



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

THIAGO DA SILVA DIAS

**CARACTERIZAÇÃO E CORRELAÇÃO DOS  
MONOSSACARÍDEOS DO CAFÉ TORRADO E MOÍDO PARA  
DETERMINAÇÃO DE FRAUDE**

THIAGO DA SILVA DIAS

**CARACTERIZAÇÃO E CORRELAÇÃO DOS  
MONOSSACARÍDEOS DO CAFÉ TORRADO E MOÍDO PARA  
DETERMINAÇÃO DE FRAUDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Profa. Dra. Suzana Lucy Nixdorf

Londrina

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Dias, Thiago.

CARACTERIZAÇÃO E CORRELAÇÃO DOS MONOSSACARÍDEOS DO CAFÉ TORRADO E MOÍDO PARA DETERMINAÇÃO DE FRAUDE / Thiago Dias. - Londrina, 2024.  
43 f. : il.

Orientador: Suzana Nixdorf.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.  
Inclui bibliografia.

1. Cromatografia - Tese. 2. Adulteração - Tese. 3. Café - Tese. 4. Impurezas - Tese. I. Nixdorf, Suzana. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

THIAGO DA SILVA DIAS

**CARACTERIZAÇÃO E CORRELAÇÃO DOS  
MONOSSACARÍDEOS DO CAFÉ TORRADO E MOÍDO PARA  
DETERMINAÇÃO DE FRAUDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

**BANCA EXAMINDORA**

---

Profa. Dra. Suzana Lucy Nixdorf  
UEL – QUI - Londrina - PR

---

Profa. Dra. Maria Luiza Zeraik  
UEL – QUI Londrina - PR

---

Prof. Dr. Evandro Bona  
UTFPR – Engenharia e tecnologia em alimentos –  
Campo Mourão - PR

Londrina, 20 de junho de 2024.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por estar sempre me protegendo e guiando ao melhor caminho.

A minha amiga e orientadora Professora Dra. Suzana Lucy Nixdorf, pois está sempre fazendo o possível e impossível pelo seus alunos, mostrando o caminho a ser seguido, passando seu conhecimento a diante, e mesmo frente as diversidades que a vida nos coloca, segue se preocupando com todos nós.

A todos os atuais e anteriores integrantes do laboratório de desenvolvimento instrumentação automação e metodologia analítica (DIA), que de alguma forma ajudaram neste trabalho, em especial ao Fabrício, Rafael, Beatriz e Maria, pelo companherismo durante esses anos.

Ao Dr. Ednaldo José Ferreira da Embrapa Instrumentação de São Carlos, pelo auxílio com o tratamento dos dados, pela sua atenção e pelos conhecimentos transmitidos, não medindo esforços para nos auxiliar.

A Universidade Estadual de Londrina (UEL), em especial a todos os professores do corpo docente da pós graduação em química pelos conhecimentos adquiridos, espaço e oportunidades.

Agradeço a todos os membros e amigos dos laboratórios multiusuários, que nestes anos estiveram ao meu lado em especial agradecer ao Laboratório de Apoio a Pesquisa Agropecuária (LAPA) da Central Multiusuário, pelo equipamento e espaço cedido para a pesquisa.

A CAPES, CNPq e ao Consórcio do Café pelos recursos financeiros e bolsa concedida para desenvolvimento deste trabalho.

Ao Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) em especial ao Superintendente Elton Massarollo, Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR) e ao Projeto do

CONCAFÉ, pelas amostras cedidas, equipamentos utilizados, recursos e custeio.

Aos membros da banca professora Dra. Maria Luiza Zeraik e professor Dr. Evandro Bona, por terem aceito o convite, disponibilizando seu tempo para avaliar e somar ao trabalho.

Aos meus pais, Cida e Toninho, por todo amor, carinho e incentivo, a continuar os estudos, acreditando que o conhecimento pode mudar a vida.

Aos meus irmãos, cunhados, padrinhos e todos demais familiares, pelo amor, carinho e incentivo na minha trajetória acadêmica.

A minha namorada Julia, por todo o amor e carinho, por estar ao meu lado nestes últimos meses, sempre compreensiva quando necessário, entendendo que este trabalho demandou tempo, foco e energia.

A todos os meus amigos, que durante todos os anos estiveram ao meu lado, em especial as amizades feitas na Universidade, que estiveram sempre compartilhando conhecimento e mantendo o ambiente mais saudável.

De maneira geral, agradeço a todos que fizeram parte deste trabalho, dedicando seu tempo para que ele fosse possível, e aos que ajudaram indiretamente mantendo-me motivado tornando possível toda a dedicação.

DIAS, Thiago da Silva. **Caracterização e correlação dos monossacarídeos do café torrado e moído para determinação de fraude.** 2024. 35f. Dissertação (Programa de Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

## RESUMO

O café é um produto de grande interesse e valor comercial. O Brasil, como maior exportador e grande consumidor, desempenha um papel importante em seu consumo e apresso mundial. A qualidade do café é convencionalmente determinada pela prova de xícara, uma análise sensorial que requer treinamento e capacitação para determinar o valor agregado da bebida, utilizando-se de muitos parâmetros subjetivos, como aroma, sabor, cor, corpo, dentre outros. Para a determinação de fraude pela adição de produtos de outra origem que não o cafeeiro emprega-se a técnica microscópica. No entanto, esta técnica não é representativa e quantitativa, considerando a baixa quantidade de amostra utilizada e a pequena área observada. Com o intuito de melhorar a técnica a ser utilizada para determinação de adulteração em café, e contribuir para o controle de qualidade previsto pela portaria da secretaria de defesa agrícola (SDA), de 09 de maio de 2022, este trabalho propõe uma metodologia baseada na caracterização dos principais monossacarídeos presentes no café e em seus respectivos adulterantes. Por meio da concentração dos carboidratos fornecidos pela técnica de cromatografia de troca iônica com detecção por pulso amperométrico pela análise de amostras puras de café, foi obtida uma razão (*ratio*) para determinação de fraude no café. Para a obtenção desta razão, foram utilizadas amostras de procedência controlada fornecidas pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA). Os valores obtidos por estas amostras puras foram utilizadas como padrão para estabelecimento de um limite entre amostra pura e a adulterada. Após a determinação do valor limite (0,125), foram utilizadas amostras adulteradas com controle de rastreabilidade, assim como amostras comerciais sem controle de origem, para testar a metodologia desenvolvida. Através da aplicação da metodologia, pode-se classificar amostras adulteradas com trigo, milho e cevada em até 3%, e amostras adulteradas com casca em até 10%, mostrando o potencial do método desenvolvido para auxiliar no controle da legislação vigente para o café torrado e moído.

**Palavras-chave:** cromatografia, *ratio*, glicose, adulteração, impurezas.

DIAS, Thiago da Silva. **Characterization and correlation of roasted and grounded coffee monosaccharides for fraud determination**. 2024. 35p. Chemistry Master Degree Dissertation - State University of Londrina, Londrina, 2024.

## ABSTRACT

Coffee is a product with significant commercial interest. Brazil, as a major exporter and consumer, plays an important role in the global market. The quality of coffee is usually determined by a cupping protocol, with a sensory analysis that requires trained and skilled person to assign the rate of the coffee. This method relies on many subjective parameters, such as taste, smell, body, color, and others. To detect the adulteration of coffee by addition of products from other origins, the coffee sector employs a microscopic technique. However, this technique does not seem representative and quantitative, considering the small quantity of sample used and the small area observed. This production was developed to improve the technique used to detect coffee fraud and contribute to the control process established by the Secretary of Agricultural Defense, in 9<sup>th</sup> of May, 2022. This dissertation proposes a methodology based on the characterization of the principal monosaccharides present in coffee and their respective adulterants, applying carbohydrate concentrations obtained by High-Performance Anion Exchange Chromatography with pulsed amperometry detection (HPAEC-PAD). Pure coffee samples were employed to obtain a ratio that determines whether the samples are pure or adulterated. To obtain the ratio, samples with origin control provided by the Ministry of Agriculture and Livestock were used. The values obtained from the pure samples were used as a standard to establish a limit between the pure and adulterated samples. After establishing the limit (0,125), this methodology ratio was applied to other samples with origin traceability and commercial samples of coffee purchased from grocery stores ifrom Paraná and São Paulo to test the effectiveness of the technique. Through the application of the methodology, the samples could be classified as adulterated with up to 3% of corn, wheat, and barley, and samples with 10% of bark were successfully classified, showing the potential of the method to help enforce current legislation on roasted and ground coffee.

**Keywords:** Chromatography, *ratio*, glucose, adulteration, impurities.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Cromatogramas obtidos referentes as análises de carboidratos do café arábica de Minas Gerais, canéfora de Rondônia, adulterantes (milho, trigoilho, cevada e açai) e as impurezas (casca e pau). .....27
- Figura 2** - Cromatogramas referentes a amostra de café BC-MG com a adição de açai, cevada, milho, e trigoilho, e amostra BC-RO com a adição de casca e pau, nos níveis de 1, 3, 5 e 10%. .....30
- Figura 3** - Gráfico de barras representando a quantidade média de manitol e xilose nos cafés puros de controle (bica corrida e referencial padrão), em relação a quantidade nas amostras consideradas adulteradas de acordo com o *ratio*. .....38

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Amostras recebidas do café cru e torrado e moído com defeitos bica corrida (BC), sem defeitos referencial padrão (RP), identificadas por estado, espécie e os adulterantes utilizados.....23
- Tabela 2** - Amostras recebidas com defeitos bica corrida (BC), sem defeitos referencial padrão (RP), identificadas por estado, espécie, respectivos adulterantes utilizados e níveis de adulteração.....24
- Tabela 3** - Massas pesadas dos respectivos monossacarídeos (manitol, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose) para preparo da solução estoque dos padrões. ....25
- Tabela 4** - Concentração em %(m/m) de manitol, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose obtida para as amostras de casca, milho, açaí, cevada, trigoilho, pau, e os cafés (BC-MG e BC-RO). ....29
- Tabela 5** - *Ratios* obtidos para as amostras BC-PR, BC-BA, BC-SP e BC-ES, com a adição de milho, trigoilho, cevada, casca, pau e açaí nos níveis de 3 e 10%.....36
- Tabela 6** - *Ratios* obtidos para 24 amostras de cafés comerciais adquiridas em supermercados nos estados do Paraná e São Paulo. ....37
- Tabela 7** - *Ratios* obtidos para as amostras de café comercial inicialmente com resultado negativo para adulteração, com a posterior adição de milho, trigoilho, cevada, casca, pau e açaí nos níveis de 1, 3, 5 e 10%.....39

## **LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

Bica Corrida (BC)

Diode-Array Detection (DAD)

High Performance Anion Exchange Chromatography (HPAEC)

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Instituto de Desenvolvimento Rural (IDR)

Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA)

Pulsed Amperometric Detector (PAD)

Referencial Padrão (RP)

Secretária de Defesa Agrícola (SDA)

Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal (SIPOV)

Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia (SBGG)

Superintendência Federal da Agricultura no Paraná (SFA-PR)

Universidade Estadual de Londrina (UEL)

# SUMÁRIO

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO .....</b>  | <b>13</b> |
| <b>2</b> | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>   | <b>15</b> |
| 2.1      | HISTÓRIA DO CAFÉ .....   | 15        |
| 2.2      | EFEITOS FISIOLÓGICOS .....   | 16        |
| 2.3      | A QUÍMICA DO AÇÚCAR NO CAFÉ .....  | 17        |
| 2.4      | CAFÉ: ESPÉCIES E CLASSIFICAÇÃO.....  | 18        |
| 2.5      | CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA E DETECTORES.....   | 19        |
| <b>3</b> | <b>OBJETIVO .....</b>  | <b>21</b> |
| 3.1      | OBJETIVO GERAL .....   | 21        |
| 3.2      | OBJETIVO ESPECÍFICO .....  | 21        |
| <b>4</b> | <b>METODOLOGIA .....</b>   | <b>22</b> |
| 4.1      | REAGENTES E PADRÕES .....  | 22        |
| 4.2      | AMOSTRAS E ADULTERANTES.....   | 22        |
| 4.3      | PREPARO DAS AMOSTRAS ADULTERADAS .....   | 23        |
| 4.4      | TEOR DE UMIDADE .....  | 24        |
| 4.5      | PROCESSO DE EXTRAÇÃO DOS CARBOIDRATOS TOTAIS .....   | 24        |
| 4.6      | PREPARO DA SOLUÇÃO PADRÃO.....   | 25        |
| 4.7      | CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DO SISTEMA DE TROCA IÔNICA .....   | 26        |
| 4.8      | TRATAMENTO DOS DADOS.....  | 26        |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>  | <b>27</b> |
| 5.1      | DETERMINAÇÃO DOS PERFIS CROMATOGRÁFICOS E CONCENTRAÇÃO DOS CARBOIDRATOS PRESENTES NAS AMOSTRAS PURAS ..... | 27        |
| 5.2      | PERFIS CROMATOGRÁFICOS DAS AMOSTRAS ADULTERADAS.....   | 29        |
| 5.3      | EQUAÇÃO UTILIZADA PARA PREDIÇÃO DE ADULTERAÇÃO .....   | 33        |
| 5.4      | AVALIAÇÃO DO <i>RATIO</i> OBTIDO PARA CLASSIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO .....                                   | 35        |
| 5.5      | APLICAÇÃO DO <i>RATIO</i> EM AMOSTRAS DE CAFÉ COMERCIAL PURAS .....  | 37        |
| 5.6      | APLICAÇÃO DO <i>RATIO</i> EM AMOSTRAS DE CAFÉ COMERCIAL ADULTERADAS.....                                   | 38        |
| <b>6</b> | <b>CONCLUSÃO .....</b>   | <b>40</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS.....</b>  | <b>41</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O café é a segunda *commodity* mais comercializada no mundo. O cultivo desta planta está presente na economia de mais de 80 países nos diversos continentes (Adepoju et al., 2017; Campos-Vega et al., 2015).

No Brasil com a chegada do café em 1718, sendo realizado o cultivo pelos monges franciscanos perto do atual Rio de Janeiro, houve um aumento exponencial da cafeicultura devido as favoráveis condições climáticas. A partir de 1852 o Brasil torna-se o maior produtor de café do mundo, com uma produção de aproximadamente 176 milhões de libras (37% de toda produção mundial), mantendo-se até os dias atuais em primeiro lugar (ABIC, 2023; Crawford, 1852).

A composição química do café pode variar de acordo com diversos fatores, dentre eles: o tipo de cultivo, a espécie, o tratamento pré e pós colheita, genética, e condições edafoclimáticas como altitude de plantío, temperatura e umidade. De maneira geral, são compostos por carboidratos solúveis e insolúveis, tais como monossacarídeos (manitol, arabinose, galactose, xilose, , , glicose, manose e frutose), oligossacarídeos, e polissacarídeos. No grupo dos polissacarídeos estão presentes três principais tipos: galactomananas, arabinogalactanas e celulose.

Durante o processo de torra dos grãos de café, a liberação de gás carbônico e água, aumenta a pressão interna do grão causando a ruptura da parede celular, tornando a extração destes polissacarídeos mais fácil. No entanto, em altas temperaturas ocorre a degradação dos mesmos, dando origem a monossacarídeos e outros compostos (Cangassu, 2017; De Azevedo Batista, 2023; Duran et al., 2017).

A cromatografia de alta eficiência com detector por amperometria pulsada (CLAE-DAP, em inglês *High Performance Liquid Chromatography with Pulsed Amperometric Detection* - HPAEC-PAD), é a principal técnica utilizada para determinação de carboidratos em café. Nesta técnica é utilizada uma solução alcalina como fase móvel, pois desta maneira, os grupos hidroxilas são transformados em ânions, e o carboidrato terá maior interação com a coluna polimérica. Devido a variação da posição da hidroxila nos carboidratos, estes compostos terão diferentes valores de pKa, e quanto maior este valor, maior o tempo de retenção. No detector de pulso amperométrico, é medida a corrente

gerada após a oxidação do carboidrato na superfície metálica do eletrodo de ouro, ao determinar esta corrente durante um intervalo de tempo, obtêm-se a carga gerada pelo carboidrato, que é diretamente proporcional a concentração (Islam et al., 2019; Rohrer, 2021).

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 HISTÓRIA DO CAFÉ

Ao decorrer da República Velha no Brasil, houve um desempenho fundamental do café no papel econômico, mantendo uma estreita relação com os processos de urbanização e industrialização ocorridos no país durante o século XIX. O governo brasileiro incentivou significativamente a imigração de estrangeiros, visando suprir a demanda por mão-de-obra livre e qualificada nas plantações de café. Com a abolição da escravatura em 1888, e na sequência a Proclamação da República, ocorreu um movimento intenso migratório, resultando na permanência da terra e com transição para o *status* de colono. A partir do século XX, com a ocorrência das grandes guerras, houve uma intensificação do fluxo migratório novamente, no entanto esse fluxo excedeu a capacidade do setor agrícola de absorver essa mão de obra. Esse fenômeno motivou a migração para áreas urbanas, contribuindo para o surgimento de metrópoles como São Paulo e Rio de Janeiro, impulsionadas pelo complexo cafeeiro e seu fluxo de produtos e mercadorias (Araujo Filho, 2017).

O processo de transformação do café, desde sua cultura até se tornar uma bebida apreciada, é extenso. Além de sua comercialização, o café, desde sua descoberta, tem servido como catalisador de relações internacionais, promovendo laços afetivos e inspirando obras literárias e musicais. A revolução industrial testemunhou uma mobilização significativa de trabalhadores, enquanto o café se consolidava como um importante produto econômico para o Brasil. Inicialmente consumido de maneira rudimentar, ingerido cru e associado a outros alimentos, o café passou por uma evolução histórica que teve início em Constantinopla. Desde seu consumo macerado e infundado como medicamento, chegou ao hábito atual de preparo. A prática de torra e moagem, disseminada pela Europa devido às relações comerciais, contribuiu para sua expansão global (ABIC, 2021).

Com a disseminação do café pelo mundo, tornou-se parte integrante da agricultura em diversos países. No entanto, devido às condições climáticas adversas nos países europeus durante o inverno, a cultura do café prosperou principalmente em regiões de clima tropical, encontrando solo fértil no Brasil a partir do século XVIII. Sua rápida difusão no país, impulsionada por condições climáticas propícias, resultou

em sua ascensão como pilar da economia brasileira, tornando-se a principal fonte de renda e identidade cultural durante a República conhecida como "Café com Leite" (ABIC, 2021; Victorino et al., 2012).

Atualmente, o café desempenha um papel de destaque na economia nacional, sendo um dos principais produtos de exportação e consumo, tanto no mercado interno quanto externo. O desenvolvimento da indústria baseada na cafeicultura teve amplo impacto social, industrial e cultural na população brasileira, com a produção de café abrangendo todo o território nacional (Sugai, 2004; ABIC, 2021).

## 2.2 EFEITOS FISIOLÓGICOS

O café traz grandes benefícios ao combate e prevenção de diferentes doenças em humanos. Parte delas apresentam um efeito acentuado devido a formação de radicais livres, no entanto a expressiva atividade antioxidante da bebida, mantém antagonismo com a progressão das patologias (Butt e Sultan, 2011). Devido a esta atividade antioxidante, o consumo moderado de café, mostra-se como benéfico para a prevenção das diferentes formas de câncer, pois os compostos presentes na bebida, podem atuar em várias etapas do tumor, como a iniciação, promoção e progressão. No entanto, ainda não há total compreensão quanto ao mecanismo da atividade anticarcinogênica, devido a vasta variedade de compostos presentes no café (Ismail et al., 2020; Pauwels e Volterrani, 2021).

Conforme destacado pela Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia (SBGG) em 2019, havia uma estimativa de que mais de 45 milhões de pessoas no mundo viviam com diferentes tipos de demências. Dentro desse espectro, a demência mais comum seria o Alzheimer, forma mais prevalente deste tipo de doença. No entanto, investigações apontaram que a cafeína, através do estímulo a redução da produção da proteína anormal beta-amiloide, atenua processos oxidativos no cérebro, mantendo as atividades cognitivas, e retardando o avanço da doença (ABIC, 2021; SBGG; 2019).

Outra doença que o consumo diário do café se mostra benéfico é a diabetes do tipo 2. Muitos estudos propõem a melhora do corpo em relação a resistência à insulina e ao controle de glicose no sangue, aspecto anteriormente atribuído a cafeína. No entanto, foram observados efeitos similares quando consumido o café descafeinado, portanto a causa destes efeitos passaram a ser voltados a atividade

dos ácidos clorogênicos, contudo, ainda há muita incerteza sobre o mecanismo por trás da atividade destes compostos (Kolb et al., 2021; Williamson, 2020).

A respeito de doenças provenientes de problemas cardíacos, diversos estudos realizados, demonstraram que o café quando consumido moderadamente apresenta diminuição do risco da maioria das doenças. Através da redução da rigidez aórtica, a cafeína está relacionada a diminuição do quadro de hipertensão, devido ao abaixamento da frequência cardíaca, no entanto, também houve a demonstração do agravamento do quadro hipertensivo, com o aumento do consumo de café, portanto há uma associação genética entre a doença e o consumo da bebida. Devido ao efeito antagônico da cafeína em relação a disputa com a adenosina por receptores presentes no cérebro, há a diminuição de doenças provenientes de arritmias, tanto ventricular quanto atrial, falhas cardíacas e doenças coronarianas (Chieng e Kistler, 2022; Nordestgaard, 2022).

### 2.3 A QUÍMICA DO AÇÚCAR NO CAFÉ

O sabor e aroma do café são oriundos de diversos processos presentes na produção cafeeira, como o plantio, cultivo e colheita, durante todas estas etapas o grão estará sujeito ao desenvolvimento de diversas substâncias. Dentre estas substâncias os carboidratos (mono, di, oligo e polissacarídeos) constituem até 50% da massa do café (Batali et al., 2020; Portillo, 2022).

O desenvolvimento dos carboidratos está diretamente relacionado a altura de cultivo do grão, maiores altitudes apresentam normalmente um melhor desenvolvimento relacionado aos açúcares e menor incidência de grãos defeituosos, pois devido a temperatura mais amena, há um processo mais controlado de formação desses sacarídeos (Cassamo et al., 2022).

Durante o processo de torra em altas temperaturas, ocorrem as reações de *Maillard*, a partir de um aminoácido e um açúcar redutor, esse processo confere cor e aroma ao produto, no entanto, ocorre a formação de diferentes substâncias, associadas positivamente e negativamente à saúde. Dentre estes compostos, a melanoidina possui maior destaque, devido a sua capacidade de auxiliar em processos fisiológicos anti-inflamatório, anti-hipertensivo e antioxidante. Outro composto a se destacar que, no entanto, possui um efeito maléfico, é a acrilamida, esta substância possui efeito carcinogênico, e estima-se que 40% do contato humano

com ela, se deve ao café (Iriondo-Dehond et al., 2020).

## 2.4 CAFÉ: ESPÉCIES E CLASSIFICAÇÃO

Existem duas espécies primárias de café que são cultivadas para fins comerciais, *Coffea arabica* (arábica) e *Coffea canephora* (canéfora – conilon ou robusta). O café arábica é reconhecido como a variedade mais refinada e sofisticada, sendo extensivamente plantado em áreas caracterizadas por climas frescos e altitudes elevadas. Os grãos provenientes do café arábica possuem um perfil de sabor mais suave e menos amargo quando comparado a outras variedades, apresentando também um conteúdo elevado de trigonelina. Em contraste, o café conilon é cultivado em regiões com climas mais quentes e altitudes mais baixas, sendo caracterizado como uma espécie mais robusta e produtiva. Os grãos de café robusta exibem um sabor mais pronunciado e amargo, além de apresentarem uma maior concentração de cafeína (Thurston; Morris; Steiman, 2013).

Instituído em 2004, o Programa de Qualidade do Café tem como objetivo assegurar a qualidade do café comercial por meio da avaliação sensorial e classificação em quatro categorias distintas: Gourmet, Superior, Tradicional e Extraforte. Além da certificação do produto, as empresas participantes são submetidas a auditorias que visam garantir a implementação de boas práticas de fabricação em todas as etapas do processo de industrialização, promovendo, assim, a consistência da qualidade do café (ABIC, 2023).

Recentemente, o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) introduziu novos parâmetros de classificação para o café torrado disponível no mercado brasileiro por meio da Portaria nº 570, em vigor desde 1º de janeiro de 2023. Essa normativa proporcionará ao órgão fiscalizador a capacidade de verificar e controlar a qualidade, condições higiênico-sanitárias e identidade dos produtos destinados aos consumidores, potencialmente impactando positivamente no consumo interno e nas exportações de café.

As alterações aparecem nas embalagens, incluindo informações como a espécie de café, o ponto de torra e a designação "fora de tipo" para produtos que não atendam aos padrões mínimos estabelecidos pela portaria.

Em relação a matéria presente no café, a portaria pressupõe a quantidade máxima de impurezas em 1%, sendo elas classificadas como produtos provenientes

do cafeeiro que, no entanto, não seriam o café, como paus, pedras, torrões, dentre outros. Assim como a lei preconiza, a total intolerância para matérias de outras espécies como grãos de milho, cevada, trigoilho, dentre outros (NACIONAL, 2023).

## 2.5 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA E DETECTORES

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, em inglês *High Performance Liquid Chromatography* - HPLC) é empregada para a separação de componentes em uma mistura com base em suas propriedades físico-químicas e interações com fases estacionárias e móveis. No HPLC, uma fase móvel líquida percorre uma coluna pressurizada contendo uma fase estacionária, frequentemente composta por uma resina ou gel. A interação seletiva entre os componentes da amostra e a fase estacionária resulta em diferentes tempos de retenção, promovendo a separação dos constituintes na coluna. A cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa utiliza uma fase estacionária não polar e uma fase móvel polar ou moderadamente polar, fundamentando-se no princípio da interação hidrofóbica. Em uma mistura de componentes, os analitos menos polares são retidos pela fase estacionária por mais tempo do que os mais polares, resultando na eluição sequencial dos componentes, com os mais polares eluindo primeiro (Skoog et al., 2014).

No contexto específico da determinação de trigonelina e cafeína no café, a eficiência do HPLC é evidenciada pelas diferenças em suas propriedades físico-químicas. A trigonelina é uma substância mais polar e hidrossolúvel, enquanto a cafeína é menos polar e mais hidrofóbica. A interação seletiva entre a fase estacionária e os componentes da amostra resulta em tempos de retenção distintos para cada composto, possibilitando a separação e quantificação individual (Alves, 2006).

Um componente fundamental nos sistemas de cromatografia líquida é o detector de arranjo de diodos (DAD), caracterizado pela capacidade de detectar tanto compostos orgânicos quanto inorgânicos em amostras. O DAD é reconhecido como um detector universal, pois dispensa a necessidade de pré-seleção ou ajuste de parâmetros para detecção de todos os componentes que absorvem luz em um comprimento de onda específico. O DAD opera por meio de uma fonte de luz que é focalizada na amostra por um sistema de lentes. A luz transmitida pela amostra passa por uma grade holográfica, resultando na difração que separa a radiação em

diferentes comprimentos de onda. Esses comprimentos de onda incidem sobre um arranjo de diodos, cada um gerando uma corrente elétrica proporcional à intensidade de emissão (Skoog et al., 2014).

Outra forma de detecção alternativa é o sistema de detecção por pulso amperométrico (PAD). Este detector normalmente é utilizado para análise de açúcares. Os açúcares são carboidratos que representam as biomoléculas mais abundantes no planeta, constituindo a principal fonte de energia presente na dieta dos seres humanos, sendo macromoléculas presente em diversos alimentos. Neste detector aplica-se um pulso no qual promoverá a oxidação do açúcar na superfície do eletrodo, essa oxidação promove a liberação de carga, e esta carga (nC) é registrada de acordo com o tempo de retenção (min), ao realizar a integração do pico, pode-se obter a corrente gerada pela oxidação do açúcar, e compará-la com o padrão utilizado (Carabetta et al., 2020; Lehninger, et al., 2014).

### 3 OBJETIVO

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método cromatográfico utilizando os teores de manitol, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose dos monossacarídeos presentes no café, que seja capaz de determinar a presença de adulterantes e impurezas, colaborando para a portaria SDA nº 570, de 9 de maio de 2022, legislação em vigor sobre o café torrado e moído, decretada pelo MAPA.

#### 3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

1. Quantificar os teores de manitol, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose, nas diferentes matrizes estudadas (café, açai, trigoilho, milho, cevada, casca e pau).
2. Utilizar as amostras BC-RO e BC-MG para criar uma equação capaz de prever a adulteração.
3. Aplicar a equação obtida nas amostras puras dos estados restantes.
4. Realizar a adulteração das amostras anteriormente puras, assim como as comerciais para observar o desempenho do método.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 REAGENTES E PADRÕES

Os reagentes utilizados para as etapas de extração e preparo da fase móvel, foram os seguintes solventes: ácido clorídrico P.A. (Anidrol, Brasil) e hidróxido de sódio 50% v/v (Sigma, Saint Louis, MO, EUA). O sistema de purificação de água utilizado foi o Milli-Q® (Millipore, Billerica, EUA).

Todos os padrões utilizados para o preparo da solução estoque (manitol, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose), apresentavam purezas maiores que respectivamente 99,0% (Merck, Darmstadt, Alemanha).

### 4.2 AMOSTRAS E ADULTERANTES

As amostras de café bica corrida, café o qual não foi beneficiado, não havendo separação dos defeitos e classificação, café referencial padrão (com a separação dos defeitos), da espécie arábica, canéfora e adulterantes, foram recebidas do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, (IDR – IAPAR-EMATER), em parceria com o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), através do acordo de cooperação técnica entre a Universidade Estadual de Londrina (UEL) e a Superintendência Federal da Agricultura no Paraná junto ao Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal (SIPOV/SFA-PR) de acordo com o memorando nº 127/2015. Toda a amostragem obtida está discriminada na Tabela 1.

**Tabela 1** - Amostras recebidas do café cru e torrado e moído com defeitos bica corrida (BC), sem defeitos referencial padrão (RP), identificadas por estado, espécie e os adulterantes utilizados

| Estado         | Espécie      | Amostras de café cru - Bica Corrida (BC) | Amostras de café torrado e moído - Bica Corrida | Amostras de café torrado e moído - Referencial Padrão (RP) | Adulterantes |
|----------------|--------------|--|---|--|--------------|
| Rondônia       | Canéfora     | 15                                       | 1   | 1  | Açaí         |
| Espírito Santo | Canéfora     | 23                                       | 1   | 1  | Casca        |
| Bahia          | Arábica      | 10                                       | 1   | 1  | Cevada       |
| Minas Gerais   | Arábica      | 80                                       | 1   | 1  | Pau*         |
| São Paulo      | Arábica      | 17                                       | 1   | 1  | Milho        |
| Paraná         | Arábica      | 10                                       | 1   | 1  | Triguilho    |
| Espírito Santo | <i>Blend</i> | 2  | 1   | 1  |              |

Fonte: Próprio autor (2024).

#### 4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS ADULTERADAS

O preparo das amostras adulteradas, foi realizado utilizando as amostras puras BC-MG-Arábica e BC-RO-Canéfora, e efetuando a adulteração em %(m/m). Foram feitas as adulterações para um café de cada espécie, em 11 níveis de 0 a 100%, com os 6 adulterantes: milho, triguilho, cevada, casca, pau e açaí. Para as amostras controle, foram utilizadas 14 amostras puras, com e sem defeitos representando 0% de adulteração, e os respectivos 6 adulterantes puros (100%), totalizando juntamente com as amostras comerciais 241 amostras. Todas as amostras analisadas estão apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2** - Amostras recebidas com defeitos bica corrida (BC), sem defeitos referencial padrão (RP), identificadas por estado, espécie, respectivos adulterantes utilizados e níveis de adulteração

| Amostras - Bica Corrida |          | Amostras - Referencial Padrão |          | Adulterantes | Níveis (%) |
|-------------------------|----------|-------------------------------|----------|--------------|------------|
| Estado                  | Espécie  | Estado                        | Espécie  |              |            |
| RO                      | Canéfora | RO                            | Canéfora | Açaí         | 0          |
| ES                      | Canéfora | ES                            | Canéfora | Casca        | 1          |
| ES                      | Arábica  | ES                            | Arábica  | Cevada       | 3          |
| BA                      | Arábica  | BA                            | Arábica  | Milho        | 5          |
| MG                      | Arábica  | MG                            | Arábica  | Pau          | 10         |
| SP                      | Arábica  | SP                            | Arábica  | Triguilho    | 15         |
| PR                      | Arábica  | PR                            | Arábica  |              | 20         |
|                         |          |                               |          |              | 25         |
|                         |          |                               |          |              | 30         |
|                         |          |                               |          |              | 40         |
|                         |          |                               |          |              | 100        |

Fonte: Próprio autor (2024).

#### 4.4 TEOR DE UMIDADE

A fim de corrigir a massa total de amostra em base seca, foi realizada a análise do teor de umidade nas amostras. Para a determinação foi utilizado um analisador de lâmpada halógena (OHAUS-MB 45, Parsippany, EUA). A programação foi setada para 105°C, por 7 minutos, utilizando-se 2,00 g da amostra, e a análise foi realizada em duplicata.

#### 4.5 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DOS CARBOIDRATOS TOTAIS

A extração dos carboidratos totais de todas as amostras, foi realizada de acordo com o descrito pela Norma Padrão Internacional da ISO 11.292:1995, os carboidratos extraídos presentes em maior concentração no café são: manitol, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose. O processo foi realizado após a correção da massa de acordo com a umidade determinada, e realizando a pesagem de 0,3000 g em base seca.

Posteriormente a pesagem, foi transferida a massa para um frasco reagente de tampa rosqueável e adicionado a 50,0 mL de ácido clorídrico 1,0 mol L<sup>-1</sup>. O frasco foi levado ao banho termostatizado por 150 minutos a 85°, com agitação manual a cada 30 minutos. Após o tempo determinado, aguardou o resfriamento

da solução a temperatura ambiente, e realizou-se a filtração em balão volumétrico de 100,0 mL com papel filtro, e o balão foi aferido.

A fim de realizar uma limpeza da amostra, foi utilizado um cartucho C<sub>18</sub> Sep-Pak<sup>®</sup> Vac 3cc (500 mg) (Waters<sup>®</sup>, Milford, EUA). Para o processo de *clean-up*, foi condicionado o cartucho previamente com 2,0 mL de metanol e 4,0 mL de água, e realizada a passagem de uma alíquota de 2,0 mL da amostra, o filtrado foi coletado em um frasco de plástico de 2,0 mL (*Eppendorf*). Da solução coletada anteriormente, foi adicionado 250 µL a um *vial*, junto de 750 µL de água. O *vial* foi armazenado na geladeira, até a injeção no sistema cromatográfico.

#### 4.6 PREPARO DA SOLUÇÃO PADRÃO

O preparo da solução padrão estoque, foi realizado efetuando a pesagem de 7 padrões de monossacarídeos e transferindo-os para um balão de 100,0 mL de acordo com o apresentado na Tabela 3. A partir da solução estoque, foi realizada a diluição utilizando-se 30 µL da solução estoque e 970 µL de água, obtendo-se um padrão com 3% da concentração da solução inicial.

**Tabela 3** - Massas pesadas dos respectivos monossacarídeos (manitol, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose) para preparo da solução estoque dos padrões

| Monossacarídeo | Massa (g) | Concentração do padrão 3% (mol L <sup>-1</sup> ) |
|----------------|-----------|--|
| Manitol        | 0,0152    | 2,70E-05   |
| Arabinose      | 0,0896    | 1,99E-04   |
| Galactose      | 0,2572    | 4,16E-04   |
| Glicose        | 0,0232    | 3,80E-05   |
| Xilose         | 0,0200    | 4,16E-05   |
| Manose         | 0,2452    | 4,03E-04   |
| Frutose        | 0,0628    | 9,79E-05   |

Fonte: Próprio autor (2024).

#### 4.7 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DO SISTEMA DE TROCA IÔNICA

As amostras anteriormente armazenadas na geladeira, foram inseridas no sistema cromatográfico de troca iônica com detecção por pulso amperométrico (HPAE-PAD) (Dionex, modelo ED-50). O sistema é constituído por uma bomba GS50 (Dionex), injetor automático e forno AS3500 (Thermo, Japão), detector eletroquímico com célula eletroquímica (ED-50, Dionex), utilizando um eletrodo de trabalho de ouro (Au) e um eletrodo de referência de Ag/AgCl.

Para o processo de separação, foi utilizada uma pré coluna (CarboPAC PA1 1,4 x 50 mm) e a coluna CarboPac-PA1 (4,0 x 250 mm, Dionex, Sunnyvale, CA, EUA). O volume de injeção foi setado para 20,0  $\mu\text{L}$ . O sistema contou com uma vazão de 0,8  $\text{mL min}^{-1}$ , utilizando como fase móvel uma solução de hidróxido de sódio 1,4  $\text{mmol L}^{-1}$  durante o tempo de 45 minutos, passando para a fase regeneradora por 15 minutos com uma solução de NaOH 300,0  $\text{mmol L}^{-1}$ , e reestabelecendo o equilíbrio por 10 minutos com a solução de 1,4  $\text{mmol L}^{-1}$ .

#### 4.8 TRATAMENTO DOS DADOS

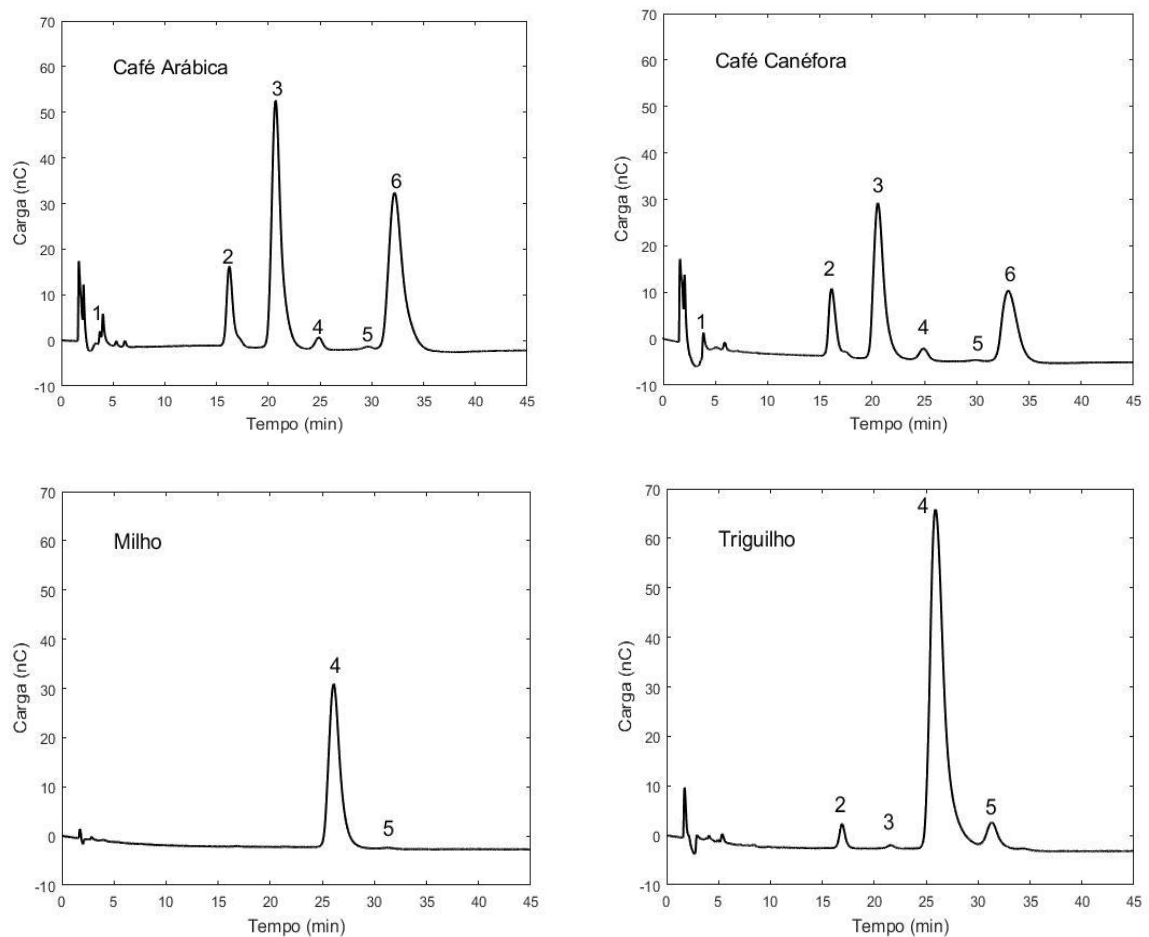
O *software* utilizado para aquisição dos dados cromatográficos foi o Peaknet<sup>®</sup> (versão 6.11, build 490, Dionex, USA), e todo o processamento dos dados foram realizados utilizando os *softwares* Matlab e Origin, enquanto a obtenção e o refinamento da equação foi realizada através da linguagem de programação Python.

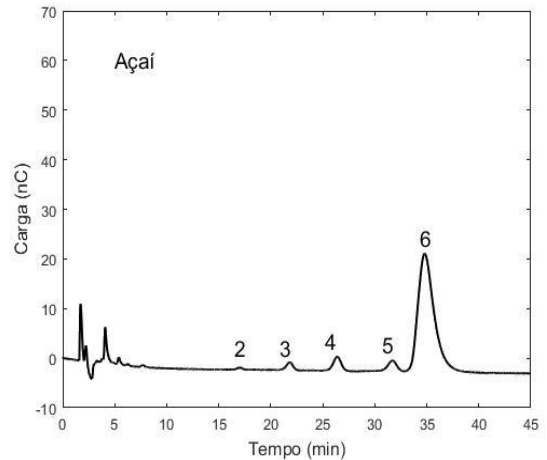
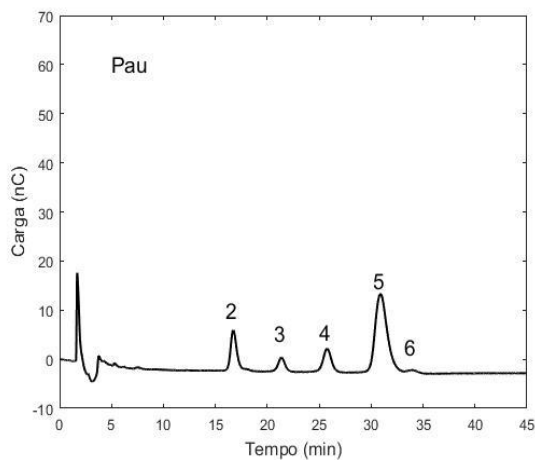
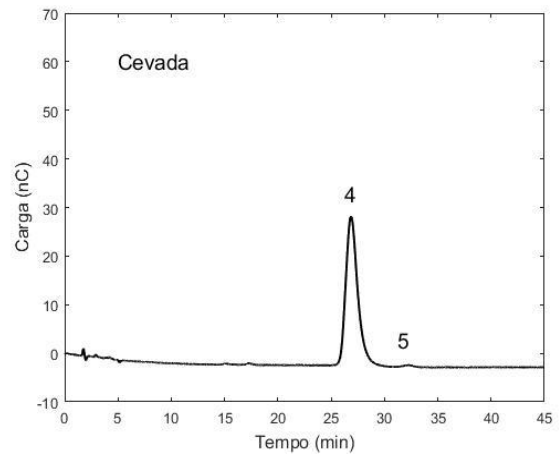
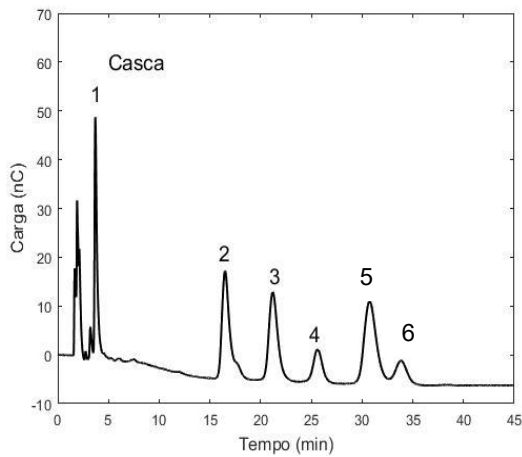
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 DETERMINAÇÃO DOS PERFIS CROMATOGRÁFICOS E CONCENTRAÇÃO DOS CARBOIDRATOS PRESENTES NAS AMOSTRAS PURAS

Inicialmente foi realizada a determinação dos teores de manitol, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose para todas as amostras puras de café e adulterantes. Os cromatogramas estão apresentados na Figura 1.

**Figura 1** - Cromatogramas obtidos referentes as análises de carboidratos do café arábica de Minas Gerais, canéfora de Rondônia, adulterantes (milho, trigoilho, cevada e açúcar) e as impurezas (casca e pau) todos torrados





Picos: (1) Manitol, (2) Arabinose, (3) Galactose, (4) Glicose, (5) Xilose, (6) Manose e (7) Frutose. Fase móvel – corrida isocrática: NaOH 1,4 mmol L<sup>-1</sup> (eluente: 0 – 45 min e reequilíbrio: por 10 min) e NaOH 300 mmol L<sup>-1</sup> (regeneração: por 15 min). Vazão: 0,8 mL min<sup>-1</sup> ; vol. injeção: 20,0 µL; pré-coluna e coluna: CarboPac PA-1 a 25oC; forma do pulso amperométrico - ED-50 Au: + 0,20 V (400 ms); + 0,65 V (200 ms) e - 0,20 V (400 ms). Os adulterantes milho, trigoilho e cavada foram diluídos 40 vezes, enquanto o açai 8, e o restante das amostras 4.

Fonte: Próprio autor (2024).

Com os dados obtidos referentes as análises cromatográficas, pode-se calcular a quantidade de cada respectivo carboidrato para as amostras puras (Tabela 4). A partir dos teores pode-se observar a elevada quantidade de glicose nos adulterantes trigoilho, cevada e milho, assim como elevados teores de xilose para casca e pau, e também manitol para casca. De mesmo modo, para os cafés de ambas as espécies, observou-se elevados valores de galactose.

**Tabela 4** - Concentração em %(m/m) de manitol, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose obtida para as amostras de casca, milho, açaí, cevada, trigoilho, pau, e os cafés (BC-MG e BC-RO)

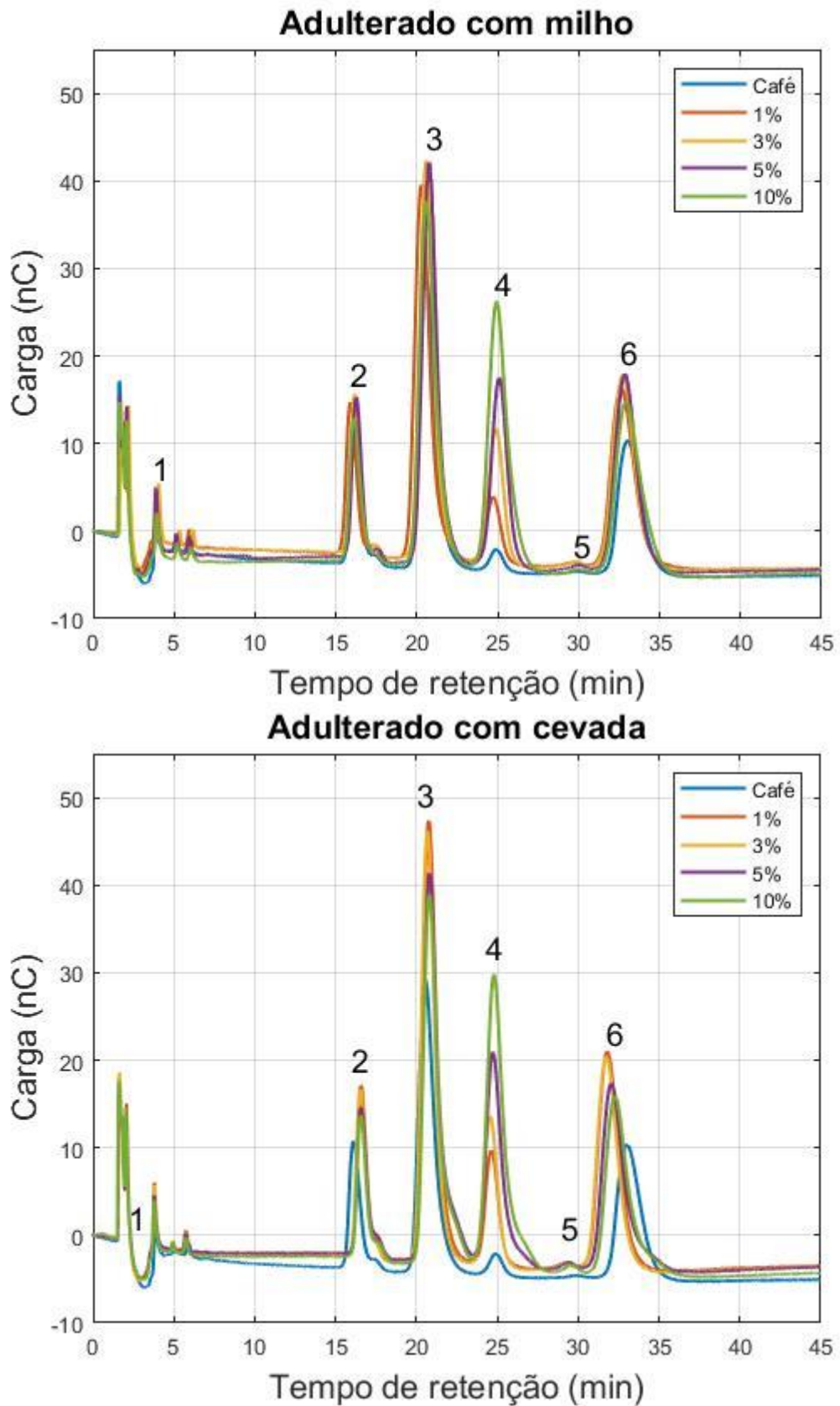
| <b>Amostra</b>        | <b>Manitol<br/>%(m/m)</b> | <b>Arabinose<br/>%(m/m)</b> | <b>Galactose<br/>%(m/m)</b> | <b>Glicose<br/>%(m/m)</b> | <b>Xilose<br/>%(m/m)</b> | <b>Manose<br/>%(m/m)</b> | <b>Frutose<br/>%(m/m)</b> |
|-----------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| <b>Casca</b>          | 0,912                     | 4,316                       | 4,076                       | 2,081                     | 3,553                    | 2,354                    | 0,000                     |
| <b>Milho</b>          | 0,000                     | 0,000                       | 0,000                       | 61,038                    | 0,000                    | 0,000                    | 0,000                     |
| <b>Açaí</b>           | 0,019                     | 0,076                       | 0,453                       | 0,712                     | 0,795                    | 28,034                   | 0,000                     |
| <b>Cevada</b>         | 0,000                     | 0,324                       | 0,000                       | 61,022                    | 0,538                    | 0,000                    | 0,000                     |
| <b>Trigoilh<br/>o</b> | 0,000                     | 0,655                       | 0,141                       | 162,64                    | 0,845                    | 0,000                    | 0,000                     |
| <b>Pau</b>            | 0,000                     | 1,138                       | 0,513                       | 0,912                     | 2,836                    | 0,252                    | 0,000                     |
| <b>BC-MG</b>          | 0,063                     | 2,618                       | 8,998                       | 0,478                     | 0,127                    | 18,001                   | 0,000                     |
| <b>BC-RO</b>          | 0,085                     | 3,049                       | 9,265                       | 0,453                     | 0,074                    | 15,406                   | 0,000                     |

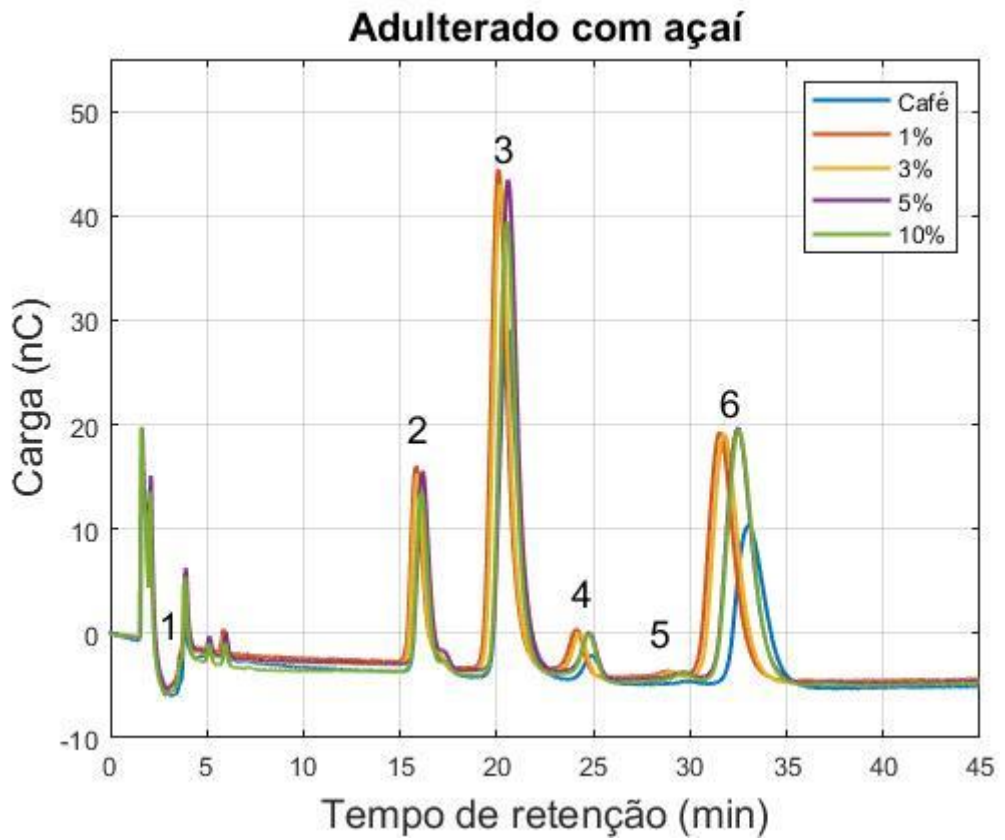
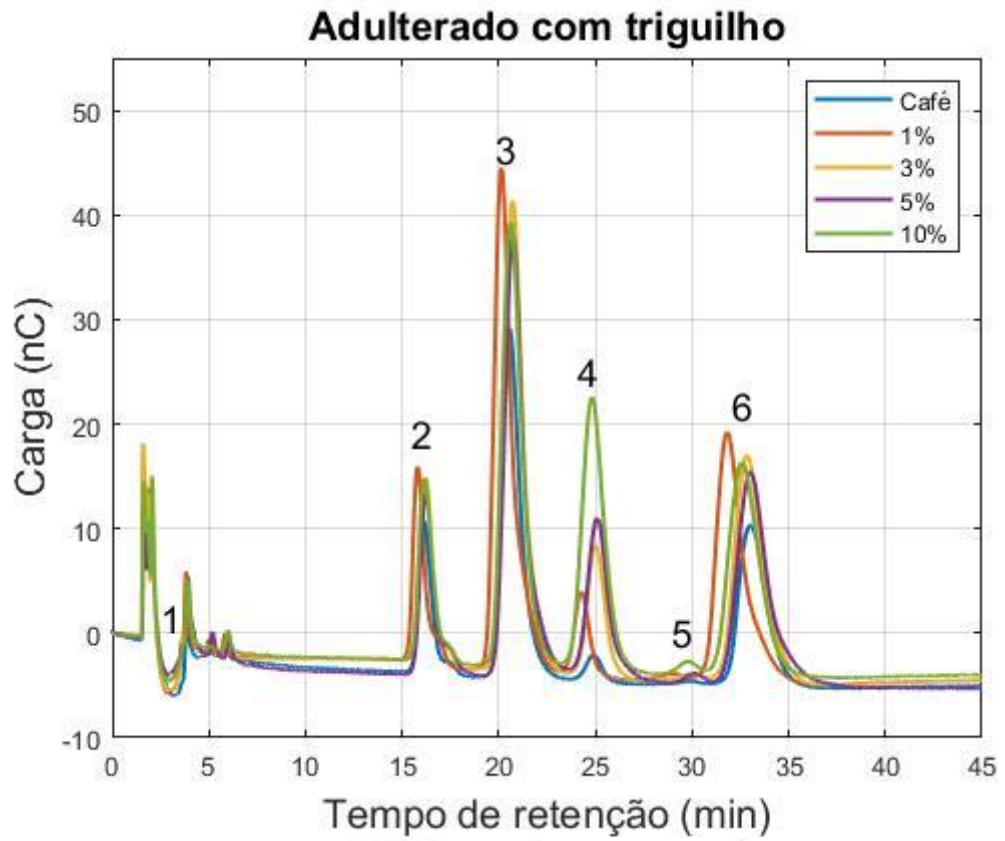
Fonte: Próprio autor (2024).

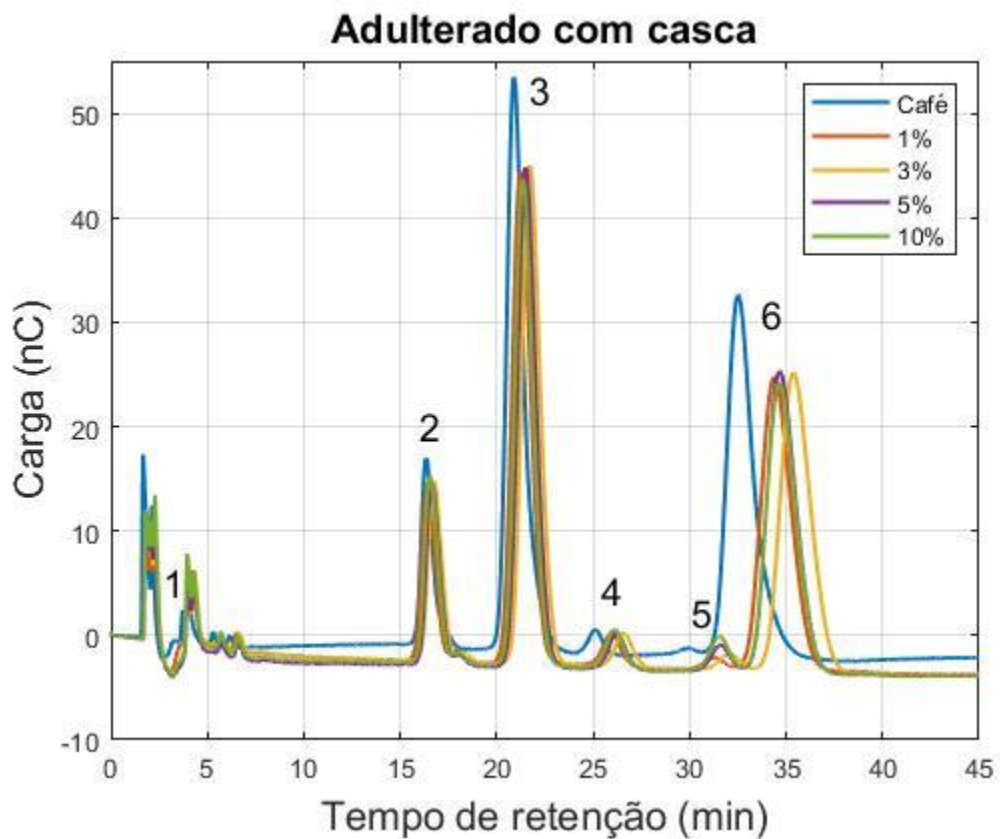
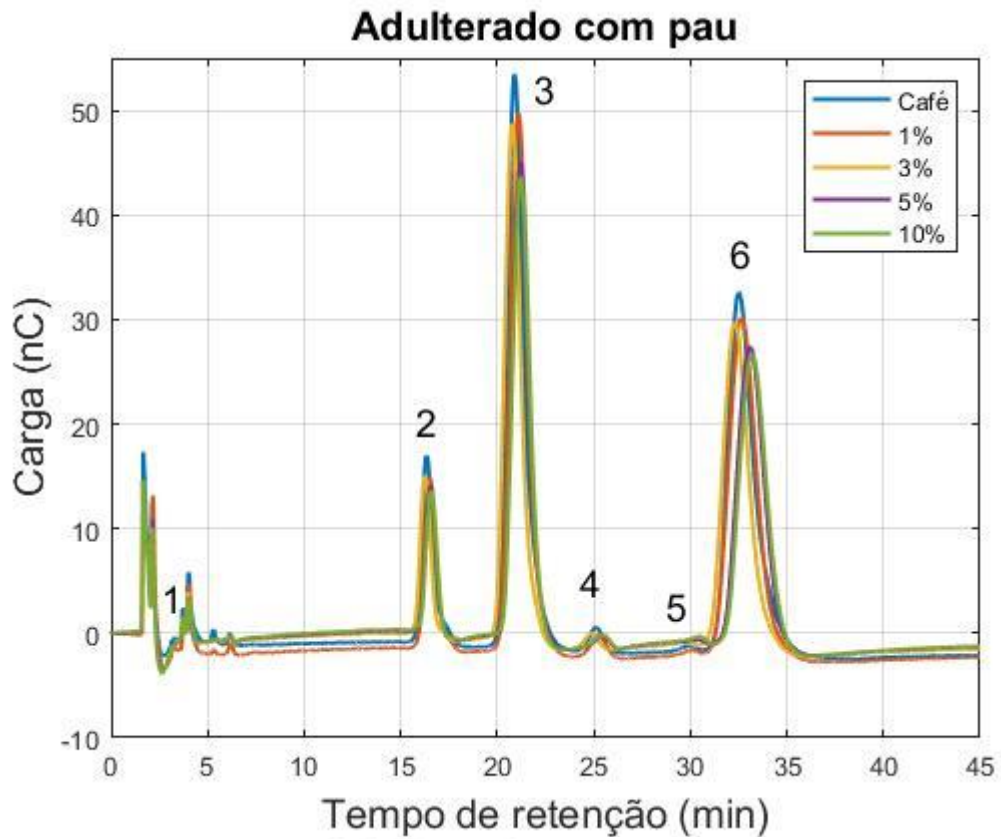
## 5.2 PERFIS CROMATOGRÁFICOS DAS AMOSTRAS ADULTERADAS

Após a obtenção dos valores para as amostras puras, foram realizadas misturas para os cafés arábica e canéfora, junto de cada adulterante individualmente, em 9 níveis diferentes (1, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40%), a fim de observar como a adulteração afetaria o valor de cada carboidrato nos cafés. Os cromatogramas obtidos a partir das adulterações até 10%, estão apresentados na Figura 2.

**Figura 2** - Cromatogramas referentes a amostra de café arábica BC-MG com a adição de açaí, cevada, milho, e trigo, e amostra caéfora BC-RO com a adição de casca e pau, nos níveis de 1, 3, 5 e 10%.







Picos: (1) Manitol, (2) Arabinose, (3) Galactose, (4) Glicose, (5) Xilose, (6) Manose e (7) Frutose. Fase móvel – corrida isocrática: NaOH 1,4 mmol L<sup>-1</sup> (eluente: 0 – 45 min e reequilíbrio: por 10 min) e NaOH 300 mmol L<sup>-1</sup> (regeneração: por 15 min). Vazão: 0,8 mL min<sup>-1</sup>; vol. injeção: 20,0 µL; pré-coluna e coluna: CarboPac PA-1 a 25oC; forma do pulso amperométrico - ED-50 Au: + 0,20 V (400 ms); + 0,65 V (200 ms) e - 0,20 V (400 ms).

Fonte: Próprio autor (2024).

Observando os cromatogramas apresentados, pode-se notar que conforme ocorre a adição do adulterante na amostra de milho, trigoilho e cevada, há um aumento expressivo no pico relacionado a glicose (4). De maneira similar, ao aumentar a quantidade de adulterante no café, há um acréscimo no manitol (1) para a casca, e da xilose (5) para a casca e pau. Observa-se ainda que ao se adicionar o açai ocorre uma elevação no teor da manose (6) em relação ao café. No entanto, devido ao café apresentar quantidade expressiva deste carboidrato, é difícil observar grande diferença entre as diversas porcentagens.

### 5.3 EQUAÇÃO UTILIZADA PARA PREDIÇÃO DE ADULTERAÇÃO

Para a obtenção de um método capaz de prever todos os adulterantes simultaneamente, foi desenvolvida uma função, baseada em uma razão (*ratio*), que visa assegurar o aumento monotônico de sua resposta analítica (valor do *ratio*) conforme os teores dos adulterantes aumentam. Objetivou-se, portanto, maximizar uma função definida pela razão entre carboidratos (*ratio* de carboidratos) tendo por métrica de eficiência a correlação média de Spearman (Ali Abd Al-Hameed, 2022) para todos os adulterantes, ou seja, a otimização de uma razão de carboidratos que produz aumento monotônico para os teores de adulterantes da amostra. A otimização combinatorial não visou linearidade do *ratio* obtido com a concentração de adulterantes, apenas monotonicidade da função em resposta aos teores. Nesse sentido, algumas premissas inter-relacionadas ao desenvolvimento da função foram consideradas.

1. A resposta adimensional da razão de carboidratos deve ser geral, ou seja, ante a adição crescente de qualquer adulterante, com seus teores específicos retratados nos carboidratos, a resposta da função deve, sempre, tender ao aumento da resposta da função;
2. A mistura de diferentes adulterantes não pode produzir uma resposta compensatória, ou seja, dois ou mais adulterantes adicionados não podem produzir um valor de *ratio* indistinguível do café sem adulteração. Tal premissa visa assegurar que, na presença combinada de dois ou mais adulterantes na mesma amostra, a função de *ratio* produzirá um valor aumentado como resposta, evitando assim fraudes que combinem

adulterantes distintos como, por exemplo, adição de cevada e milho simultaneamente. Ainda que melhores métodos quimiométricos possam ser ajustados para obtenção de modelos lineares mais precisos para predição de um único adulterante, é imprescindível assegurar matematicamente que misturas de adulterantes não provocarão incongruências de compensação que levem à não detecção das blendas de contrafeitos;

3. O adulterante puro (100% adulterante) deve produzir a maior resposta analítica da função de *ratio* para todas as concentrações do mesmo adulterante. Tal premissa visa aumentar a seletividade analítica do método para o adulterante específico, além de evitar que amostras com adulterantes puros (100%) se interponham entre teores menores;

Considerando os critérios pré-estabelecidos, um algoritmo desenvolvido na linguagem Python foi desenvolvido para realizar uma busca combinatorial das relações entre os carboidratos mensurados, conforme os pressupostos mencionados. De modo geral, o algoritmo testa centenas de combinações de *ratios* de carboidratos, atribuindo uma pontuação (média de Spearman) para cada relação avaliada. Ao final da execução, o algoritmo retorna o *ratio* de carboidratos com a maior pontuação. É importante notar que vários *ratios* podem apresentar desempenhos iguais ou muito similares. Este trabalho não incluiu a avaliação de múltiplos *ratios*, com desempenhos satisfatórios, gerados pelo algoritmo. Portanto, a razão obtida de uma única execução foi considerada como o *ratio* ótimo de carboidratos para os propósitos deste estudo. A função de *ratio* que obteve a maior pontuação está apresentada na Equação 1.

$$Ratio = \frac{(\%Glicose + \%Xilose + \%Manitol)}{(\%Glicose + \%Galactose)} \text{ (Equação 1)}$$

A Equação 1 mostra-se em acordo com as observações feitas anteriormente, pois a glicose, xilose e manitol, obtidas no numerador, apresentam grande correlação com os adulterantes, mostrando uma tendência a razões maiores quando ocorrer a adulteração. Por outro lado, a galactose presente no denominador está relacionada diretamente ao café puro, determinando números menores quando esse não estiver adulterado.

Por fim, a presença da glicose também no denominador, pode ser explicada

devido as concentrações elevadas obtidas para ela em relação aos outros, tornando assim o método bem sensível a variação da glicose no café.

#### 5.4 AVALIAÇÃO DO *RATIO* OBTIDO PARA CLASSIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO

Após a obtenção da Equação 1, foi estabelecido o valor limite do *ratio* utilizando-se de todas as amostras recebidas com total controle de rastreabilidade, garantindo idoneidade da amostra, certificando-se de se tratar de um café realmente puro. O resultado obtido para o limite do *ratio* foi demonstrado na Equação 2.

$$\text{não adulterada} \leq \text{ratio limite}(0,125) < \text{adulterada (Equação2)}$$

Posteriormente a obtenção do valor limite, foi realizada a adulteração de amostras diferentes de café, também com controle de rastreabilidade, a fim de verificar a funcionalidade do modelo. As amostras utilizadas foram da espécie arábica dos estados do Paraná, Bahia e São Paulo, assim como a da espécie canéfora do Espírito Santo. A adulteração foi efetuada nos níveis de 3 e 10%, para os 6 adulterantes estudados. Os resultados obtidos para os *ratios*, estão expostos na Tabela 5.

**Tabela 5** - *Ratios* obtidos para as amostras BC-PR, BC-BA, BC-SP e BC-ES, com a adição de milho, trigoilho, cevada, casca, pau e açaí nos níveis de 3 e 10%

| Milho     | 3%    | 10%   |
|-----------|-------|-------|
| BC-PR     | -     | -     |
| BC-BA     | 0,246 | 0,422 |
| BC-SP     | 0,268 | 0,447 |
| BC-ES     | 0,219 | 0,396 |
| Trigoilho | 3%    | 10%   |
| BC-PR     | 0,228 | 0,471 |
| BC-BA     | 0,185 | 0,346 |
| BC-SP     | 0,217 | 0,350 |
| BC-ES     | 0,188 | 0,325 |
| Cevada    | 3%    | 10%   |
| BC-PR     | 0,266 | 0,514 |
| BC-BA     | 0,234 | 0,409 |
| BC-SP     | 0,264 | 0,459 |
| BC-ES     | 0,238 | 0,393 |
| Casca     | 3%    | 10%   |
| BC-PR     | 0,088 | 0,139 |
| BC-BA     | 0,079 | 0,145 |
| BC-SP     | 0,118 | 0,168 |
| BC-ES     | 0,109 | 0,147 |
| Pau       | 3%    | 10%   |
| BC-PR     | 0,090 | 0,124 |
| BC-BA     | 0,077 | 0,102 |
| BC-SP     | 0,095 | 0,123 |
| BC-ES     | 0,100 | 0,130 |
| Açaí      | 3%    | 10%   |
| BC-PR     | 0,077 | 0,096 |
| BC-BA     | 0,074 | 0,099 |
| BC-SP     | 0,077 | 0,108 |
| BC-ES     | 0,103 | 0,116 |

Valores apresentados em vermelho representam resultado positivo para a adulteração.

**Fonte:** Próprio autor (2024).

Observando os *ratios* obtidos na Tabela 4, as amostras que apresentaram o *ratio* acima do limite, ou seja amostras consideradas adulteradas, foram destacadas em vermelho. Através desta Tabela, pode-se observar o êxito em classificar todas as amostras adulteradas com milho, trigoilho e cevada, nos dois níveis. No entanto, para a impureza casca, foi considerada adulterado somente o nível de 10%, enquanto não foram obtidos resultados satisfatórios para os outros adulterantes.

## 5.5 APLICAÇÃO DO RATIO EM AMOSTRAS DE CAFÉ COMERCIAL PURAS

Com o intuito de observar o comportamento da metodologia proposta em amostras reais, foi realizada a extração dos carboidratos em amostras de café comercial, os resultados obtidos foram expostos na Tabela 6.

**Tabela 6** - *Ratios* obtidos para 24 amostras de cafés comerciais adquiridas em supermercados nos estados do Paraná e São Paulo

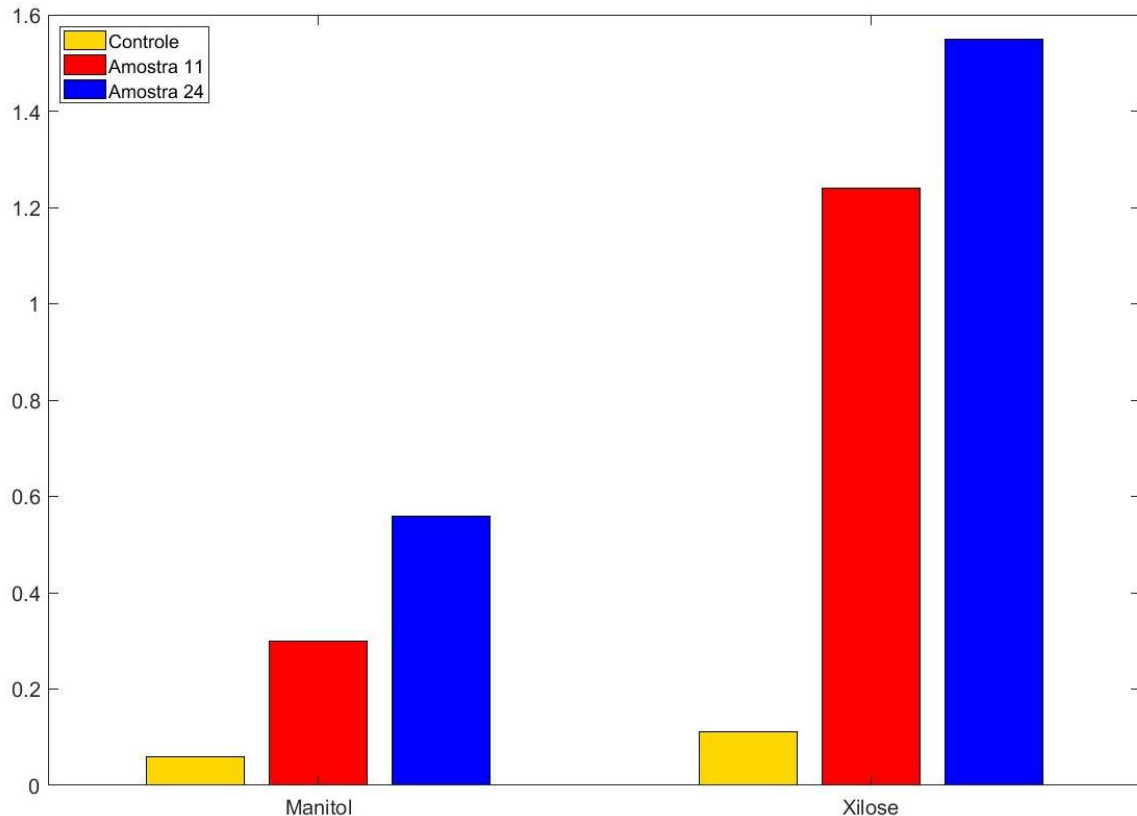
| <b>Amostra</b> | <b>Manitol<br/>%(m/m)</b> | <b>Arabinose<br/>%(m/m)</b> | <b>Galactose<br/>%(m/m)</b> | <b>Glicose<br/>%(m/m)</b> | <b>Xilose<br/>%(m/m)</b> | <b>Manose<br/>%(m/m)</b> | <b>Ratio</b> |
|----------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------|
| 1              | 0,07                      | 2,09                        | 6,31                        | 0,42                      | 0,10                     | 4,61                     | 0,087        |
| 2              | 0,12                      | 1,76                        | 5,50                        | 0,40                      | 0,22                     | 5,11                     | 0,104        |
| 3              | 0,05                      | 1,82                        | 5,58                        | 0,44                      | 0,25                     | 4,46                     | 0,101        |
| 4              | 0,02                      | 2,09                        | 6,48                        | 0,75                      | 0,11                     | 4,45                     | 0,097        |
| 5              | 0,03                      | 1,82                        | 5,64                        | 0,44                      | 0,09                     | 4,87                     | 0,073        |
| 6              | 0,01                      | 1,29                        | 5,06                        | 0,25                      | 0,05                     | 5,09                     | 0,047        |
| 7              | 0,02                      | 1,74                        | 6,49                        | 0,37                      | 0,07                     | 6,20                     | 0,063        |
| 8              | 0,07                      | 1,63                        | 5,47                        | 0,28                      | 0,08                     | 4,86                     | 0,070        |
| 9              | 0,11                      | 2,16                        | 6,05                        | 0,43                      | 0,08                     | 4,23                     | 0,090        |
| 10             | 0,05                      | 2,00                        | 6,38                        | 0,66                      | 0,08                     | 4,79                     | 0,100        |
| 11             | 0,30                      | 2,05                        | 4,34                        | 0,62                      | 0,90                     | 2,45                     | 0,310        |
| 12             | 0,02                      | 1,86                        | 6,11                        | 0,35                      | 0,06                     | 4,85                     | 0,076        |
| 13             | 0,04                      | 2,22                        | 6,26                        | 0,41                      | 0,12                     | 3,95                     | 0,094        |
| 14             | 0,01                      | 1,65                        | 5,30                        | 0,21                      | 0,06                     | 4,65                     | 0,055        |
| 15             | 0,02                      | 1,80                        | 5,55                        | 0,21                      | 0,07                     | 4,56                     | 0,055        |
| 16             | 0,04                      | 2,01                        | 6,76                        | 0,49                      | 0,27                     | 5,44                     | 0,116        |
| 17             | 0,02                      | 2,26                        | 7,43                        | 0,70                      | 0,15                     | 5,49                     | 0,115        |
| 18             | 0,04                      | 2,07                        | 7,22                        | 0,65                      | 0,17                     | 6,08                     | 0,115        |
| 19             | 0,01                      | 2,76                        | 8,66                        | 0,87                      | 0,12                     | 6,90                     | 0,112        |
| 20             | 0,05                      | 2,40                        | 7,40                        | 0,66                      | 0,20                     | 6,48                     | 0,118        |
| 21             | 0,04                      | 2,22                        | 6,94                        | 0,59                      | 0,15                     | 6,01                     | 0,105        |
| 22             | 0,02                      | 2,03                        | 6,71                        | 0,42                      | 0,09                     | 6,26                     | 0,075        |
| 23             | 0,02                      | 1,78                        | 5,96                        | 0,42                      | 0,10                     | 5,34                     | 0,072        |
| 24             | 0,56                      | 1,82                        | 3,78                        | 0,66                      | 1,12                     | 2,31                     | 0,438        |

Fonte: Próprio autor (2024).

Utilizando os *ratios* obtidos para os cafés comerciais, pode-se inferir que 2 amostras haveriam eventual fraude (amostras destacadas em vermelho), este fato pode estar relacionado aos elevados teores de manitol, que indica possível excesso

de casca no produto, assim como os elevados teores de xilose, indicam o suposto excesso de pau. Os teores indicados acima da média, foram destacados e expostos na Figura 3.

**Figura 3** - Gráfico de barras representando a quantidade média de manitol e xilose nos cafés puros de controle (bica corrida e referencial padrão), em relação a quantidade nas amostras consideradas adulteradas de acordo com o *ratio*



**Fonte:** Próprio autor (2024).

## 5.6 APLICAÇÃO DO *RATIO* EM AMOSTRAS DE CAFÉ COMERCIAL ADULTERADAS

Como outra maneira de avaliar a efetividade de detecção de fraude no café, foram utilizadas amostras de café comercial que a priori obtiveram resultado negativo para adulteração de acordo com o *ratio* calculado (amostras 8 e 15 exibidas no item 5.5).

Essas amostras passaram pelo processo de adulteração, e da mesma maneira foram obtidas as quantidades relativas de cada carboidrato para elas, e utilizado a fórmula descrita para o cálculo do novo *ratio* delas.

A partir dos *ratios* demonstrados na Tabela 7, pode-se observar a classificação das amostras como adulteradas, para valores próximos a 1% para trigoilho, cevada e milho e 10% para casca e pau. Demonstrando a capacidade do método em classificar a amostra inicialmente sem adulteração aparente, como adulterada após a adição dos adulterantes de maneira propósital.

**Tabela 7** - *Ratios* obtidos para as amostras de café comercial inicialmente com resultado negativo para adulteração, com a posterior adição de milho, trigoilho, cevada, casca, pau e açai nos níveis de 1, 3, 5 e 10%.

| <b>Adulterante</b> | <b>Porcentagem de adulterante</b> | <b>Ratio amostra 8</b> | <b>Ratio amostra 15</b> |
|--------------------|-----------------------------------|------------------------|-------------------------|
| <b>Café</b>        | 0%                                | 0,053                  | 0,074                   |
|                    | 1%                                | 0,123                  | 0,197                   |
| <b>Milho</b>       | 3%                                | 0,269                  | 0,317                   |
|                    | 5%                                | 0,402                  | 0,364                   |
|                    | 10%                               | 0,556                  | 0,516                   |
|                    | 1%                                | 0,092                  | 0,144                   |
| <b>Trigoilho</b>   | 3%                                | 0,205                  | 0,208                   |
|                    | 5%                                | 0,313                  | 0,287                   |
|                    | 10%                               | 0,465                  | 0,428                   |
|                    | 1%                                | 0,141                  | 0,197                   |
| <b>Cevada</b>      | 3%                                | 0,327                  | 0,415                   |
|                    | 5%                                | 0,486                  | 0,483                   |
|                    | 10%                               | 0,637                  | 0,643                   |
|                    | 1%                                | 0,083                  | 0,104                   |
| <b>Casca</b>       | 3%                                | 0,099                  | 0,119                   |
|                    | 5%                                | 0,108                  | 0,116                   |
|                    | 10%                               | 0,155                  | 0,166                   |
|                    | 1%                                | 0,083                  | 0,093                   |
| <b>Pau</b>         | 3%                                | 0,110                  | 0,087                   |
|                    | 5%                                | 0,117                  | 0,121                   |
|                    | 10%                               | 0,158                  | 0,190                   |
|                    | 1%                                | 0,086                  | 0,121                   |
| <b>Açai</b>        | 3%                                | 0,088                  | 0,117                   |
|                    | 5%                                | 0,092                  | 0,125                   |
|                    | 10%                               | 0,116                  | 0,149                   |

Fonte: Próprio autor (2024).

## 6 CONCLUSÃO

Através da obtenção de um perfil cromatográfico para os monossacarídeos em diferentes amostras de café puro e adulterantes, foi possível determinar os carboidratos presentes em maior concentração.

Estabelecendo elevados teores de manitol, xilose e glicose para os principais adulterantes, e concentrações elevadas de galactose para o café, foi possível criar um *ratio*, capaz de classificar a amostra como adulterada ou não.

O *ratio* obtido foi capaz de demonstrar a adulteração nas amostras de controle para os adulterantes milho, trigoilho e cevada, em relações de massa em até 3%, devido a grande quantidade de glicose nessas matrizes. Para a impureza casca, a metodologia proposta utilizada determinou a presença da casca em nível de 10%, nas amostras com controle de procedência. No entanto, para pau e açaí, não foi possível identificar a fraude ocorrida, este fato se deve a provável presença dos carboidratos majoritários destas matrizes também estarem presentes na matriz do café, no entanto em quantidades menores.

A aplicação da metodologia em cafés comerciais mostrou capacidade inicial de detectar possíveis fraudes, demonstrando que a fraude ocorre nas amostras, lesando o consumidor, que por sua vez, está adquirindo um produto no qual não tem conhecimento da matéria ali presente.

Por fim, o método desenvolvido demonstra capacidade inicial de classificar adulteração por outras matrizes e impurezas proveniente do cafeeiro podendo auxiliar na detecção de amostras adulteradas e contribuindo no controle aplicando a resolução da Portaria SDA nº 570, de 9 de maio de 2022 estabelecida pelo MAPA.

No entanto, o refinamento ou diferentes tratamentos são necessários para a melhora da metodologia, tendo em vista que o limite estabelecido na legislação vigente para as impurezas como casca e pau é de 1%.

## REFERÊNCIAS

- ABIC/2021 - Associação Brasileira da Indústria de Café. Disponível em <https://www.abic.com.br/tudo-de-cafe/linha-do-tempo-do-cafe>. Acesso em: 30 mar. 2023
- ABIC/2021 - Associação Brasileira da Indústria de Café. Disponível em <https://www.abic.com.br/tudo-de-cafe/o-cafe-e-o-sistema-nervoso-central>. Acesso em: 30 mar. 2023
- ABIC/2021 - Associação Brasileira da Indústria de Café. Disponível em <https://www.abic.com.br/tudo-de-cafe/economia-cafeeira-e-industrializacao-do-brasil/>. Acesso em: 30 mar. 2023
- ADEPOJU, A. F. et al. Coffee: botany, distribution, diversity, chemical composition and its management. **Journal Agriculture and Veterinary Science**, v. 10, n. 7, p. 57-62, 2017.
- ALI ABD AL-HAMEED, Khawla. Spearman's correlation coefficient in statistical analysis. **International Journal of Nonlinear Analysis and Applications**, v. 13, n. 1, p. 3249-3255, 2022.
- ALVES, Sandriel Trindade et al. Metodologia para análise simultânea de ácido nicotínico, trigonelina, ácido clorogênico e cafeína em café torrado por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 29, p. 1164-1168, 2006.
- ARAÚJO FILHO, José Ribeiro de. O café, riqueza paulista. 2017.
- BATALI, Mackenzie E. et al. Sensory and monosaccharide analysis of drip brew coffee fractions versus brewing time. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 7, p. 2953-2962, 2020.
- BUTT, Masood Sadiq; SULTAN, M. Tauseef. Coffee and its consumption: benefits and risks. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 51, n. 4, p. 363-373, 2011.
- CAMPOS-VEGA, Rocio et al. Spent coffee grounds: A review on current research and prospects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 1, p. 24-36, 2015.
- CANGUSSU, Laís Brito. Caracterização dos compostos bioativos presentes em cascas de café da espécie *coffea arabica*. 2017.
- CARABETTA, Sonia et al. High-performance anion exchange chromatography with Pulsed Amperometric Detection (HPAEC–PAD) and chemometrics for geographical and floral authentication of honeys from Southern Italy (Calabria region). **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1625, 2020.
- CASSAMO, Crimildo T. et al. Shade and altitude implications on the physical and chemical attributes of green coffee beans from Gorongosa Mountain, Mozambique. **Agronomy**, v. 12, n. 10, p. 2540, 2022.

CHIENG, David; KISTLER, Peter M. Coffee and tea on cardiovascular disease (CVD) prevention. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 32, n. 7, p. 399-405, 2022.

CRAWFORD, John. History of coffee. **Journal of the Statistical Society of London**, v. 15, n. 1, p. 50-58, 1852.

DE AZEVEDO BATISTA, Michelle Jennifer Pereira et al. Desenvolvimento e caracterização de filmes de polissacarídeos extraídos de borra de café. 2023.

DURÁN, Carlos AA et al. Café: Aspectos Gerais e seu Aproveitamento para além da Bebida. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p. 107-134, 2017.

ISLAM, Muhammed Ariful et al. Prospects of pulsed amperometric detection in flow-based analytical systems-a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1052, p. 10-26, 2019.

ISMAIL, Tariq et al. Coffee in cancer chemoprevention: an updated review. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 17, n. 1, p. 69-85, 2021.

IRIONDO-DEHOND, Amaia et al. Assessment of healthy and harmful maillard reaction products in a novel coffee cascara beverage: Melanoidins and acrylamide. **Foods**, v. 9, n. 5, p. 620, 2020.

KOLB, Hubert; MARTIN, Stephan; KEMPF, Kerstin. Coffee and lower risk of type 2 diabetes: arguments for a causal relationship. **Nutrients**, v. 13, n. 4, p. 1144, 2021.

LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX, M. M. Princípios de Bioquímica. 6ª Edição, 2014. Ed. Artmed.

NACIONAL, I. PORTARIA SDA No 570, DE 9 DE MAIO DE 2022 - DOU - Imprensa Nacional. Disponível em: <http://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-sda-n-570-de-9-de-maio-de-2022-398971389>. Acesso em: 30 mar. 2023.

NORDESTGAARD, Ask T. Causal relationship from coffee consumption to diseases and mortality: a review of observational and Mendelian randomization studies including cardiometabolic diseases, cancer, gallstones and other diseases. **European Journal of Nutrition**, p. 1-15, 2022.

PAUWELS, Ernest KJ; VOLTERRANI, Duccio. Coffee consumption and cancer risk: an assessment of the health implications based on recent knowledge. **Medical Principles and Practice**, v. 30, n. 5, p. 401-411, 2021. SBGG – SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA. Disponível em: <https://sbgg.org.br/>. Acesso em: 15 mai. 2022.

PORTILLO, O. R.; ARÉVALO, A. C. Coffee's carbohydrates. **A critical review of scientific literature. Revis Bionatura**, v. 7, n. 3, p. 11, 2022.

SUGAI, Y.; TEIXEIRA FILHO, A. R.; CONTINI, E. Impacto de exportação do café na economia do Brasil: análise da matriz de insumo-produto. Área de Informação

da Sede-Texto para Discussão (ALICE), 2004.

ROHRER, Jeff. Analysis of carbohydrates by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAE-PAD). **Thermo Fisher Scientific, Technical Note**, v. 20, n. 1, p. 1-18, 2021.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A; Principios de Análise Instrumental, 5a ed., Bookman, São Paulo, 2002.

THURSTON, Robert W.; MORRIS, Jonathan; STEIMAN, Shawn (Ed.). **Coffee: A comprehensive guide to the bean, the beverage, and the industry**. Rowman & Littlefield Publishers, 2013.

VICTORINO, Juliana Leone Paiva et al. WENCESLAU BRAZ E A POLÍTICA CAFÉ COM LEITE: Estratégias de comunicação e marketing político que o elegeram Presidente da República do Brasil. 2012.

WILLIAMSON, Gary. Protection against developing type 2 diabetes by coffee consumption: assessment of the role of chlorogenic acid and metabolites on glycaemic responses. **Food & function**, v. 11, n. 6, p. 4826-4833, 2020.