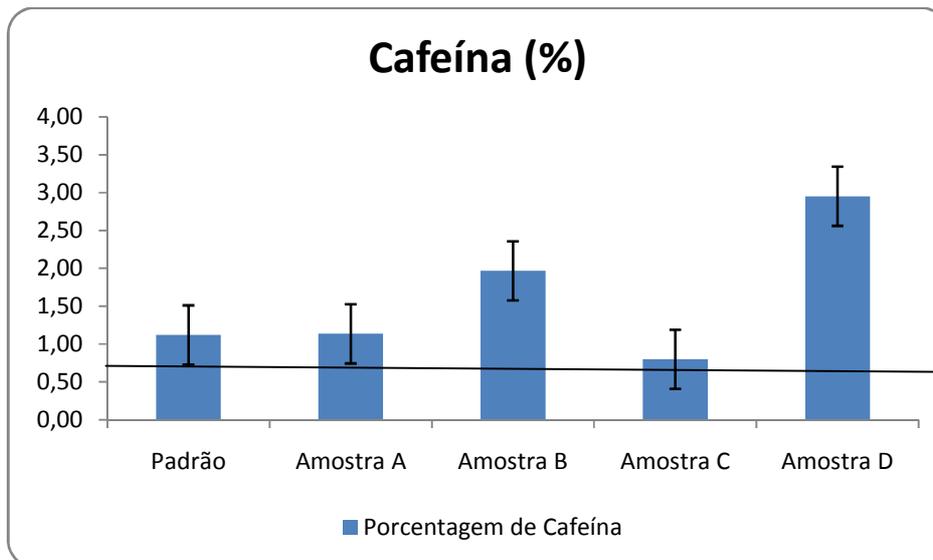


Figura 11. Teor de cafeína dos cafés comerciais e padrão expresso em porcentagem.

Os dados obtidos para todas as amostras estão de acordo com os valores estipulados pela legislação vigente que determina um mínimo 0,7% de cafeína no café torrado e moído (BRASIL, 1999).

O conteúdo de cafeína obtido pelo método gravimétrico serve para comparar os teores deste alcalóide nas amostras de café, os resultados indicam que a amostra D apresenta uma quantidade maior desse alcalóide, ao compararmos o teor de cafeína das quatro amostras de cafés comerciais e padrão observa-se que a diferença foi significativa, ressaltando que as amostras A, B, C e padrão são de torras médias e a amostra D de torra um pouco mais escura. Segundo Moraes et al. (2008) existe uma pequena diferença nos teores de cafeína nas três torras (clara, média e escura), e essa pequena diferença se deve a sua alta estabilidade térmica.

É importante considerar que existem diferenças entre os *Blends* utilizados pelas empresas, a amostra C apresentou o menor valor de cafeína entre as amostras comerciais o que pode ser relacionado a um menor teor de café do tipo robusta, em contrapartida o valor encontrado para a amostra D pode ser relacionado ao teor bastante superior de café robusta.

Segundo LICCIARDI et al. (2005) os fatores que podem estar relacionados com as alterações observadas nas amostras são: a heterogeneidade da matéria-prima fornecida às torrefadoras, variação na composição química dos grãos, o indevido armazenamento do grão cru que propicia reações de deterioração dos componentes químicos e/ou ainda a demora excessiva do processo de embalagem, promovendo um contato do café com o ar atmosférico com conseqüente desencadeamento de reações bioquímicas.

Portanto, a grande variação 0,92 a 2,17 da porcentagem de cafeína nas amostras pode ser explicada pela diferença no tipo de café (arábica, robusta, PVA ou adulteração) utilizada nos cafés comerciais.

4.4. Análise Elementar

O teor de proteínas foi calculado considerando o conteúdo de nitrogênio total determinado pela análise elementar (CHN), o fator de 6,25 foi empregado para converter o nitrogênio em proteína, conforme a equação abaixo (AOAC, 1980 em MORAIS, et al., 2007).

$$\text{Teor de Proteínas} = 6,25 \times \%N$$

A Tabela 5 mostra os teores de nitrogênio, carbono, hidrogênio, oxigênio e proteínas dos pós dos cafés e a Tabela 6 mostra os teores para a fração solúvel dos cafés.

Tabela 5. Análise elementar do pó de café

Amostra	Nitrogênio %	Carbono %	Hidrogênio %	Oxigênio %	Proteínas (%)
A	2,82	49,20	6,26	41,72	17,63
B	2,75	50,04	6,27	40,94	17,19
C	2,92	52,19	6,23	38,66	18,25
D	2,99	53,00	7,13	36,88	18,69
Padrão	2,65	51,44	6,95	38,96	16,56

Tabela 6. Análise elementar parte solúvel do café

Amostra	Nitrogênio %	Carbono %	Hidrogênio %	Oxigênio %	Proteínas (%)
A	4,04	40,81	6,95	48,20	25,25
B	3,50	41,88	5,68	48,94	21,88
C	3,59	40,81	5,78	49,82	22,44
D	3,82	42,26	6,27	47,65	23,88
Padrão	3,71	41,12	5,63	49,54	23,19

Os teores de proteínas para o pó do café variaram de 16,56 a 18,69% e para os solúveis variaram de 21,88 a 25,25%, o pó do café D apresentou maior conteúdo de proteínas, já para a fração solúvel do café a amostra A foi a que apresentou o maior conteúdo de proteínas, possuindo assim uma maior variedade de compostos nitrogenados diferentes da cafeína, esse valor condiz com o alto valor de sólidos solúveis e baixo teor de cafeína encontrado para a amostra A nas análises anteriores.

Componentes nitrogenados são todos aqueles compostos que contém nitrogênio orgânico ou inorgânico (MACRAE, 1989), dentre os compostos nitrogenados existentes no café destacam-se a cafeína, a trigonelina, as proteínas, os aminoácidos, as aminas e alguns componentes voláteis, esses compostos podem totalizar 25% da composição do grão de café cru (SMITH em CLARKE E MACRAE, 1989).

Durante a torra, as proteínas são desnaturadas e degradadas em moléculas menores, algumas proteínas ou aminoácidos livres também podem reagir com carboidratos (reação de Maillard) ou com compostos fenólicos e polimerizarem-se formando produtos caramelizados e de coloração escura. Os aminoácidos livres

podem ser degradados durante a torra ou combinados com outros componentes gerando uma mistura de complexos voláteis e não voláteis, muitos dos voláteis são de grande importância para o aroma e, conseqüentemente, qualidade do café torrado (TOCI, 2006).

4.5. Determinação de OH Fenólicos e Carboxílicos (ácidos totais)

A Figura 12 apresenta os valores comparativos do teor de hidroxilas totais (carboxílicas + fenólicas) para as diferentes amostras analisadas.

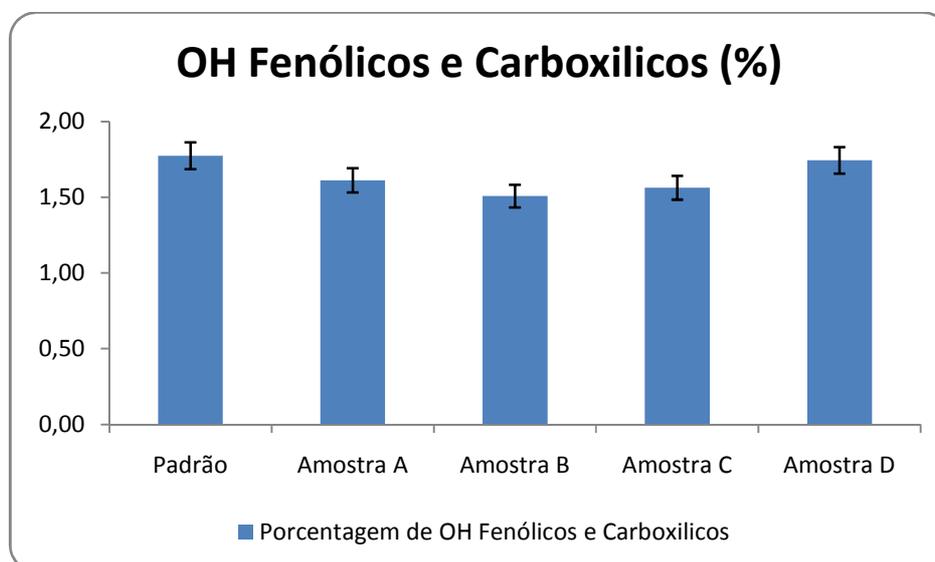


Figura 12. Teores de grupos hidroxila ácidos nas amostras de cafés comerciais e do padrão.

Observa-se que o teor de grupos hidroxila ácidos é maior na amostra padrão e na amostra D, isto pode ser justificado porque o café padrão apresenta um teor mais elevado de ácidos clorogênicos e ácido quínico, evidenciado por RMN de ^1H e pela CLAE. Já o teor elevado na amostra D pode ser em consequência da torra mais elevada a que esta amostra foi submetida que pode ter originado uma maior quantidade de grupos ácidos, tanto carboxílicos como fenólicos.

4.6. Atividade Antioxidante e CE_{50}

Para o cálculo do CE_{50} foi utilizada a medição da atividade antioxidante ao decorrer do tempo de 40 minutos para diferentes diluições da mesma amostra gerando um gráfico e com auxílio de cálculos computacionais calculou-se a equação onde relacionamos a concentração de café com a atividade antioxidante, substituindo o valor da concentração de DPPH a 50% da original tem-se o valor resultante CE_{50} para a amostra de café.

É importante ressaltar que para assegurar a validade dos testes a concentração do radical DPPH \cdot tem que estar dentro da linearidade da Lei de Beer (Figura 13).

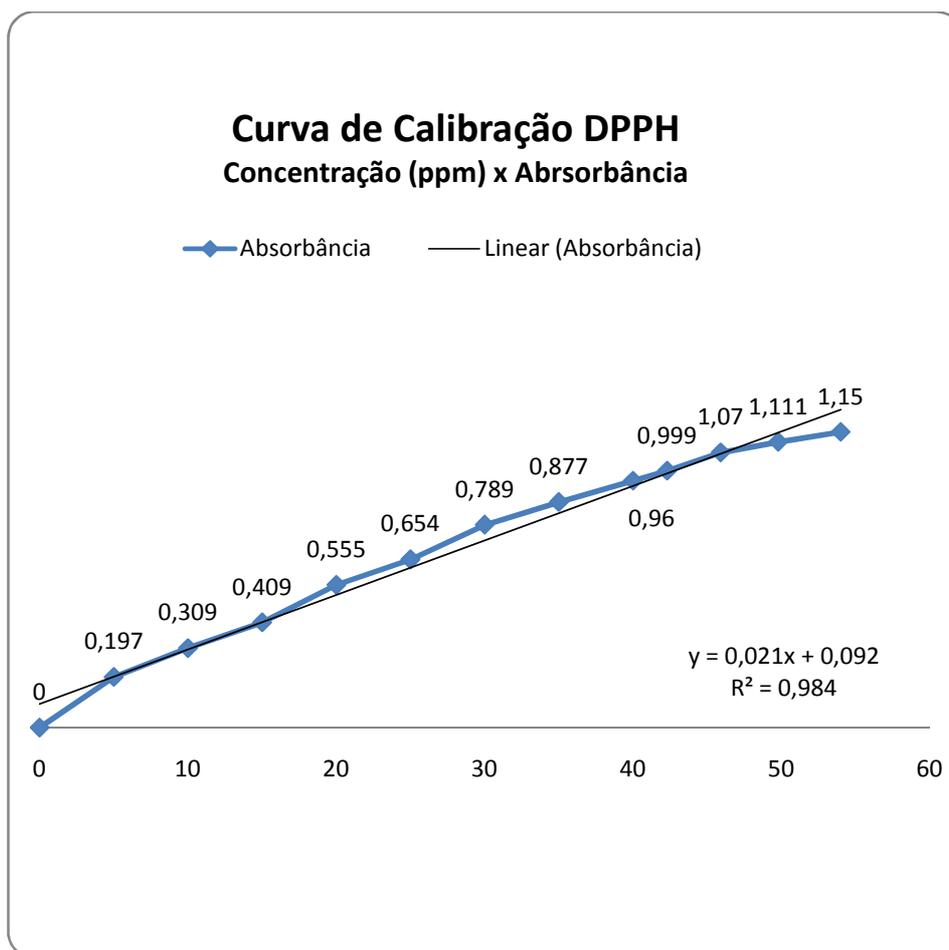


Figura 13. Curva de calibração do radical DPPH:

O teste em branco consistiu em registrar a absorbância de 0,10 mL da solução a ser analisada com 3,90 mL de metanol e substituída na fórmula:

$$\text{Atividade Oxidante (\%)} = [(Abs_{DPPH} - (Abs_{Amostra} - Abs_{Branco}) / Abs_{DPPH})] * 100$$

Onde:

Abs_{DPPH} é a absorbância da solução do referido DPPH antes de reagir.

$Abs_{Amostra}$ é a absorbância das soluções nos supracitados intervalos de tempo.

Abs_{Branco} é a absorbância do branco.

Os radicais livres DPPH[•] que inicialmente apresentam cor roxa perdem esta cor quando um radical hidrogênio doado por uma molécula antioxidante forma uma ligação com a molécula de DPPH[•], diminuindo-se assim sua concentração. O DPPH[•] é um radical estável com baixa taxa de deterioração e reatividade com a maioria dos compostos, assim sendo, apenas agentes redutores fortes são capazes de reagir com estes radicais estáveis em um modo estequiométrico (SANTOS et al., 2007).

Existem dois tipos de radicais livres (DPPH[•]) comercializados pela mesma sigla que são os radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazila, também encontrados pela nomenclatura 1,1-difenil-2-picrilhidrazila e 2,2-di(4-*t*-octilfenil)-1-picrilhidrazila, (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; NEBESNY e BUDRYN, 2003). Esses radicais reagem de maneira diferente com os antioxidantes sendo o mais reativo e mais solúvel, a conversão do radical DPPH[•] em DPPH-H resulta no declínio relativamente rápido da absorbância a 515 e 531 nm, respectivamente, nesta reação o radical DPPH[•] é reduzido através de constituintes antioxidante presentes

nos cafés (AH) (Figura 14), os radicais A gerados reagem de várias formas no organismo resultando em novos compostos de fácil eliminação metabólica.

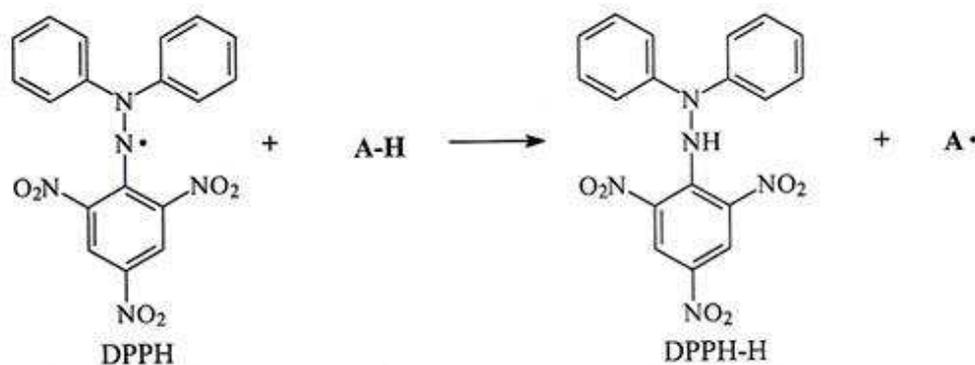


Figura 14. Estrutura do radical livre e estável DPPH• e sua redução para DPPH-H pelos antioxidantes A-H presentes no café.

No café o número de radicais DPPH• que são reduzidos está correlacionado principalmente com os grupos ácidos e o teor de fenóis, cujo ácido clorogênico é um dos constituintes, produtos da reação de Maillard, cafeína, trigonelina e constituintes voláteis, tais como furanos e pirróis, também contribuem para a redução do DPPH (NEBESNY e BUDRYN, 2003).

As Figuras 15 a 19 mostram os comportamentos cinéticos e a variação de concentração do Padrão e das amostras A, B, C e D, respectivamente.

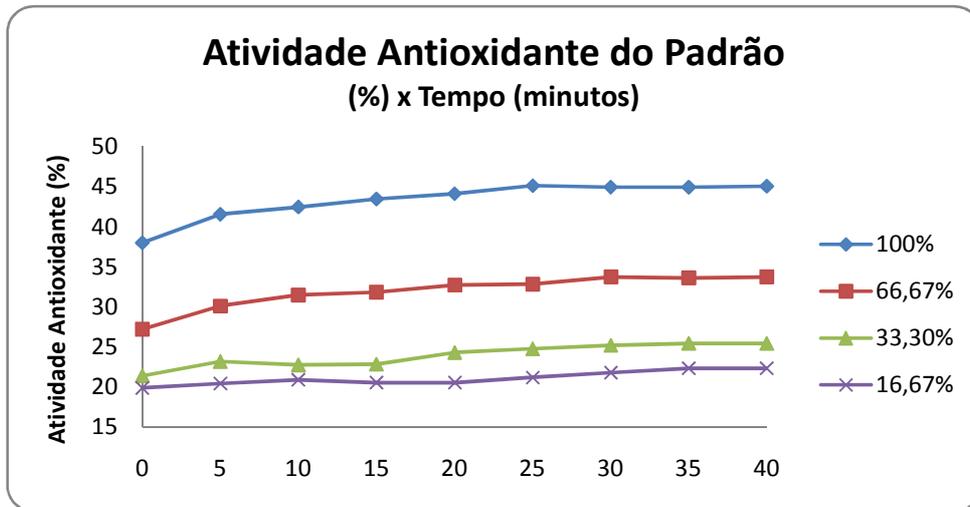


Figura 15. Gráfico da atividade antioxidante do café Padrão em várias concentrações em função do tempo.

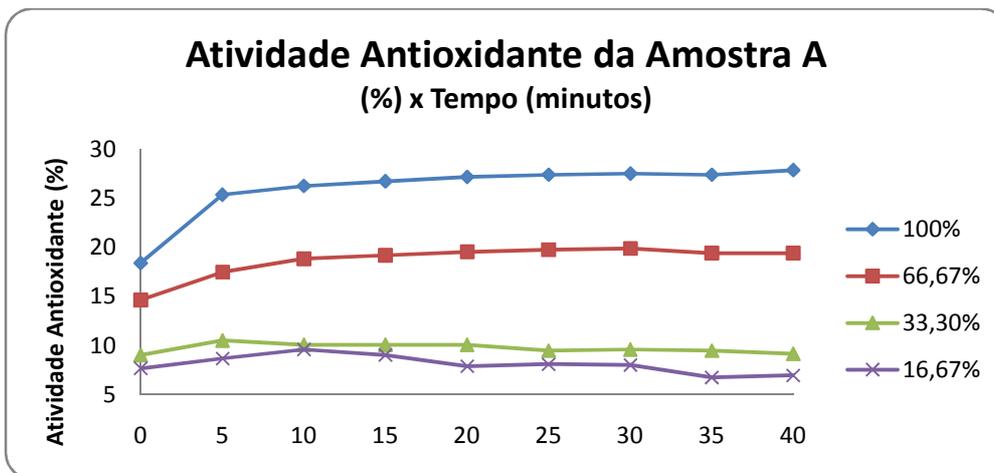


Figura 16. Gráfico da atividade antioxidante da amostra de café A em várias concentrações em função do tempo.

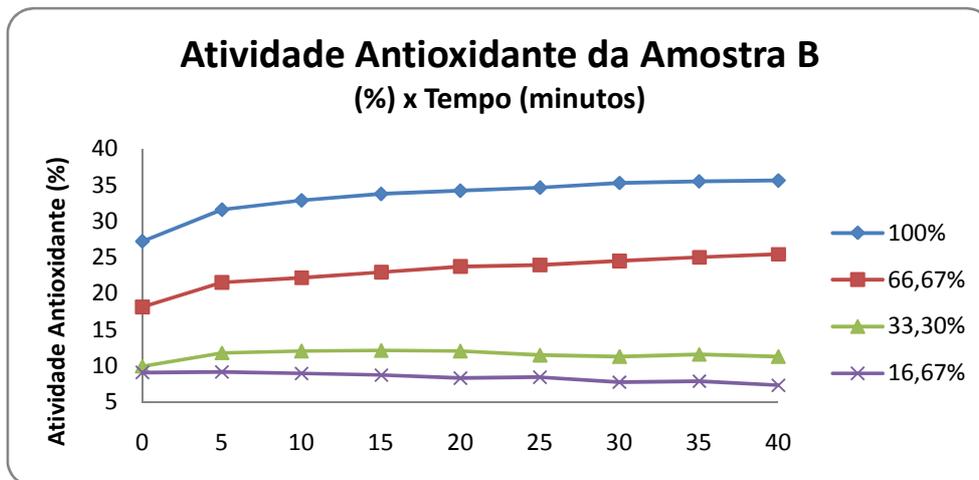


Figura 17. Gráfico da atividade antioxidante da amostra de café B em várias concentrações em função do tempo.

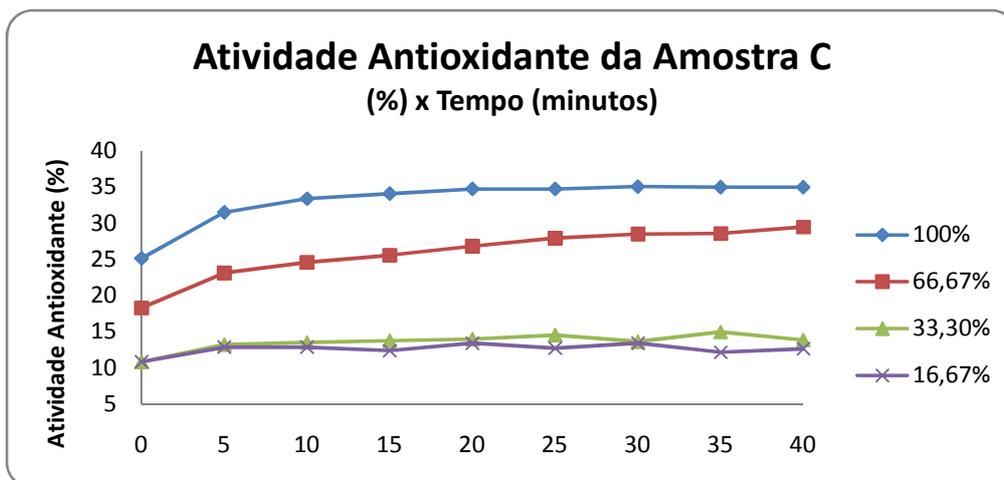


Figura 18. Gráfico da atividade antioxidante da amostra de café C em várias concentrações em função do tempo.

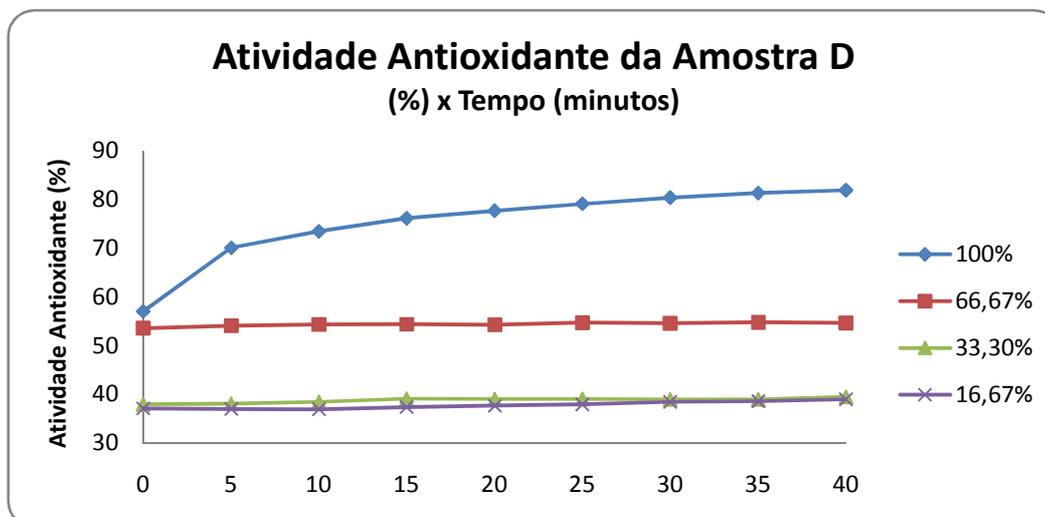


Figura 19. Gráfico da atividade antioxidante da amostra de café D em várias concentrações em função do tempo.

Ao comparar os gráficos da atividade antioxidante do Padrão e das amostras A, B, C e D foi encontrado um padrão nas reações de oxido redução: O comportamento cinético da reação do DPPH[•] indica que todas as amostras atingiram o máximo de consumo do DPPH[•] em 20 min., e após esse período não houve aumento significativo do consumo ao longo do tempo total de observação (40 min.).

A medida da atividade antioxidante máxima do padrão e das amostras está representada na Figura 20, ela permite comparar o comportamento antioxidante de cada amostra e suas diluições, porém não dá embasamento para comparar diferentes amostras, isso ocorre porque cada café possui uma solubilidade e sua atividade antioxidante depende diretamente do número de substâncias que estão dissolvidas, os valores obtidos estão representados na Figura 20.

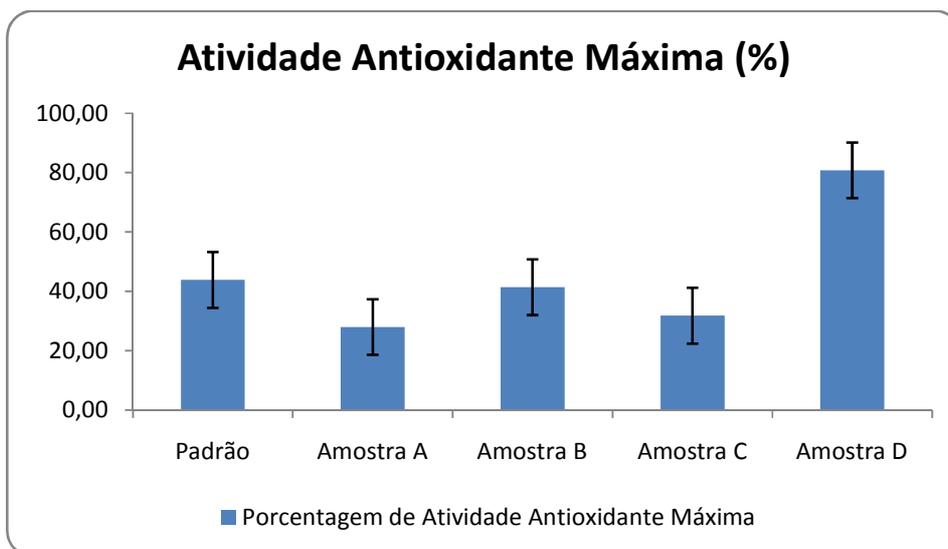


Figura 20. Porcentagem de atividade antioxidante das amostras de café comerciais e padrão para o tempo de reação de 40 minutos.

A quantidade necessária do extrato de amostras de café para reduzir a concentração inicial de DPPH[•] em 50% (CE₅₀) foi calculada a partir do gráfico de DPPH[•] remanescente em função das concentrações, para os extratos do café padrão e das amostras com o tempo de 40 min de reação. As Figuras 21 a 25 apresentam os gráficos utilizados para o cálculo do CE₅₀ do Padrão e das amostras A, B, C e D respectivamente.

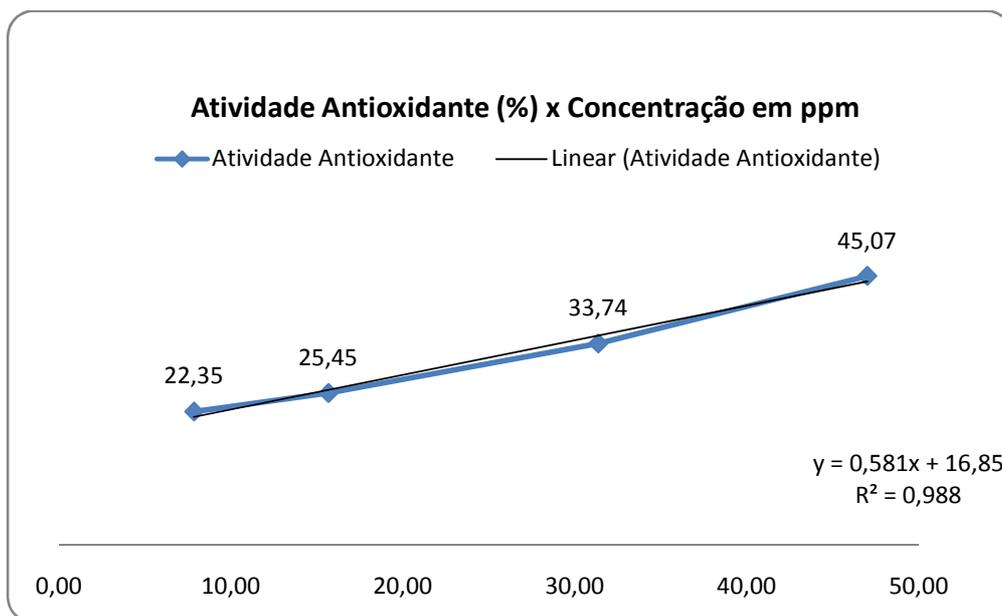


Figura 21. Gráfico da reta obtida para cálculo de CE₅₀ do padrão.

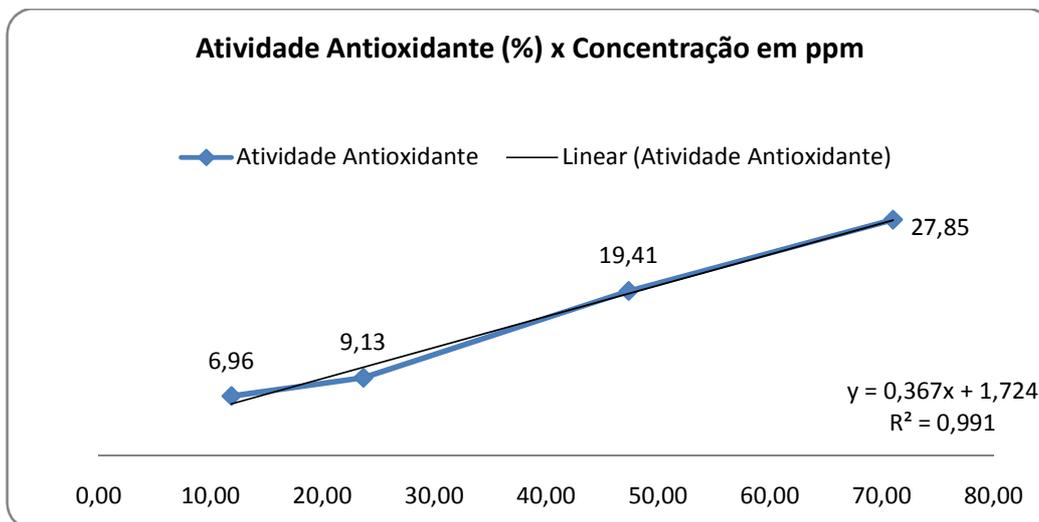


Figura 22. Gráfico da reta obtida para cálculo de CE₅₀ da amostra A.

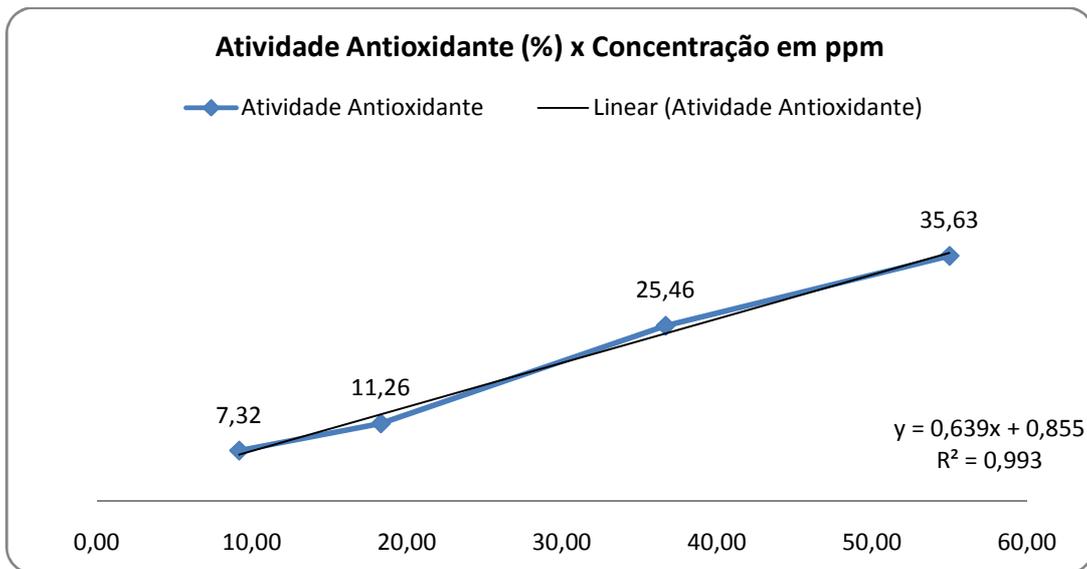


Figura 23. Gráfico da reta obtida para cálculo de CE_{50} da amostra B.

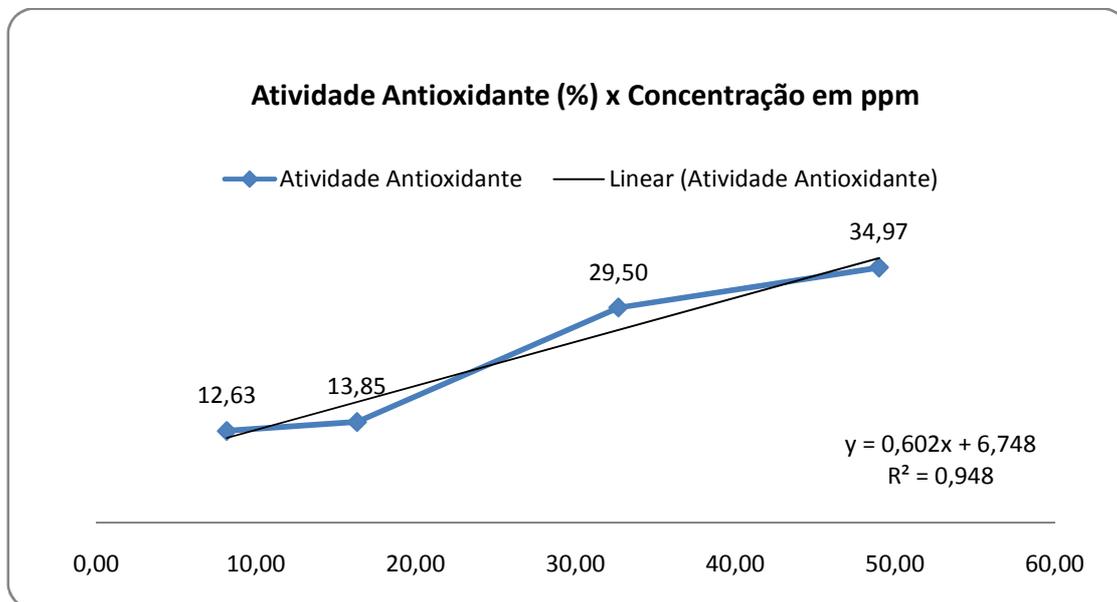


Figura 24. Gráfico da reta obtida para cálculo de CE_{50} da amostra C.

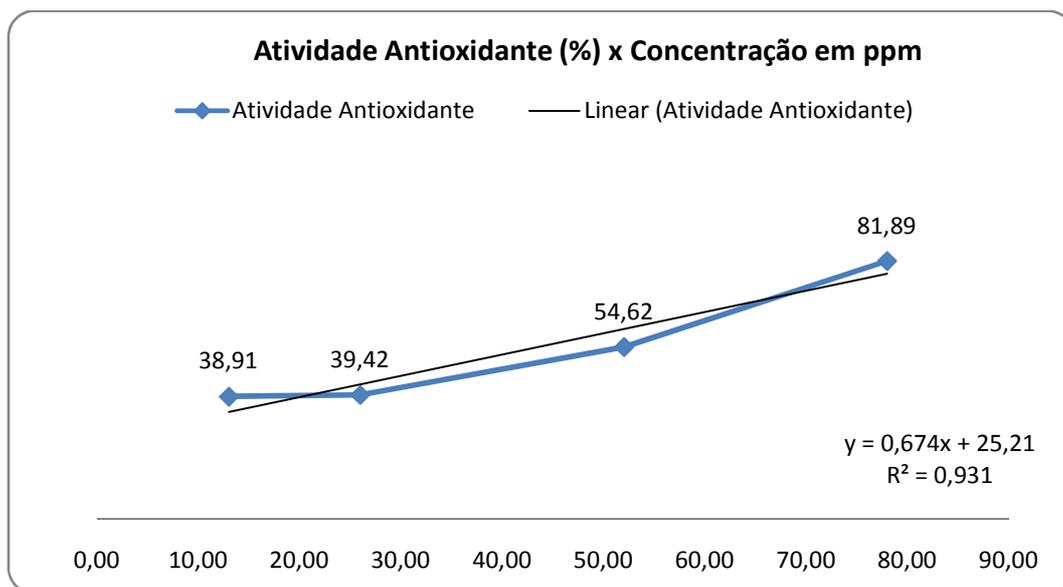


Figura 25. Gráfico da reta obtida para cálculo de CE_{50} da amostra D.

Para calcularmos o CE_{50} atribui-se 50 ao valor de “y” na equação da reta e encontra-se o valor de “x”, o valor encontrado representa a massa em mg de café necessária para oxidar o radical DPPH a uma concentração equivalente a 50% da original, a Figura 26 mostra os valores encontrados para o padrão e amostras de café.

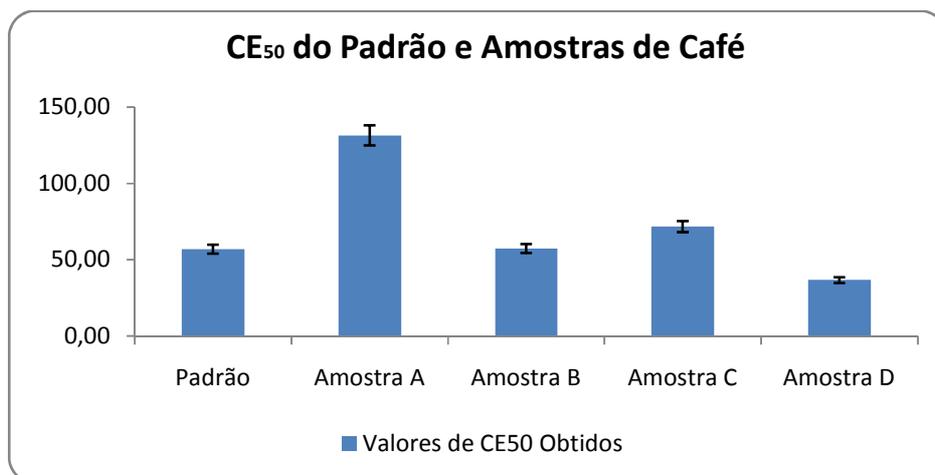


Figura 26. Concentração efetiva média (CE₅₀ em µg mL⁻¹) calculada para as amostras de café comerciais e padrão.

Os resultados acima comprovam que a bebida do padrão e dos cafés comerciais apresenta atividade seqüestradora do radical DPPH[•], as amostras D e padrão apresentaram maior percentagem de inibição de radicais DPPH[•]. É importante ressaltar que, ao contrário da atividade antioxidante, quanto menor o valor de CE₅₀ melhor a eficiência do café para combater radicais livres.

As quantidades superiores dos fenóis totais e ácidos clorogênicos podem justificar a maior atividade antioxidante da bebida da amostra D e do padrão, valores de atividade antioxidante superior para amostra D em relação às outras pode estar relacionado ao grau de torra mais rigoroso desta amostra que leva à formação de mais compostos ácidos (carboxílicos e fenólicos) durante o processo pirolítico. Segundo Menezes (1994) os ácidos clorogênicos ainda continuam contribuindo para a atividade seqüestradora do radical DPPH[•] uma vez que

durante o rigor da torra estes constituintes são degradados a outros compostos ácidos ou polimerizados com outros constituintes do café formando melanoidinas.

4.7. Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas

Os compostos voláteis identificados com área maior que 0,5% encontram-se nas tabelas 7 a 11, com os respectivos cafés, os índices de similaridade dos compostos identificados são de 85% ou maiores.

Tabela 7. Compostos voláteis do Padrão

Tempo de Retenção	Composto	Porcentagem
6,628	Pirazina	0,52
7,099	Piridina	3,98
9,309	Hexanaldeido	0,87
9,624	2-metiltetrahidrofuran-3-ona	1,31
10,427	metil-pirazina	2,70
10,920	furfural	2,45
11,299	n-propildissulfito	1,22
11,313	metoxi-eteno	0,84
12,184	2-furanmetanol	13,07
12,581	1-(acetiloxi)-2-propanona	1,79
14,691	2-metil-2-ciclopentenona	0,48
14,990	2,6-dimetilpirazina	5,43
15,194	etil-pirazina	1,39
15,397	2,3-dimetil-pirazina	0,59
17,556	2-metilpent-3-ona	1,25
17,796	5-metilfurfural	3,33
18,805	fenol	1,66
19,464	2-furanmetanol, acetato	4,33
19,762	2-etil-6-metilpirazina	1,43
19,927	2-etil-5-metil-pirazina	0,73
20,016	trimetil-pirazina	0,71
20,192	1-metil-2-pirrolcarboxialdeido	1,33

20,323	pirrol-2-aldeido	0,61
20,852	N-acetil-4(H)-piridina	0,71
22,321	Benzeno-acetaldeido	0,69
22,855	4-metil-fenol	0,55
23,358	1-(1H-pirrol-2-il)-etanona	1,64
23,823	1-(2-furil)-butan-3-ona	0,48
24,018	1-(1-metil-1H-pirrol-2-il)-etanona	1,17
24,243	3-etil-2,5-dimetil-pirazina	0,75
24,507	2,2'-metilenobis-furano	1,19
24,676	Não Identificado	0,46
24,883	2-metoxi-fenol	2,21
25,095	3-etil-2-hidroxi-2-ciclopenten-1-ona	1,01
25,512	4,4-dimetil-2-ciclohexen-1-ona	0,95
25,907	Não Identificado	0,46
26,073	Não Identificado	0,53
26,437	2-metileno-octanonitrila	1,00
27,669	Não Identificado	0,65
28,923	Não Identificado	0,73
29,403	Não Identificado	0,49
29,639	2-(2-furanilmetil)-5-metil-furan	0,77
29,820	1-(2-furanilmetil)-1H-Pirrol	1,22
34,037	Não Identificado	0,49
34,823	4-etil-2-metoxifenol	2,50
35,399	2,4-decadienal	0,47
35,625	1H-Indole	0,64
35,812	Difurfurileter	1,54
36,562	4-etenil-2-methoxi-fenol	2,56
38,169	Não Identificado	0,46
41,405	2-butilfurano	0,98
42,443	Não Identificado	0,55
61,428	metilpalmitato	2,37
62,866	Ácido palmítico	15,56
67,278	Acido 9,12-octadecadienoico	0,81
68,651	Acido 9,12-octadecadienoico	0,73
68,789	Acido 9-octadecenoico	0,66

Tabela 8. Compostos voláteis da Amostra A

Tempo de Retenção	Composto	Porcentagem
7,153	Não Identificado	0,69
10,445	metilpirazina	0,92
12,005	2-furanometanol	18,51
12,500	Acetoxipropanona	4,36
14,924	dihidro-2(3H)-furanona	8,36
15,158	1-hidroxi-2-pentanona	0,48
17,524	2-metil-3-pentanona	0,45
17,742	5-metil-2-furancarboxaldeido	1,04
18,712	fenol	2,77
19,784	2-furanona, 2,5-dihidro-3,5-dimetil	0,93
20,270	Pirrol-2-carboxialdeido	0,57
20,841	N-acetil-4(H)-Piridina	0,59
23,208	1-(1H-pirrol-2-il)-etanona	2,11
24,845	2-metoxi-fenol	1,83
25,916	(1-metiletetil)-pirazina	0,51
26,435	3-etil-2-hidroxi-2-ciclopenten-1-ona	0,90
34,812	4-etil-2-metoxi-fenol	3,09
35,618	Pirrol[1,2-a]piridina	1,00
35,808	2,2'-[oxibis(metileno)]bis-furano	0,57
36,544	4-etenil-2-metoxi-fenol	2,14
41,423	Não Identificado	0,75
53,068	Hexadecano	0,81
53,842	Não Identificado	0,61
59,324	Não Identificado	0,60
61,433	Metilpalmitato	9,33
62,734	Ácido palmitico	21,88
63,760	Etilpalmitato	0,56
67,274	Acido 9,12-Octadecadienoico	2,56
67,449	Acido ciclopropanoetanoico	0,66
68,273	Acido metil etiloctadecanoico	0,57
68,599	Acido 9-Octadecanoico	0,61
71,101	Eicosano	0,53
76,167	Não Identificado	7,31

Tabela 9. Compostos voláteis da Amostra B

Tempo de Retenção	Composto	Porcentagem
3,578	Contaminante	1,14
4,595	Cicloexano	1,98
6,637	Pirazina	0,89
7,099	Piridina	3,43
9,620	2-metiltehdrahidrofura-3-ona	1,03
10,426	metil-pirazina	4,27
10,880	Furfural	2,48
11,292	Diacetonaalcool	0,72
11,823	ácido 3-metil-butanoíco	1,48
12,138	2-furanometanol	14,75
12,550	1,2-etanodienol diacetato	2,27
14,966	2,5-dimetil pirazina	5,81
15,186	etil pirazina	1,40
15,399	2,3-dimetil-pirazina	0,77
17,522	2-metil-3-pentanona	0,9
17,784	5-metil-2-furanocarboxialdeído	4,24
18,758	Fenol	1,19
19,437	2-acetometilfurano	2,16
19,757	2-etil-6-metil-pirazina	1,27
19,922	2-etil-5-metil-pirazina	0,72
20,006	trimetil pirazina	1,01
20,168	1-formil-2-metil-pirrol	1,20
20,325	Pirrole-2-aldeido	0,58
20,851	1-Acetil-1,4-dihidropiridina	0,59
23,254	1-(1H-pirrol-2-il)-Etanona	1,07
24,017	N-metil-2-acetilpirrol	0,73
24,246	3-etil-2,5-dimetil-pirazina	0,96
24,515	2,2'-metilenobis-furano	0,52
24,867	2-metoxifenol	1,89
25,088	2-isopropil-2,5-dimetil-ciclohexanona	0,54
25,916	(1-metiletetil)-pirazina	0,5
26,424	1-(3-metilpirazinil)-etanona	0,67
29,824	1-(2-furanilmetil)-1H-pirrole	0,67
34,822	4-etil-2-metoxifenol	1,78
36,562	4-etenil-2-metoxifenol	2,34
41,424	3-(1-metiletetil)-ciclohexeno	0,61
61,437	Acido metil ester Pentadecanoíco	2,25
62,901	Ácido Palmítico	23,25

63,783	etilpalmitato	1,5
67,292	Ácido metil ester-9,12-Octadecadienoico	0,89
68,684	Ácido 9,12-Octadecadienoico	2,63
69,722	Ácido metil ester-9,12-Octadecadienoico	0,92

Tabela 10. Compostos voláteis da Amostra C

Tempo de Retenção	Composto	Porcentagem
9,627	2-metiltetrahidrofuran-3-ona	0,50
10,437	metil-pirazina	2,32
10,858	Furfural	2,01
11,277	4-hidroxi-4-metil-2-pentanona	0,84
11,950	2-furanmetanol	7,86
12,481	1-(acetiloxi)-2-Propanona	3,31
14,915	2,5-dimetilpirazina	3,99
15,167	etil-pirazina	0,75
17,523	1-(acetiloxi)--butanona	0,75
17,738	5-metilfurfural	4,08
19,414	2-Furanmetanol, acetato	1,00
19,749	2-etil-6-metil-pirazina	0,59
19,976	trimetil-pirazina	0,78
20,152	1H-Pirrole-2-carboxaldeido	0,50
49,100	Contaminante	0,82
53,045	Hexadecano	1,95
62,566	Ácido palmitico	0,99
63,847	Eicosano	28,66
72,513	Octacosano	37,50

Tabela 11. Compostos Voláteis da Amostra D

Tempo de Retenção	Composto	Porcentagem
3,194	2-Butanona	0,68
7,123	Piridina	19,24
10,473	metil-pirazina	2,31
10,890	Furfural	1,49
11,987	2-furanometanol	9,44
12,514	Etileno diacetato	1,74
14,940	2-acetil furano	5,78
15,201	etil-pirazina	0,87
15,412	2,3-dimetil-pirazina	0,59
17,757	5-Metil-2-furfural	1,79
18,736	Fenol	6,60
19,447	Furfuril acetato	1,11
19,792	2-etil-3-metil-pirazina	0,87
24,867	2-metoxifenol	2,07
25,515	Não Identificado	0,73
34,832	4-etil-2-metoxi-fenol	1,47
35,814	2,2'-[oxibis(metileno)]bis-furan	0,53
49,077	Contaminante	3,08
52,776	1-Hexadeceno	1,35
53,049	Hexadecano	5,21
53,715	Aldeídopalmitico	1,61
61,431	Ácido pentadecanoico	4,12
62,616	Acido palmitico	2,19
73,125	2-Buteno-1,4-diol	5,31
73,212	1-cloro-heptacosano	11,14

A análise das Tabelas 7 a 11 mostra que o Padrão apresentou maior número de compostos voláteis identificados e as Amostras C e D apresentaram menores teores destes constituintes.

A atividade odorífica dos constituintes de forte impacto se destaca sobre as demais mesmo se sua concentração for baixa, como é o caso dos derivados de pirazina.

Constituintes que possuem um limite de detecção odorífica (LDO) relativamente alto como a acetona, piridina, furfural, álcool furfurílico, 2,6-dimetilpirazina, entre outros, têm maior influência no aroma final, mesmo estando em concentração relativamente baixa. Esta constatação é muito importante porque comprova que o aroma de cafés (e de outros produtos) é fundamentalmente apoiado em poucos componentes de forte impacto, mesmo havendo centenas de outros no seu óleo essencial, como é o caso do café torrado.

Derivados de pirazina estão presentes no padrão e em todas as amostras analisadas, esses derivados são responsáveis pelo cheiro de matéria torrada e dão um aroma agradável ao café, apesar do Padrão ser constituído apenas de café arábica e as amostras comerciais possuem grande percentagem de café robusta há pouca diferença em seus compostos voláteis.

A Amostra D apresentou um número reduzido de compostos voláteis que contribuem para aroma e sabor do café, o que pode justificar o odor adstringente e o sabor amargo apresentado por esta amostra, mesmo possuindo o menor número de compostos voláteis identificados a Amostra C possui mais derivados de cetona que a Amostra D, o que pode justificar o aroma mais agradável e sabor mais característico de café apresentado por esta amostra.

Os menores teores de constituintes voláteis identificados em todas as amostras e em especial nas amostras C e D pode estar relacionado à qualidade dos grãos usados na preparação destes cafés, na adulteração ou mesmo na temperatura de torra que se foi muito elevada mesmo por pouco tempo pode levar a degradação destes constituintes.

4.11. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A quantificação dos componentes foi feita com base na curva de calibração de cada substância. Os cromatogramas que foram obtidos pela injeção dos padrões são observados nas Figuras 27 a 30.

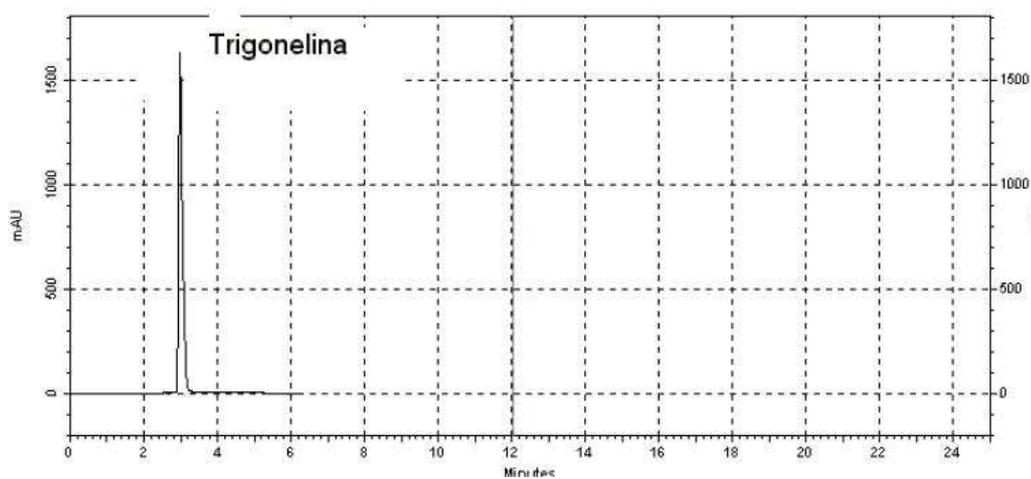


Figura 27. Cromatograma do padrão de Trigonelina.

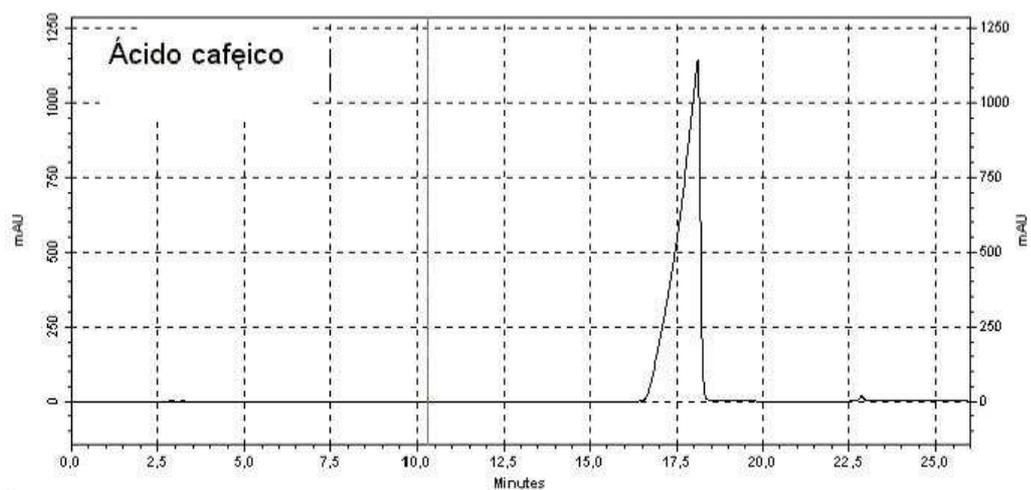


Figura 28. Cromatograma do padrão de Ácido Cafeíco.

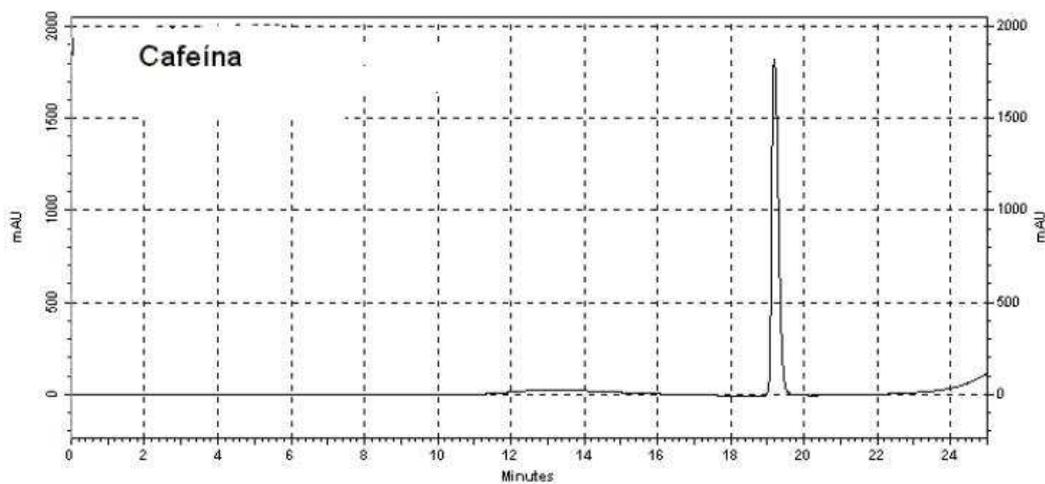


Figura 29. Cromatograma do padrão de Cafeína.

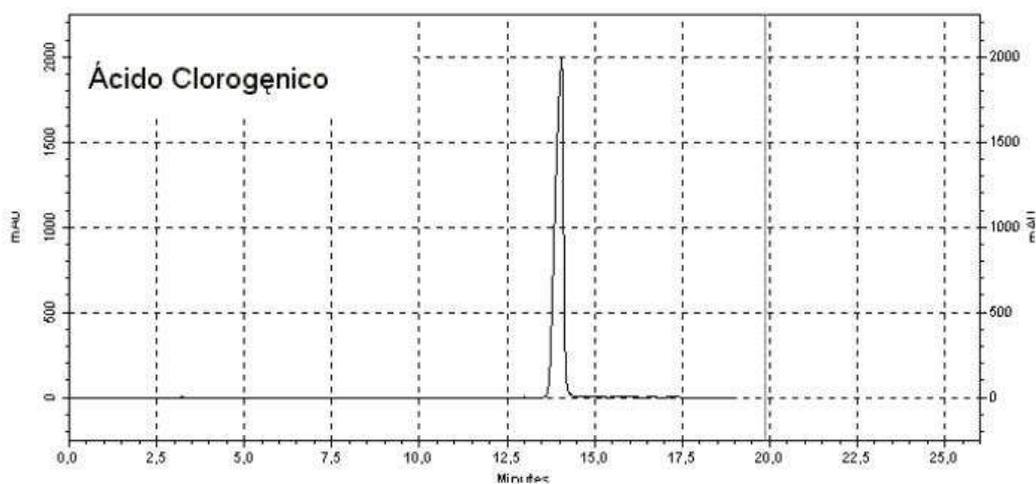


Figura 30. Padrão Ácido Clorogênico.

A partir de soluções de concentrações conhecidas de cada padrão foram feitas as curvas de calibração (Figuras 31 a 34) para os mesmos, possibilitando a quantificação de cada componente nas amostras de café, a leitura de absorvância foi feita em 213 nm para a trigonelina, 323 nm para o ácido 5-cafeoilquínico,

310 nm para ácido cafeíco e 269 nm para cafeína, sendo estas as absorvâncias máximas registradas no aparelho para cada composto.

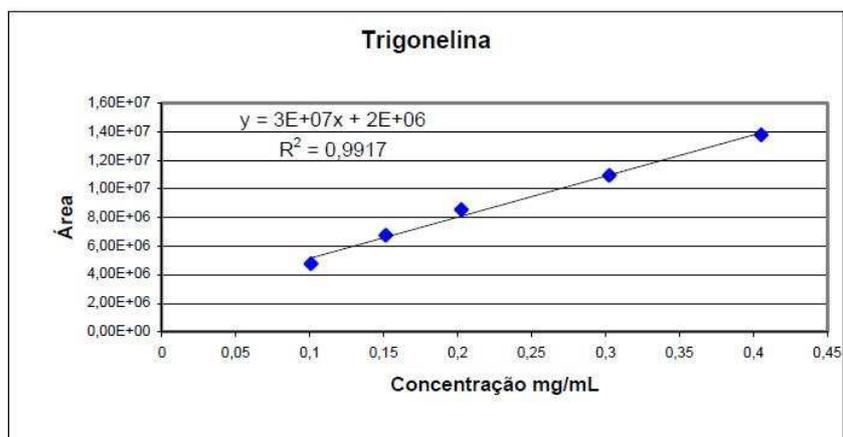


Figura 31. Curva de calibração para a Trigonelina.

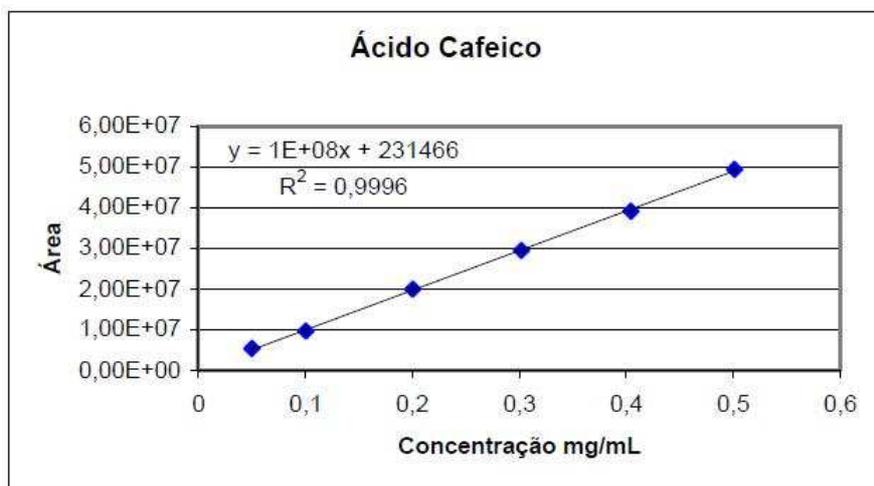


Figura 32. Curva de calibração do Ácido Cafeíco

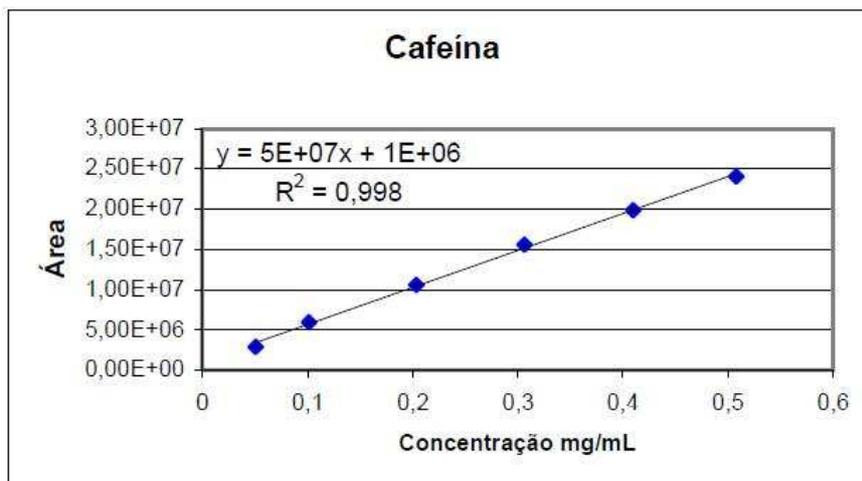


Figura 33. Curva de calibração da Cafeína

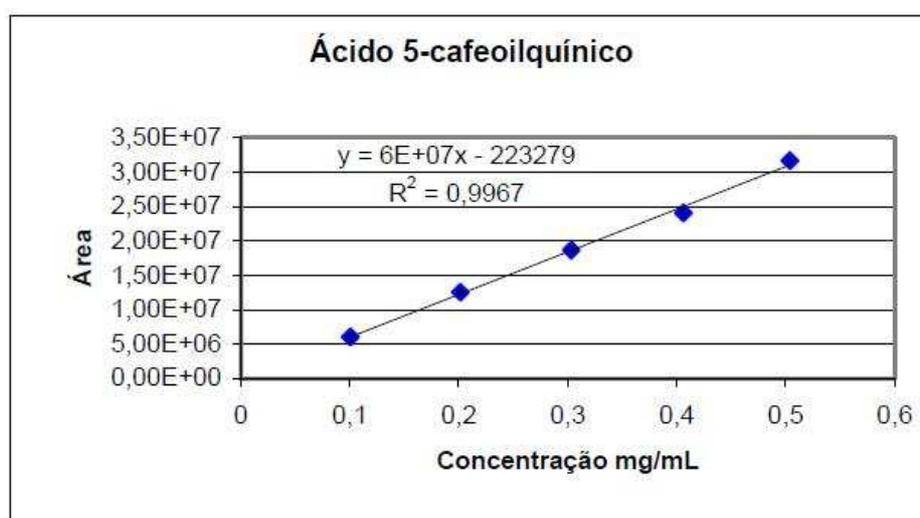


Figura 34. Curva de Calibração do Ácido Clorogênico.

Os gráficos representados nas figuras 35 a 38 demonstram a quantidade de trigonelina, cafeína e ácido cafeico presente em um grama das amostras comerciais e no padrão.

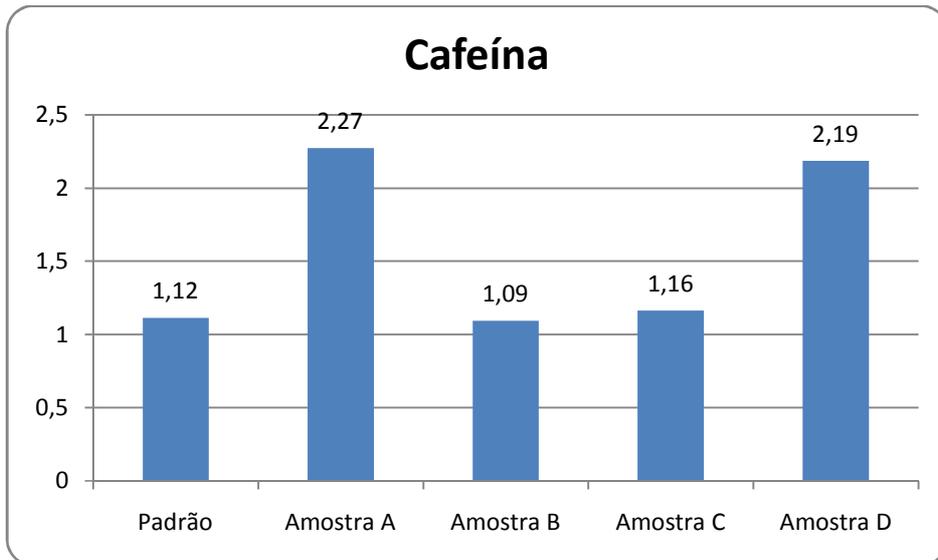


Figura 35. Quantidade de cafeína presente por grama de amostra

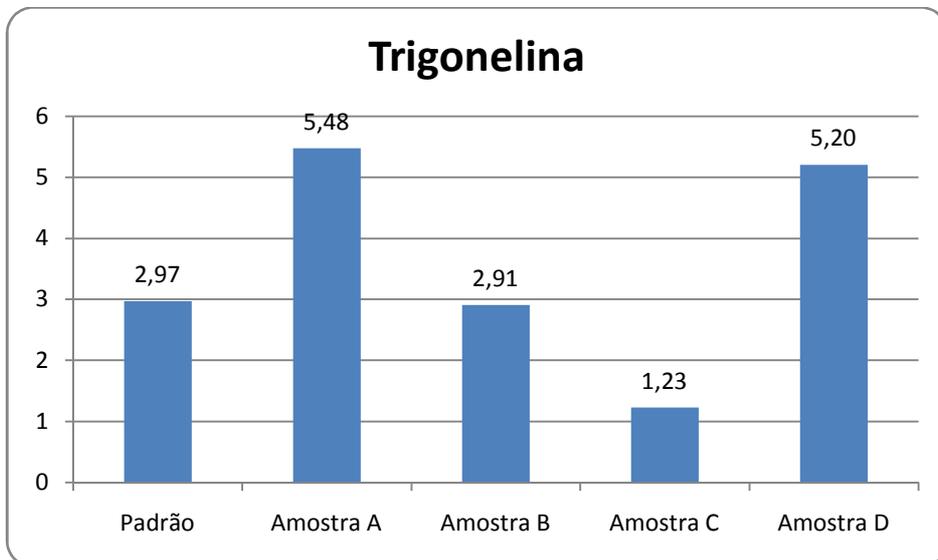


Figura 36. Quantidade de trigonelina presente por grama de amostra

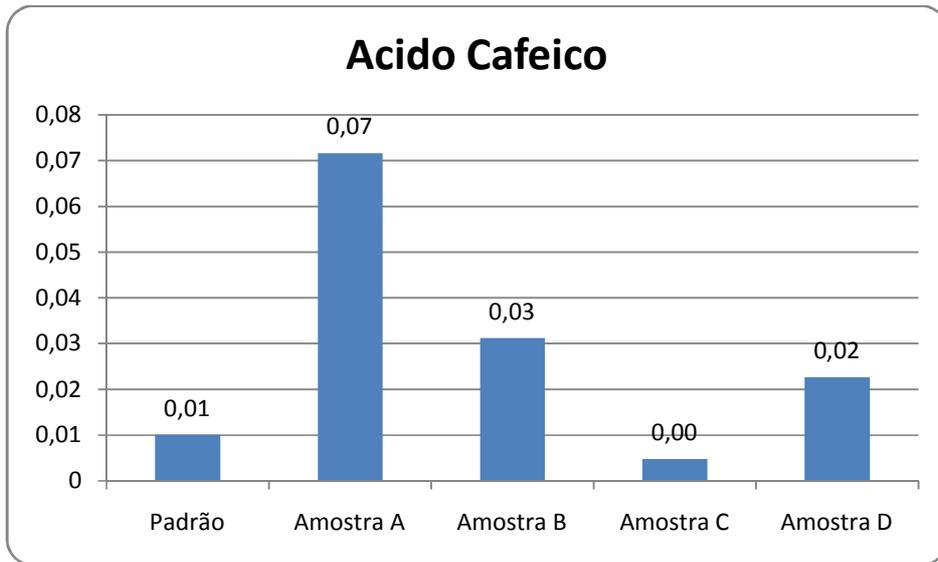


Figura 37. Quantidade de Acido Cafeico presente por grama de amostra

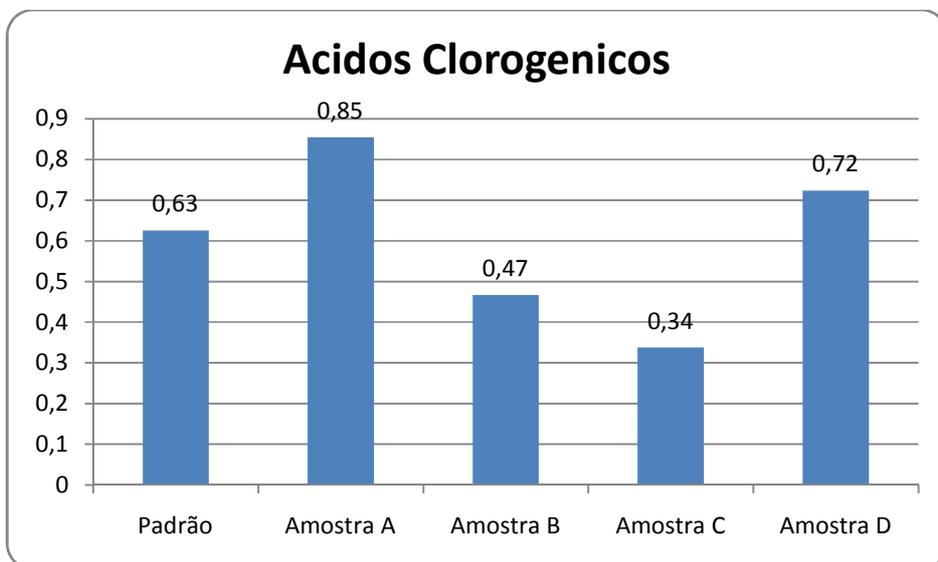


Figura 38. Quantidade de Ácidos Clorogênicos presentes em um grama de amostra.

Como podemos observar a Amostra B apresentou a maior quantidade das quatro substâncias analisadas, o Padrão apresentou a segunda maior quantidade de trigonelina, cafeína e ácidos clorogênicos, a Amostra C a segunda maior quantidade de ácido cafeíco, a Amostra D, que é de torra forte apresentou a menor quantidade de ácidos clorogênicos, trigonelina e ácido cafeíco, parte desse resultado se deve ao fato de que essas substâncias são degradadas com aquecimento.

4.9. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF)

O IVTF, ainda que não ideal para análise de misturas de compostos, serve para a identificação de grupos funcionais ativos nesta região do espectro. A ausência de grupos funcionais poderá fornecer informações adicionais para a atribuição das amostras em classes de compostos.

Na Figura 39 são apresentados os espectros no infravermelho obtidos para os pós das amostras de café A, B, C, D e Padrão. Uma inspeção na Tabela 12 mostra espectros muito parecidos, porém com algumas diferenças em relação aos grupos funcionais presentes nas mesmas.

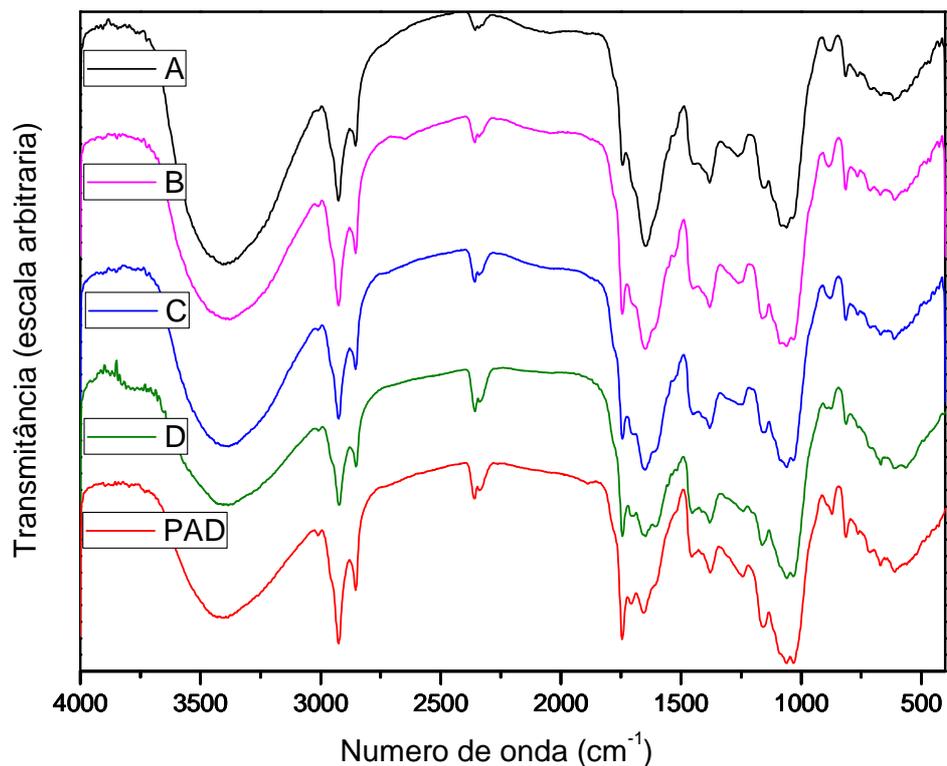


Figura 39. Espectros de infravermelho relativos às amostras do pó de café para as amostra A, B, C, D e Padrão.

Todos os espectros apresentam uma banda larga observada entre 3750-3000 cm⁻¹ relativa a deformação axial O-H com maior intensidade na amostra de café A, em função da intensidade da banda centrada em 3380 cm⁻¹ pode-se deduzir que as amostras provavelmente apresentam em sua constituição outras substâncias hidroxiladas como carboidratos e compostos fenólicos como os pirróis, ácidos clorogênicos e carboxílicos.

Tabela 12. Atribuição das bandas de absorção no infravermelho para as amostras do pó café A, B, C, D e padrão

Bandas cm^{-1}:					Atribuições:
Amostra:					
A	B	C	D	Padrão	
3408	3381	3381	3396	3408	Estiramento O-H
-	3009	3010	3007	3009	Estiramento C-H em metila e/ou metileno
2926	2926	2924	2924	2924	Estiramento assimétrico C-H alifático
2854	2854	2854	2852	2854	Estiramento simétrico C-H alifático
1743	1743	1743	1743	1745	Deformação axial da ligação C=O de ésteres.
-	-	1703	1701	1707	Deformação axial da ligação C=O cetonas e aldeídos
1645	1649	1649	1649	1655	Estiramento da ligação C=C de compostos aromáticos.
1448	1448	1452	1452	1454	Deformação assimétrica C-H alifáticas
1381	1381	1381	1381	1379	Estiramento da ligação C-O
1261	1257	1246	1240	1242	Deformação axial assimétrica de C-O-C
1155	1161	1155	1163	1157	Deformação axial de C-O
1061	1061	1061	1057	1061	Deformação axial simétrica de C-O.
-	1034	1030	1032	1032	Deformação C-O
879	883	879	872	872	Deformação axial de N-O.
814	815	814	814	814	Deformação angular fora do plano de -CH.
613	609	613	611	609	Deformação angular fora do plano de N-H ou de C-H aromático.

Os espectros das amostras D e Padrão apresentaram banda em 1707 cm^{-1} (n C=O) que associada à banda larga observada entre $3500\text{-}2500 \text{ cm}^{-1}$, evidencia a presença de ácidos graxos na amostra, essa mesma banda em 1707 cm^{-1} (C=O) pode ser característica de cetonas e aldeídos.

A banda em 1743 cm^{-1} presente em todos os espectros a qual segundo KEMSLEY et al. (1995) e RUBAYIZA e MEURENS (2005) são atribuídas aos estiramentos da ligação C=O da carbonila de ésteres dos ácidos graxos linoleico e palmítico, que são os lipídeos majoritários presentes no café.

O espectro no infravermelho de todas as amostras revelou absorções em 2919 e 2850 cm^{-1} de grande intensidade que correspondem aos estiramentos simétricos e assimétricos da ligação C-H que são comuns em várias classes de compostos alifáticos como ácidos e ésteres graxos, alcoóis de cadeia longa e esteróides, foram detectadas bandas de grande intensidade em torno de 1645 - 1655 cm^{-1} referentes ao estiramento da ligação C=C de compostos aromáticos.

A banda em 1448 - 1454 cm^{-1} foi encontrada em todos os extratos a ela são atribuídas as deformações de ligações H-C sp^3 , em 1379 - 1381 , 1155 - 1157 , 1061 e 1034 cm^{-1} (ausente na amostra A), de acordo com KEMSLEY et al. (1995) se localizam na região característica de carboidratos devido aos estiramentos da ligação C-O.

Próximo a 1260 foi encontrada a banda correspondente à deformação axial assimétrica de C-O-C, o que indica a presença de éteres e ésteres, a banda de absorção em 814 cm^{-1} corresponde à deformação angular fora do plano de C-H de derivados aromáticos, a deformação do grupo N-H é responsável por uma banda de larga intensidade média entre 700 - 500 cm^{-1} está presente em todas as amostras.

Na Figura 40 estão os gráficos referentes aos componentes solúveis do café das amostras de café A, B, C, D e Padrão, é possível observar que não

houveram diferenças significativas relacionadas aos grupos funcionais presentes nas mesmas.

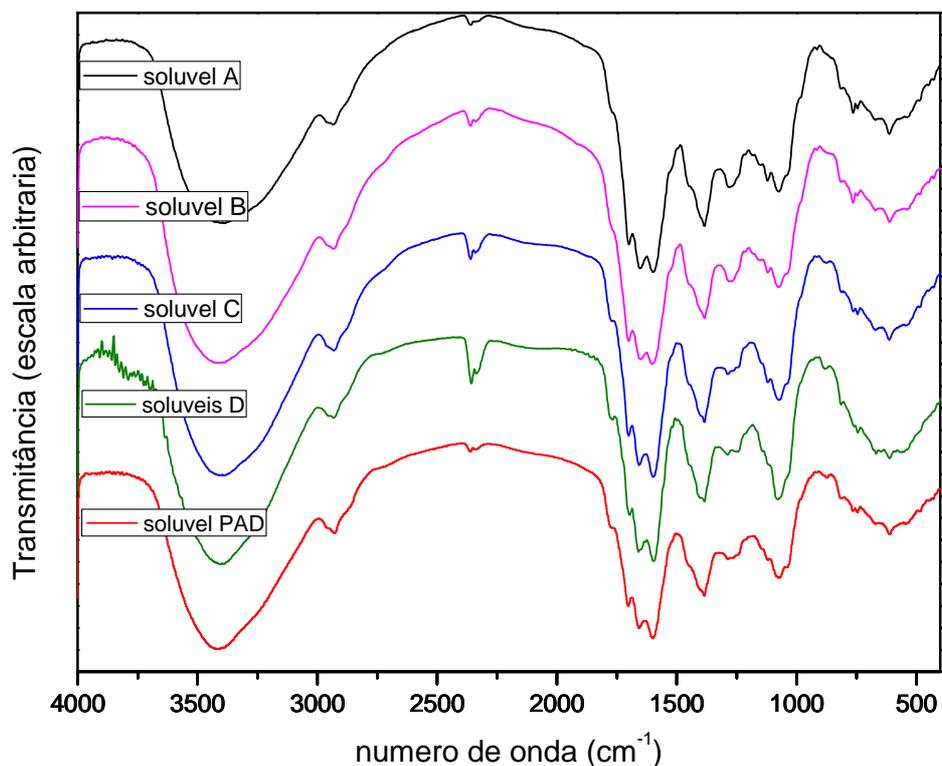


Figura 40. Espectros de infravermelho da parte solúvel das amostras de café A, B, C, D e Padrão.

A Tabela 13 apresenta as atribuições encontradas, comparando os espectros no infravermelho das amostras de pó com os espectros da parte solúvel observam-se algumas diferenças, os espectros da parte solúvel revelaram absorções na região de 2928 cm⁻¹ de pequena intensidade, estas ligações são comuns em várias classes de compostos alifáticos como ácidos e ésteres graxos, alcoóis de cadeia longa e esteróides.

Tabela 13. Atribuição das bandas de absorção no infravermelho para a parte solúvel das amostras dos cafés A, B, C, D e padrão

Bandas cm^{-1}:					Atribuições:
Amostra:					
A	B	C	D	PAD	
3389	3408	3389	3404	3416	Estiramento da ligação O-H
2930	2928	2928	2930	2926	Estiramento assimétrico C-H alifático
1699	1701	1703	1695	1703	Deformação axial da ligação C=O
1655	1653	1659	1657	1659	Estiramento da ligação C=C de compostos aromáticos
1599	1603	1599	1597	1599	Estiramento da ligação C=C de compostos aromáticos
1383	1385	1385	1385	1385	Deformação angular simétrica das ligações C-H de grupamento metila
1286	1282	1288	1288	1286	Deformação axial assimétrica de C-O-C
1122	1122	1119	-	1119	Deformação axial de CO
1076	1076	1072	1078	1072	Estiramento da ligação C-O
763	763	-	-	764	Estiramento da ligação C-H.
613	613	613	609	609	Deformação angular fora do plano de N-H ou de C-H aromático.

Foram encontradas bandas em 1703 cm^{-1} (C=O), em 1659 e em 1599 cm^{-1} (estiramento da ligação C=C de compostos aromáticos) em 1119 - 1122 , 1072 - 1076 (estiramentos da ligação C-O), a presença praticamente das mesmas bandas nos espectros das amostras sólidas e das frações solúveis indica que a matriz macromolecular de ambos são muito semelhantes e apresentam substâncias

polifenólicas, ésteres, compostos nitrogenados, entre outros compostos em comum.

A análise espectrométrica no infravermelho da amostra sólida e da fração solúvel forneceu espectros praticamente idênticos e em princípio nenhuma das amostras comerciais analisadas apresentou impurezas que possam ser identificadas por IVTF.

4.6. RMN de ^1H

A técnica de RMN tem sido usada na análise de cafés para identificação de substâncias isoladas ou que constituem um pequeno grupo de substâncias em uma fração extraída do café, a atribuição dos deslocamentos químicos de hidrogênio para os constituintes majoritários presentes no café torrado estão apresentadas na Tabela 14 e foram atribuídos de acordo com os dados da literatura (TAVARES e FERREIRA, 2006), a Figura 41 apresenta as estruturas caracterizadas.

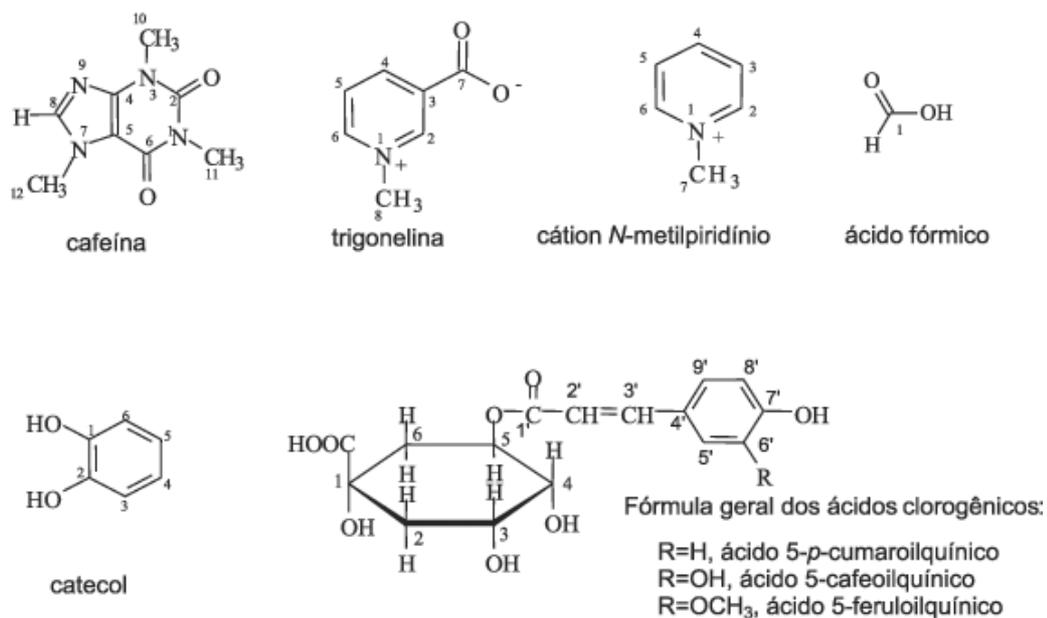


Figura 41. Estruturas dos compostos caracterizados por RMN de ^1H (TAVARES e FERREIRA, 2006).

Tabela 14. Deslocamentos químicos δ (ppm) de RMN de ^1H para os compostos identificados na bebida de café

Substâncias Identificadas									
n°.	Cafeína	Trigonelina	N-Metil piridina	Catecol	Ácido Quínico	Ácido Cafeico	Ácido Ferúlico	Ácido Clorogênico	Ácido Fórmico
H1	-	-	-	-	-	-	-	-	8,52
H2	-	9,18 s	8,83 dl	-	1,90-2,16 m	7,17-7,21 md	7,17-7,21 m	1,90-2,16 m	-
H3	-	-	8,12 ddl	6,96 d	4,09	-	-	4,09	-
H4	-	8,88 d/	8,60 tl	6,97 d	3,62	-	-	3,62	-
H5	-	8,15 dd	8,12 ddl	6,97 d	4,2	6,96 d	6,96 d	-	-
H6	-	8,91 dl	8,83 dl	6,96 d	1,90-2,16 m	7,09-7,16 m	7,09-7,16 m	1,90-2,16 m	-
H7	-	-	4,49 s	-	-	6,38-6,54 d	6,38-6,54 d	-	-
H8	7,89	4,49 s	-	-	-	7,59-7,73 d	7,59-7,73 d	-	-
H10	3,48	-	-	-	-	-	-	-	-
H11	3,3	-	-	-	-	-	-	-	-
H12	3,91	-	-	-	-	-	-	-	-
H2'	-	-	-	-	-	-	-	7,59-7,73 d	-
H3'	-	-	-	-	-	-	-	6,38-6,54 d	-
H5'	-	-	-	-	-	-	-	7,17-7,21 d	-
H8'	-	-	-	-	-	-	-	6,96 d	-
H9'	-	-	-	-	-	-	-	7,09-7,16 m	-
OCH ₃	-	-	-	-	-	-	3,84	-	-

s – singleto, d – dubleto, dl – dubletolargo, ddl – duplo dubleto largo, tl – tripleto largo e m – multipleto.

A Figura 42 mostra os espectros de RMN de ^1H da fração solúvel dos cafés comerciais (A, B, e C) e o do padrão, os espectros não apresentaram muitas diferenças, em todos foram observados sinais referentes ao ácido quínico, cafeína, ácidos clorogênicos, ácido fórmico, trigonelina, que é uma substância importante pelos produtos de sua degradação, pirróis e niacina.

Na região de 6,4 a 9,2 ppm, foram constatados sinais pouco intensos para todos os cafés, todas as amostras apresentaram o sinal em 8,45 ppm que é correspondente ao ácido fórmico, de acordo com a literatura este sinal está relacionado à degradação oxidativa dos ácidos clorogênicos (BOSCO et al., 1999; MAZZAFERA, 1991; TAVARES 2007).

Segundo Tavares (2007), os produtos oriundos da degradação dos ácidos clorogênicos, como o ácido fórmico, estão mais intensos nos cafés com maiores teores de grão pretos, verdes e ardidos. Foram também observados em todas as amostras os sinais referentes a ácidos clorogênicos, de 6,3 a 7,8 ppm, pode-se observar na amostra A um sinal bastante intenso na região 0,9 a 1,2 ppm, característico de sinais de prótons de grupos CH_3 e CH_2 altamente blindado, o teor mais elevado de hidrogênio verificado na análise elementar confirma o sinal destes prótons. Estes sinais são indícios de uma possível adulteração desta amostra com constituintes solúveis ricos em carbonos alifáticos ou oriundos da degradação de carboidratos, uma possível contaminação pode ser originada pelo emprego de cascas de café, milho e outros contaminantes que são torrados junto com o café e que são ricos em carboidratos.

Observa-se em todas as amostras de cafés uma predominância dos ácidos cafeoilquínicos que pode ser evidenciado pela presença do ácido quínico

identificado pelo sinal por volta de 2,0 ppm, este sinal aparece com maior intensidade na amostra padrão, indicando que esta é a mais rica em ácido cafeoilquínico e em ácidos clorogênicos.

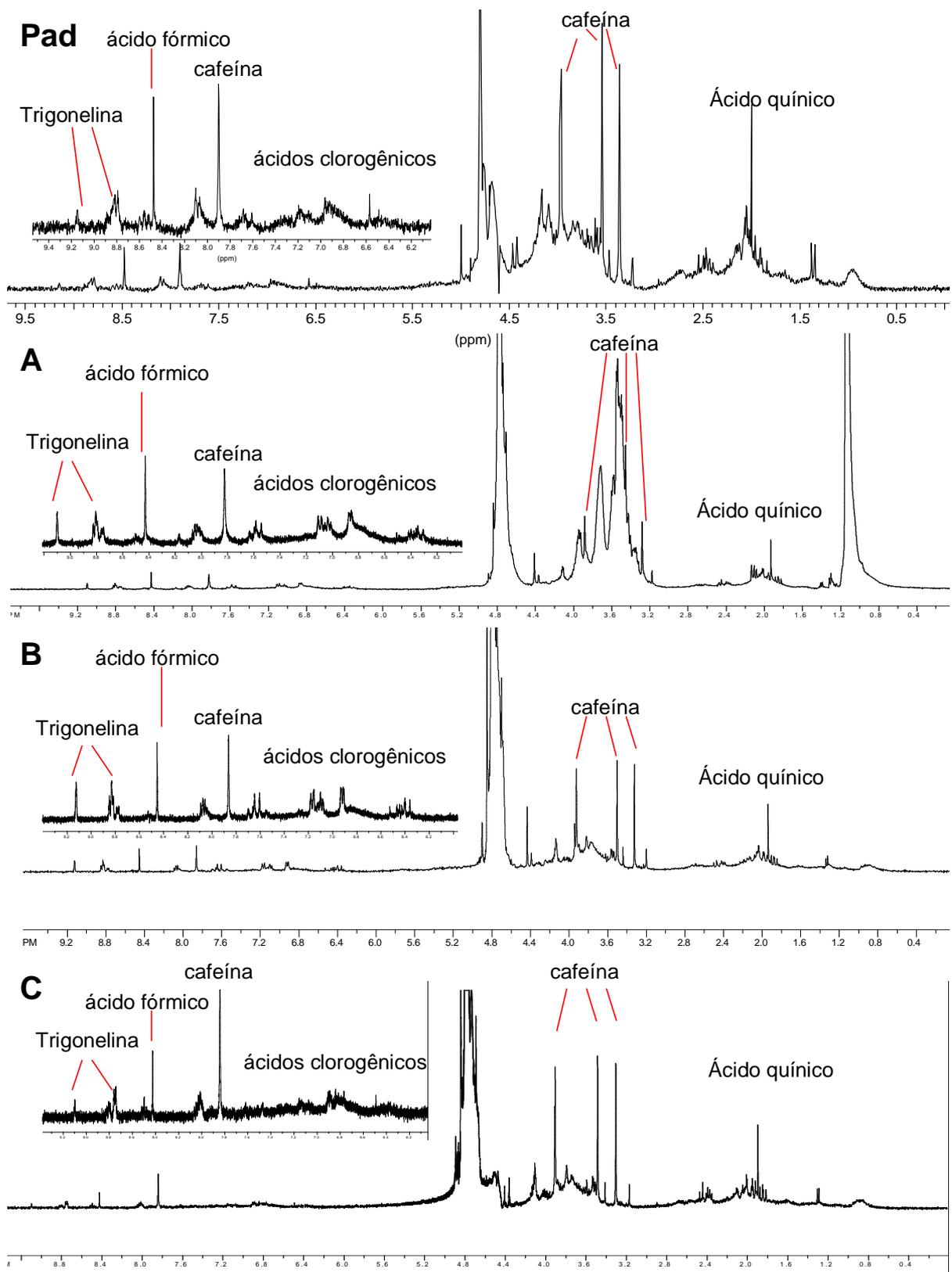


Figura 42. Espectro de RMN de ¹H obtido diretamente da bebida de café.

4.7. RMN de ^{13}C no Estado Sólido

As amostras do pó de café também foram caracterizadas por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono (RMN de ^{13}C) no estado sólido, essa técnica tem sido aplicada para se obter informações sobre a dinâmica molecular e estrutura de materiais complexos, como a madeira, que pode ser considerada como polímero que é constituído basicamente por celulose, hemicelulose, lignina e outros compostos de menor proporção.

A RMN de ^{13}C no estado sólido pode fornecer informações diversas sobre o material tanto da natureza estrutural como o arranjo molecular dos constituintes (NOGUEIRA et al., 2004); ela tem sido utilizada para caracterização de frutas em especial na identificação de diferentes espécies (TAVARES et al., 2006).

A principal vantagem da técnica é ser de fácil preparo, pois permite uma medição direta das amostras sem a necessidade de solvente, não sendo destrutiva para as amostras, os espectros obtidos são mostrados na Figura 43.

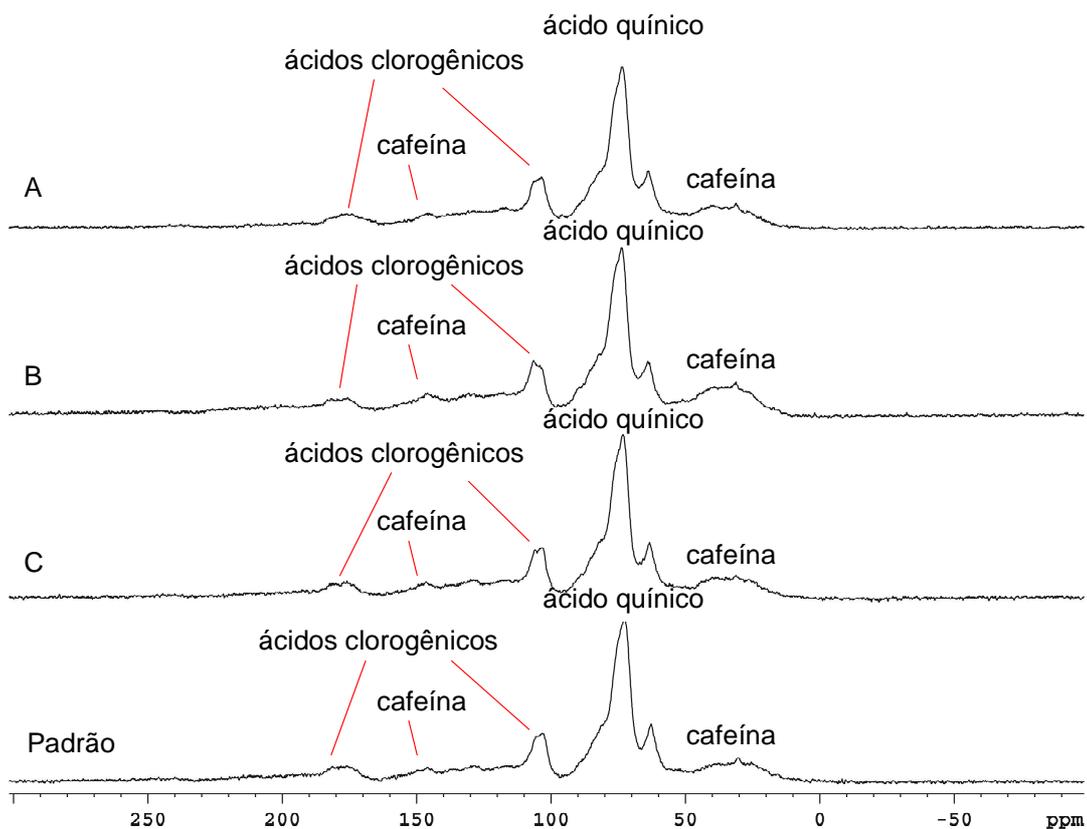


Figura 43. Espectro de RMN de ^{13}C obtido diretamente do pó de café.

Observa-se na Figura 43 que os espectros foram similares para as amostras e o padrão, em todos foi possível observar a presença de sinais característicos da cafeína, ácidos clorogênicos e ácido quínico, esses deslocamentos químicos foram atribuídos com base nos dados da literatura. Segundo Tavares e Ferreira (2006) e Pereira et al. (2002) os sinais em 27,8; 29,6; 33,5; 141,3; 148,6; 151,6 ppm são atribuídos à presença da cafeína.

Segundo Naidu et al.(2008) e Tavares e Ferreira (2006) sinais na região de 176,99; 168,39; 170,0 126,66; 122,43; 115,93; 114,88; 114,16; ppm referem-se

aos ácidos clorogênicos, ainda segundo Tavares e Ferreira (2006) sinais na região de 76,5; 76,0; 71,1; 69,3 ppm referem-se ao ácido quínico.

A falta do sinal na amostra A referente a prótons com alta blindagem sugere que aqueles constituintes são muito solúveis e que sua concentração de Carbono (^{13}C) não é suficiente para apresentar um sinal característico.

5. Conclusão

Nenhuma das marcas comerciais analisadas apresentou um perfil que possibilitasse caracterização ou diferenciação das demais, entretanto a análise por CG/EM mostrou que os compostos voláteis apresentam grande diferenciação, porém nada que confirmasse adulteração.

O Padrão e as amostras apresentaram características diferenciadas como seu aspecto, apesar da única amostra de torra forte ser a amostra D e as outras amostras serem especificadas como torra média (marrom - tradicional), estas apresentaram coloração marrom escuro com tendência para a torra forte, o que indica que não existe uma padronização real da torra.

O fato das amostras serem constituídas por blendas feitas com café robusta e grãos PVA em porcentagens diferentes torna difícil a classificação dos cafés, além disso, inúmeros fatores influenciam no produto final, esses fatores vêm desde as condições climáticas nas quais os cafeeiros se desenvolveram até o tempo que o produto demorou a ser consumido, para informar melhor o consumidor sobre o café que está sendo adquirido seria mais recomendada uma análise por lote, assim as informações fornecidas se relacionariam melhor com o produto.

A amostra A apresentou adulteração com constituintes ricos em compostos alifáticos evidenciada por RMN de ^1H e a amostra D resultados que indicam um teor bem mais elevado de café robusta.

Todas as amostras comerciais apresentam uma composição de constituintes voláteis inferiores aos do padrão, as amostras C e D foram as mais afetadas, provavelmente devido a sua torra ser mais escura.

A amostra D apesar cheiro pouco característico e sabor menos agradável possui uma capacidade de abstrair radicais livres superiores às outras e se levarmos em consideração apenas esta característica seria a marca mais indicada como antioxidante e mais benéfica para a saúde nesse aspecto.

6. Referências

ABIC (a) - **A história do café - origem e trajetória**. Disponível em: <http://www.abic.com.br/scafe_historia.html>. Acesso em: jan. 2010.

ABIC (b) – **café e saúde**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br/cafeesaude.html>>. Acesso em: Dez. 2009.

ADAMS, NA; BORRELLI, R. C.; FOGLIANO, V.; DE KIMPE, N. Thermal degradation studies of food melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4136-4142, 2005.

AGTRON, 1997. <http://www.agtron.net/pdf/Mbas2om.pdf>. Acesso em: Ago. 2009

AKIYAMA, M.; MURAKAMI, K.; IKEDA, M.; IWATSUKI, K.; KOKUBO, S.; WADA, A.; TOKUNO, K.; ONISHI, M.; IWABUCHI, H.; TANAKA, K. Characterization of flavor compounds released during grinding of roasted Robusta coffee beans. **Food Science and Technology Research**, v.11, n.3, p. 298-307, 2005.

ALMEIDA, A. A. P. **Atividade antimicrobiana de extratos e de compostos fenólicos e nitrogenados do café: avaliação *in vitro* e em modelo alimentar**. 2007. 137 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official and tentative methods of analysis**. 6. ed. Washington, DC, 1945.

ARGYROPOULOS, D. S. *Advances in lignocellulosics characterization*. Atlanta: TAPPI Press, p.157-180, 1999.

AZUMA, K.; IPPOUSHI, K.; NAKAYAMA, M.; ITO, H.; HIGASHIO, H.; TERAQ, J. Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after total administration. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5496-5500, 2000.

BRASIL. Portaria n377, de 26 de abril de 1999. Estabelece normas para fixar a identidade e as características mínimas de qualidade do café torrado em grão e café torrado e moído. **Diário Oficial**, [Republica Federativa do Brasil], Brasília. 29 abr. 1999, seção 1, n 80-E.

BRITT, P. F.; BUCHANAN, A. C.; THOMAS, K. B.; LEE, S. K. Pyrolysis mechanisms of lignin: Surface-immobilized model compound investigation of acid-catalyzed and free radical reaction pathways. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 33, n. 4, p. 1–19, 1995.

BORRELLI, R. C.; VISCONTI, A.; MENNELLA, C.; ANESE, M.; FOGLIANO, V. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 22 p. 6527-6533, 2002.

BOSCO, M.; TOFFANIN, R.; de PALO, D; ZATTI, L. e SEGRE, A. High-resolution ¹H NMR investigation of coffee. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v. 79, n. 6, p. 869-878, 1999.

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIEER M. E.; BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRENELLI, E. C. S. Extração de cafeína em bebidas estimulantes: uma nova abordagem para um experimento clássico em química orgânica. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 136-138, 2003.

BONITA, J. S; MANDARANO, M.; SHUTA, D.; VINSON, Coffeea and cardiovascular disease: in vitro, cellular, animal, and human studies. *European. Jornal of Pharmaceutical Research*, v. 55, n. 3, p. 187-198, 2007.

CARRERA, F.; LEÓN-CAMACHO, M,; PABLOS, F e GONZÁLEZ, A. G. Authentication of green coffee varieties according to their sterolic profile. **Analytica Chimica Acta**, v. 370, n. 2, p.131-139, 1998.

CARVALHO, V. D e CHALFOUN, S. M. “Aspectos qualitativos do café”. **Informe Agropecuário**, v. 11, n. 126, p. 79-92, 1985.

CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. R e CHALFOUN, S. M. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 187, p. 15-20, 1997.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee: Chemistry**. Elsevier Applied Science Publishers LTD: London, 1985.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. Coffee chemistry, v. 1, London: Elsevier Applied Science, 1989, p. 153-202.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates: Nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 3, p. 362–372, 1999.

CNCAFE (CONSELHO NACIONAL DO CAFÉ). Disponível em:<<http://www.cncafe.com.br/conteudo.asp?id=13>>. Acesso em: nov. 2010.

DAGLIA M.; CUZZONI M. T.; DACARRO, C. Antibacterial activity of coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 10, p. 2270-2272, 1994.

DAGLIA, M.; PAPETTI, A.; GREGOTTI, C.; BERTE, F.; GAZZANI, G. *In vitro* antioxidant and *ex vivo* protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 5, p. 1449-1454, 2000.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKY, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DEL CARLO, M.; SACCHETTI, G.; DI MATTIA, C.; COMPAGNONE, D.; MATROCOLA, D.; LIBERATORE, L.; CICHELLI, A. Contribution of the phenolic fraction to the antioxidant activity and oxidative stability of olive oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4072-4079, 2004.

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

DEVASAGAYAM, T. P.; KAMAT, J. P.; MOHAN, H.; KESAVAN, P. C. Caffeine as an antioxidant: inhibition of lipid peroxidation induced by reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 13, n. 1, p. 63-70, 1996.

DUARTE, S. M. S. et al, Efeito do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante da bebida de café. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, 2005.

FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; MENDONÇA, J. C. F e SILVA, X. A. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, v.90, n. 1, p. 89-94, 2005.

FULCRAND, H.; BENABDELJALIL, C.; RIGAUD, J.; CHEYNIER, V.; MOUNTOUNET, M. A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 47, n. 7, p. 1401–1407, 1998.

GEORGE, K. C.; HEBBAR, S. A.; KALE, S. P. KESAVAN, P. C. Caffeine protects mice against whole-body lethal dose of γ -irradiation. **Journal of Radiology Protection**, v. 19, n. 2, p. 171-176, 1999.

HAGERMAN, A. E., ZHAO, Y., JOHNSON, S. Em: SHAHADI, F. Methods for determination of condensed and hydrolysable tannins. *AcsSymSer*, v. 662, p. 209-222, 1997.

HALLIWELL, B. Oxidative stress in cell culture: An under-appreciated problem? *FEBS Letters*, v. 540, n. 1-3, p. 3–6, 2003.

IBRAHIM, S. A.; SALAMEH, M. M.; PHETSOMPHOU, S.; YANG, H.; SEO, C. W. Application of caffeine, 1,3,7-trimethylxanthine to control *Escherichia coli* O157:H7. **Food Chemistry**, v. 99, n. 4, p. 645-650, 2006.

IWAI, K.; KISHIMOTO, N.; KAKINO, Y.; MOCHIDA, K.; FUJITA, T. In vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activities of seven hydroxyl cinnamoyl derivatives in green coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, n. 15, p. 4893-4898, 2004.

- KANNER, J.; LAPIDOT, T. The stomach as a bioreactor: Dietary lipid peroxidation in the gastric fluid and the effects of plant-derived antioxidants. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n. 11, p.1388–1395, 2001.
- KEMSLEY, E. K.; RUAULT, S e WILSON, R. H. Discrimination between *Coffea Arabica* and *Coffea canephora* variant Robusta beans using infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 54, n. 3, p.321-326, 1995.
- KOBAYASHI, S.; HIGASHIMURA, H. Oxidative polymerization of phenol revisited. **Progress in Polymer Science**, v. 28, n.6, p.1015–1058, 2003.
- LICCIARDI, R.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDONÇA, L. M. V. L.; FURTADO, E. F. Avaliação físico-química de cafés torrados e moídos, de diferentes marcas comerciais, da região sul de mina gerais. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 425-429, 2005.
- MACRAE, R. Nitrogenous components. In: CLARKE, R., T.; MACRAE, R. **Coffee chemistry**, London, Elsevier Applied Science, 1989, p. 1-41.
- MAESO, N.; DEL CASTILLO, C.; CORNEJO, L.; GARCIA-ACICOLLAR, M.; ALGUACIL, L. F.; BARBAS, C.J. Capillary electrophoresis for caffeine and pyroglutamate determination in coffees study of the in vivo effect on learning and locomotor activity in mice. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 41, n. 4, p. 1095 -1100, 2006.
- MARTINS, M. C. M.; SILVA, C. O.; BUCKERIDGE, M.; VIEIRA, C. C. J. Carboidratos na bebida do café preparado sob diferentes processos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p.382-386, 2005.
- MATTILA, P.; KUMPULAINEN, J. Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3660-3667, 2002.
- MAZZAFERA, P. Trigonelline in coffee. **Phytochemistry**, v. 30, n. 7, p. 2309-2310, 1991.

MAZZAFERA, P.; ROBINSON, S. P. Characterization of polyphenol oxidase in coffee. **Phytochemistry**, v. 55, n. 4, p.285-296, 2000.

MENDONÇA, J. C. F.; FRANÇA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; CORRÊA, P. C. Estudo Preliminar de Caracterização Física e Química de Grãos Defeituosos de Café (PVA) antes e após a Torra. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.7, n. 7, p.44-49, 2003.

MENEZES, H. C. **Variação dos mono isômeros e diisômeros do ácido cafeoil quínico com maturação de café**. 1994. 171 f. Tese (Doutorado). Universidade de campinas, 1994.

MESKIN, M. S.; BIDLACK, W. R.; DAVIES, A. J.; LEWIS, D. S.; RANDOLPH, R. K. **Phytochemicals: Mechanisms of Action**. Boca Raton, Florida: CRC Press. 2004.

MONTEIRO, M. C.; TRUGO, L. C. Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 637-641, 2005.

MORAIS, S., A., L.; AQUINO, F., J., T., CHANG, R.; NASCIMENTO, E., A.; OLIVEIRA, G., S.; SANTOS, N., C. Análise química de café arábica (*Coffea arabica* L.) e grãos pretos, verdes e ardidos (PVA) submetidos a diferentes graus de torração. **Coffee Science**. 2, n. 2, p. 97-111, 2007.

MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, E. A.; OLIVEIRA, G. S.; CHANG, R.; SANTOS, N. C.; ROSA, G.M. Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 28, p. 198-207, 2008.

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; DE MARIA, C. A. B. Componentes voláteis do café torrado. Parte II: componentes alifáticos, alicíclicos e aromáticos. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 195-203, 2000.

MORGANO, M. A.; PAULUCI, L. F.; MANTOVANI, D. M. B.; MORY, E. E. M. Determinação de minerais em café cru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 19-23, 2002.

NAIDU, M. M.; SULOCHANAMMA, G.; SAMPATHU, S. R.; SRINIVAS, P. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 377–384, 2008.

NASCIMENTO, P. M. **Café Conilon, em diferentes graus de torrefação e análise comparativa com café arábica**. 2006. 103 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, 2006.

NATELLA, F.; NARDINI, M.; GIANNETTI, I.; DATTILO, C.; SCACCINI, C. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n. 21, p. 6211-6216, 2002.

NEBESNY, E.; BUDRYN, G. Antioxidative activity of green and roasted coffee beans as influenced by convection and microwave roasting methods and content of certain compounds. **European Food Research and Technology**, v. 217, n. 2, p. 157-163, 2003.

NICOLI, M. C.; ANESE, M.; MANZOCCO, L.; LERICI, C. R. Antioxidant properties of coffee brews in relation to roasting degree. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 30, n. 6, p. 292–297, 1997.

NICOLI, M. C.; CALLIGARIS, S.; MANZOCCO, L. Effect of enzymatic and chemical oxidation on the antioxidant capacity of catechin model systems and apple derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 10, p. 4576-4580, 2000.

PEREIRA, C. E.; PINHO, E. V. R. V.; OLIVEIRA, D. F.; KIKUTI, A. L. P. Determinação de inibidores da germinação no espermoderma de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 306-311, 2002.

PERRONE, D.; FARAH, A.; DONANGELO, C. M.; PAULIS, T.; MARTIN, P. R. Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 859-867, 2008.

PROESTOS, C.; CHORIANOPOULOS, N.; NYCHAS, G-J; KOMAITIS, M. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 1190-1195, 2005.

RABELLO, G. D.; FORTE, L. V.; GALVÃO, A. C. R. Avaliação da eficiência da combinação paracetamol e cafeína no tratamento da cefaleia tipo tensão. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 58, n. 4, p. 90-98, 2000.

RUBAYIZA, A. B e MEURENS, M Chemical discrimination of arabica and Robusta coffees by Fourier transform Raman spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 12, p.4654-4659, 2005.

SAES, M. S. M.; FARINA, E. M. M. Q. **O Agrobusiness do Café no Brasil**. São Paulo: Editora Milkbizz, 230 p., 1999.

SALDAÑA, M, D. A.; MAZZAFERA, P.; MOHAMED, R. S. Extração dos alcalóides: cafeína e trigonelina dos grãos de café com CO₂ supercrítico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 4, p. 371-376, 1997.

SANTOS, M. D.; ALMEIDA, M. C.; LOPES, N. P.; SOUZA, G. E. P. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 11, p. 2236-2240, 2006.

SANTOS, M. H.; BATISTA, B. L.; DUARTE, S. M. S.; ABREU, C. M. P.; GOUVÊA, C. M. C. P. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.

SÃO PAULO. Resolução SAA 37, de 9 de novembro de 2001. Define norma técnica para fixação de identidade e qualidade de café torrado em grão e café torrado e moído. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 111, n. 214, 13 nov. 2001.

SCHENKER, S.; HEINEMANN, C.; HUBER, M.; POMPIZZI, R.; PERREN, R.; ESCHER, F. Impact of roasting conditions on the formation of aroma compounds in coffee beans. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1, p. 60-66, 2002.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5ª ed. 821 p. Florianópolis : editora UFSC, 2003.

SMITH, A.W. Introduction. In: CIARKE, R., T.; MACRAE, R. **Coffee chemistry**, London, Elsevier Applied Science, p. 115-152, 1989.

SINGH, N.; MADHAVA, N. M. Effect of roasting on antioxidant activity of coffee. **Proceedings of Placrosym XV**, p. 682–689, 2002.

SIQUEIRA, H. H.; ABREU, C. M. P. Composição físico-química e qualidade do café submetido a dois tipos de torração e com diferentes formas de processamento. **Ciência Agrotécnica**, v. 30, n. 1, p. 112-117, 2006.

SOARES, A. R.; MANTOVANI, E. C.; RENA, A. B.; SOARES A. A. Irrigação e fisiologia da floração em cafeeiros adultos na região da zona da mata de Minas Gerais. **Acta Scientia and Agronomy**, v. 27, n. 1, p. 117-125, 2005.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOBRATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T. Phenolic as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, v. 579, n. 1, p. 200-213, 2005).

STADLER, R. H. The use of chemical markers and model studies to assess the in vitro pro- and antioxidative properties of methylxanthine-rich beverages. **Food Reviews International**, v. 17, n. 4, p. 385–418, 2001.

SWEET MARIA'S, 2008 – Home Coffee Roasting Supplies. Disponível em: <<http://www.sweetmarias.com>>. Acesso em: jan. 2010.

TAVARES, L. A.; FERREIRA, A. G. Análise quali e quantitativa de cafés comerciais via ressonância magnética nuclear. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 911-915, 2006.

TAVARES, L. A. **Utilização de Métodos Quimiométricos Aliados a RMN na Caracterização dos Diferentes Tipos de Cafés Comerciais**. 2007. 169 f. Tese (doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, 2007.

TOCI, A.; FARAH, A.; TRUGO, L. C. Efeito do processo de descafeinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés arábica e Robusta antes e após a torração. *Química Nova*, v. 29, n. 5, p. 965-971, 2006.

TOLEDO, J. L. B.; BARBOSA, A. T. **Classificação e degustação de café**. Brasília: Sebrae, Associação Brasileira da Indústria do Café, p.95, 1998.

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. A Study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. **Food Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 219-227, 1984.