



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CÍNTIA SORANE GOOD KITZBERGER

**CARACTERIZAÇÃO E DISCRIMINAÇÃO DE CAFÉS ARÁBICA
DE DIFERENTES VARIEDADES CULTIVADOS NAS MESMAS
CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS**

Londrina
2012

CÍNTIA SORANE GOOD KITZBERGER

**CARACTERIZAÇÃO E DISCRIMINAÇÃO DE CAFÉS ARÁBICA
DE DIFERENTES VARIEDADES CULTIVADOS NAS MESMAS
CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós –
graduação em Ciência de Alimentos da
Universidade Estadual de Londrina, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Doutora em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Marta de Toledo
Benassi

Co-Orientadora: Dra. Maria Brígida dos Santos
Scholz

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

K62c Kitzberger, Cíntia Sorane Good.

Caracterização e discriminação de cafés arábica de diferentes variedades cultivados nas mesmas condições edafoclimáticas / Cíntia Sorane Good Kitzberger. – Londrina, 2012.
146 f. : il.

Orientador: Marta de Toledo Benassi.

Co-orientador: Maria Brígida dos Santos Scholz.

Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2012.

Inclui bibliografia.

1. Café – Tecnologia de alimentos – Teses. 2. Café – avaliação sensorial – Teses. 3. Diterpenos – Teses. 4. Genética vegetal – Teses. I. Benassi, Marta de Toledo. II. Scholz, Maria Brígida dos Santos. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDU 641.002.61

CÍNTIA SORANE GOOD KITZBERGER

**CARACTERIZAÇÃO E DISCRIMINAÇÃO DE CAFÉS ARÁBICA DE
DIFERENTES VARIEDADES CULTIVADOS NAS MESMAS
CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós –
graduação em Ciência de Alimentos da
Universidade Estadual de Londrina, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Doutora em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Orientadora Dra. Marta de Toledo
Benassi
UEL – Londrina - PR

Dr. Luiz Filipe Protasio Pereira
EMBRAPA – Londrina - PR

Prof. Dr. Rafael Carlos Eloy Dias
(Instituto Federal Catarinense)

Profa. Dra. Claudia Moraes de Rezende
UFRJ – Rio de Janeiro - PR

Profa. Dra. Sandra Helena Prudencio
UEL – Londrina – PR

Londrina, 28 de agosto de 2012.

Dedico este trabalho a meu amado esposo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

A Deus, pela dádiva de servi-lo e por me fazer conhecer uma nova dimensão emminha fé, quero crescer a cada dia mais.

À Marta de Toledo Benassi, que em tempo oportuno, de orientadora se transformou em amiga, e que mesmo à distância soube me compreender e apoiar.

À Maria Brígida dos Santos Scholz, minha co-orientadora em tempo integral, amiga e parceira de bordados e literaturas.

Ao meu marido Rafael pelo amor e compreensão, por fazer parte de cada minuto emminha vida e por partilhar comigo a maravilhosa dádiva do casamento.

Aos meus pais Valdemar e Nadir e meu irmão Alan, por todo o apoio que sempre mederam e que me ajudaram a ser quem sou, enfim, sonhos se tornam realidades.

Aos meus amigos Benedicta pelos conselhos cheios de sabedoria, Isabel pelas risadas, Ovídio pelos papos no final do dia, vocês fazem de cada dia de trabalhuma diversão.

À Pra. Marta Francisca Ferreira por me mostrar como enfrentar os “gigantes”, me ensinou a ouvir a vontade de Deus para minha vida.

Ao Ms. João Batista Gonçalves Dias Silva, e ao Centro Tecnológico Cocari – Mandaguari por preparar o experimento e ceder as amostras de café.

Ao Dr. Luiz Filipe Protasio Pereira pelo incentivo e ajuda sempre presente.

Ao Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR pela disponibilidade dos laboratórios.

Aos professores, funcionários e colegas do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL, por todo apoio e suporte para a realização deste trabalho e por contribuírem ricamente para minha formação profissional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Cnpq pelo apoio financeiro.

"Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima."

Louis Pasteur

*Às vezes ao barco o vento vem com grande ímpeto, mas quando o leme
está seguro em tão "Confiáveis" mãos, não há o que temer...*

KITZBERGER, Cíntia SoraneGood. **Caracterização e discriminação de cafés arábica de diferentes variedades cultivados nas mesmas condições edafoclimáticas.** 2012. 146 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

RESUMO

Fatores edafoclimáticos, condições de cultivo, processos pós-colheita e a diversidade genética influenciam a composição, funcionalidade e qualidade sensorial dos cafés. Dentre estes, a diversidade genética das cultivares tem sido pouco estudada devido ao restrito acesso às informações e registros dos cruzamentos realizados. O melhoramento genético do café direciona seus esforços para desenvolver cultivares com as características agrônomicas desejadas e alta qualidade de bebida. A transferência de genes de resistência às doenças pode afetar a composição por criar cultivares de café arábica com presença de material genético do *Coffea canephora*. O objetivo do presente trabalho foi comparar cafés arábica tradicionais (Bourbon vermelho, Catuaí vermelho e Icatu) e cultivares de cruzamentos modernos (IAPAR 59, IPR 98, IPR 99 e IPR 103) produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas e processos pós-colheita e de preparo padronizados, para verificar a influência da diversidade genética em sua composição. Estudou-se o perfil de componentes bioativos e/ou de importância para a qualidade da bebida, a atividade antioxidante (AA) e as características sensoriais das bebidas. No café verde, foram avaliados sacarose, açúcares redutores, ácidos carboxílicos (quínico, málico e cítrico), compostos fenólicos totais, 5-ACQ, proteína, trigonelina, cafeína, lipídeos, cafestol e caveol. Após torramédia, avaliou-se a composição de bioativos (ácido nicotínico, trigonelina, cafeína, 5-ACQ, melanoidinas, caveol e cafestol), estimou-se a AA (Folin-Ciocalteu, ABTS e inibição da auto-oxidação do ácido linoléico) e as características sensoriais (Análise Descritiva de Perfil Livre) dos cafés. Nos cafés verdes, as cultivares tradicionais se discriminaram das modernas, caracterizando-se por altos teores de ácidos málico e 5-ACQ, lipídeos, caveol e trigonelina. Nos cafés torrados, a diversidade genética contribuiu para a variabilidade de composição, principalmente associada aos teores de 5-ACQ, caveol e cafestol. Cultivares com genes de *C. canephora* foram diferenciadas dos cafés de genética arábica, pelo perfil de diterpenos e apresentaram expressiva AA. Os parâmetros caveol e a relação caveol/cafestol foram propostos como os melhores discriminadores entre cultivares modernas e tradicionais, tanto para grão verde como para o produto torrado. A introgressão de genes de resistência de *C. canephora* aumentou os teores de caveol e os valores da relação caveol/cafestol. O uso de diterpenos na discriminação foi estudado, ainda, em cafés verdes e torrados de outros cruzamentos (IPR 100, IPR 102 e IPR 106) obtidos de duas safras. A relação caveol/cafestol mostrou-se característica para as cultivares, propondo-se então seu uso como discriminador entre cafés arábica com diferentes *background* genético. A diferença de composição refletiu-se nas características sensoriais das bebidas. O café Bourbon, descrito como menos encorpado, e com menor intensidade de cor e de sabor amargo, discriminou-se das cultivares IPR 99 e IPR 103, caracterizadas pela maior intensidade de cor de café, turbidez, aroma de café, chocolate, caramelo, doce e mais encorpadas. As bebidas dos cafés IAPAR 59, IPR 98, Icatu e Catuaí foram descritas como similares entre si e apresentaram

comportamento intermediário. As diferenças na composição química, AA e características sensoriais mostraram influência da diversidade genética na qualidade do café arábica, e ressaltam a importância da avaliação desses parâmetros no desenvolvimento de novas cultivares.

Palavras-chave: Diterpenos. Cafeol/cafestol. Atividade antioxidante. CLAE, IPRs, Perfil livre.

KITZBERGER, Cíntia Sorane Good. **Characterization and discrimination of arabica coffees of different varieties growing in the same edapho-climatic conditions.** 2012. 146 p. Thesis (Doctor's Degree Thesis) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

ABSTRACT

Edapho-climatic factors, growing conditions, post harvesting process and genetic variability influence the composition, functionality and sensory quality of the coffees. From these factors, the genetic diversity of cultivars was poorly studied due to restricted access to information and registers of crossings carried out. Genetic improvement of coffee directs its efforts to develop cultivars with desirable agronomic characteristics and high quality beverage. The transference of disease resistance genes should affect the composition of arabica coffees by developing cultivars with presence of genetic material from *Coffeacaneophora*. The aim of the study was to compare traditional arabica coffees (Red Bourbon, Red Catuaí and Icatu) and modern crosses cultivars (IAPAR 59, IPR 98, IPR 99 and IPR 103) produced in the same edapho-climatic conditions. Post-harvest and roasting processes were also standardized to verify the influence of genetic diversity in its composition. The profile of compounds with bioactivity and/or relevance in the cup quality, the antioxidant activity (AA) and the sensory characteristics were studied. Sucrose, reducing sugars, carboxylic acids (quinic, malic and citric acid), phenolic compounds, 5-CQA, protein, trigonelline, caffeine, lipids, cafestol and kahweol were evaluated in green coffee. Bioactive components (nicotinic acid, trigonelline, caffeine, 5-CQA, melanoidins, cafestol and kahweol), the AA (Folin-Ciocalteu, TEAC, inhibition of the autoxidation of linoleic acid) and sensory characteristics (descriptive analysis of Free Choice Profiling) were evaluated after medium roasting process of the coffees. In green coffees, the traditional cultivars are discriminated from modern cultivars by the high levels of malic and 5-CQA acids, lipids, kahweol and trigonelline. In roasted coffees, the genetic diversity contributed to variability in composition, mainly associated with the contents of 5-CQA, kahweol and cafestol. Cultivars with *C. canephoragenes* were differentiated from genetic arabica coffees due the profile of diterpenes and it presented expressive AA. Kahweol and kahweol/cafestol ratio were proposed as the best parameters for discrimination between traditional and modern cultivars for both green beans and roasted coffees. The introgression of resistance genes from *C. canephorain* increased the content of kahweol and the values of kahweol/cafestol ratio. The use of diterpenes in the discrimination was also studied in green and roasted coffees from other crossings (IPR100, IPR 102 and IPR 106) obtained from two harvests. The kahweol/cafestol ratio was a defining characteristic of each cultivar and it was then proposed as a discriminator between arabica coffees with different genetic background. The difference in composition resulted in variation of the sensory characteristics of beverages. The Bourbon coffee was the least full-bodied and by the lower intensity of color and bitter taste. It was discriminated from cultivars IPR and 99 IPR 103, which were characterized as more full-bodied and by the more intense coffee color, turbidity, and aroma (coffee, chocolate, caramel and sweet). The brews of IAPAR 59, IPR 98, Icatu and Catuaí were described as similar and showed intermediate behavior. Differences in chemical composition, AA and sensory characteristics demonstrated the influence of genetic diversity in arabica coffees

quality, and highlight the importance of evaluation of these parameters in genetic improvement of new cultivars.

Keywords: Diterpenes. Kahweol/cafestol. Antioxidant activity. HPLC, IPRs. Free-Choice Profiling.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1 Cultivares de café arábica avaliadas e sua origem genética.....	59
Tabela 2.2 Caracterização dos cafés arábica verdes de diferentes cultivares.....	67
Tabela 2.3 Valores médios dos grupos formados pela Análise de rupamentoHierárquico	74

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1 Teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de cafés torradosde diferentes cultivares	92
---	----

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1 Frequência de citação dos descritores empregados pela equipe.....	113
Tabela 4.2 Análise de variância da análise Procrustes para a equipe	115
Tabela 4.3 Atributos com correlação superior a 0,40 para cada provador	117

CAPÍTULO 5

Table 5.1 Genetic background of the cultivars studied.....	130
Table 5.2 Content of kahweol and cafestol (mg/100g db) in green coffees ofdifferent cultivars considering two harvests (2009 and 2010).....	134
Table 5.3 Content of kahweol and cafestol (mg/100g db) in roasted coffees ofdifferent cultivars considering two harvests (2009 and 2010).....	134

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 2.1** Relação cafeol/cafestol (■) e diterpenos totais (–) das cultivares 70
- Figura 2.2** Biplot dos cafés de diferentes cultivares considerando variáveis decomposição..... 73
- Figura 2.3** Dendograma da AAH dos cafés de diferentes cultivares considerando variáveis de composição..... 74

CAPÍTULO 3

- Figura 3.1** Relação cafeol/cafestol e teor de diterpenos totais (mg 100g⁻¹) para os cafés torrados de diferentes cultivares 96
- Figura 3.2** Biplot dos cafés torrados de diferentes cultivares para os Componentes Principais 1 e 2 considerando variáveis de composição e atividade antioxidante 99

CAPÍTULO 4

- Figura 4.1** Configuração geral (a) e distribuição da variância residual dos provadores (b)..... 114
- Figura 4.2** Configuração de consenso das amostras 116

CAPÍTULO 5

- Figura 5.1** Structural formulas of kahweol (1) and cafestol (2) 128
- Figure 5.2** Flowchart of unsaponifiable coffee matter extraction (DIAS et al., 2010) 133
- Figure 5.3** Kahweol/cafestol ratio for green (a) and roasted (b) coffees in the harvest 2009 and 2010 137

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1 Cultivares de café arábica avaliadas e sua origem genética.....	59
Tabela 2.2 Caracterização dos cafés arábica verdes de diferentes cultivares.....	67
Tabela 2.3 Valores médios dos grupos formados pela Análise de grupamento Hierárquico	74

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1 Teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de cafés torrados de diferentes cultivares	92
--	----

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1 Frequência de citação dos descritores empregados pela equipe.....	113
Tabela 4.2 Análise de variância da análise Procrustes para a equipe	115
Tabela 4.3 Atributos com correlação superior a 0,40 para cada provador	117

CAPÍTULO 5

Table 5.1 Genetic background of the cultivars studied.....	130
Table 5.2 Content of kahweol and cafestol (mg/100g db) in green coffees of different cultivars considering two harvests (2009 and 2010).....	134
Table 5.3 Content of kahweol and cafestol (mg/100g db) in roasted coffees of different cultivars considering two harvests (2009 and 2010).....	134

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade Antioxidante
ANOVA	Análise de Variância
CLAE (HPLC)	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (High Performance Liquid Chromatography)
H*	Tonalidade cromática
IAPAR	Instituto Agrônomo do Paraná
KOH	Hidróxido de potássio
L*	Luminosidade
UV-Vis	Regiões do espectro Ultravioleta e Visível
5 – ACQ	Ácido 5- cafeoilquinico
ABTS+	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
Trolox	(6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico)
TEAC	<i>Trolox Equivalent Antioxidant Activity</i>
ACGs	Ácidos clorogênicos
FT	Fenólicos totais
UA	Unidades de Absorvância
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
Dim	(1 e/ou 2) Dimensão (1 e/ou 2)

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO, REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E OBJETIVOS

1.1 INTRODUÇÃO	17
1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
1.2.1 Cultivares de café arábica e seus cruzamentos	22
1.2.2 Relação entre as condições de cultivo e produção com a composição e qualidade de café	24
1.2.3 Compostos bioativos e de interesse para a qualidade de bebida.....	28
1.2.3.1 Ácidos carboxílicos e açúcares.....	28
1.2.3.2 Cafeína	30
1.2.3.3 Trigonelina	31
1.2.3.4 Compostos fenólicos	32
1.2.3.5 Melanoidinas	34
1.2.3.6 Diterpenos	35
1.2.4 Atividade antioxidante.....	37
1.3 OBJETIVO GERAL	38
1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
REFERÊNCIAS.....	39

CAPÍTULO 2 – IMPACTO DA DIVERSIDADE GENÉTICA NA COMPOSIÇÃO DECAFÉS ARÁBICA VERDES PRODUZIDOS NAS MESMAS CONDIÇÕES E DA FOCLIMÁTICAS

RESUMO.....	56
2.1 INTRODUÇÃO	56
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	58
2.2.1 Cafés: especificação e processamento	58
2.2.2 Reagentes, materiais e equipamentos	59
2.2.3 Determinação de sacarose e açúcares redutores	60
2.2.4 Determinação dos ácidos ácidoquínico, málico e cítrico	61
2.2.5 Determinação de compostos fenólicos totais	62
2.2.6 Determinação de trigonelina e ácido 5 – cafeoilquínico.....	63
2.2.7 Determinação de proteína	63
2.2.8 Determinação de cafeína.....	64

2.2.9	Determinação de lipídeos	64
2.2.10	Determinação de caveol e cafestol.....	65
2.2.11	Análises estatísticas	65
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
	REFERÊNCIAS	75

CAPÍTULO 3 - INFLUÊNCIA DA DIVERSIDADE GENÉTICA NA BIOATIVIDADE DE CAFÉS ARÁBICA PRODUZIDOS NAS MESMAS CONDIÇÕES E DA FOCLIMÁTICAS

	RESUMO.....	83
3.1	INTRODUÇÃO.....	83
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	85
3.2.1.	Cafés: especificação, processamento e caracterização.....	85
3.2.2	Material e equipamentos	87
3.2.3	Análises cromatográficas.....	87
3.2.3.1	Determinação de hidrossolúveis: ácido nicotínico, trigonelina, cafeína e ácido 5 – cafeoilquínico	87
3.2.3.2	Determinação de diterpenos (caveol e cafestol).....	88
3.2.4	Estimativa de melanoidinas	89
3.2.5	Determinação da atividade antioxidante.....	89
3.2.5.1	Determinação da atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS+•.....	89
3.2.5.2	Determinação da inibição da auto-oxidação do ácido linoléico (formação de dienos conjugados).....	90
3.2.5.3	Determinação de fenólicos totais.....	91
3.2.6	Análises estatísticas	91
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
3.4	CONCLUSÃO	101
	REFERÊNCIAS	101

CAPÍTULO 4 - CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL DE CAFÉS ARÁBICA DE DIFERENTES CULTIVARES PRODUZIDOS NAS MESMAS CONDIÇÕES E DA FOCLIMÁTICAS

	RESUMO.....	108
--	-------------	-----

SUMMARY	108
4.1 INTRODUÇÃO	109
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	110
4.2.1 Obtenção e preparo das amostras e condições dos testes	110
4.2.2 Seleção dos provadores e familiarização com a metodologia	111
4.2.3 Avaliação das amostras e análise estatística	112
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	112
4.3.1 Seleção de provadores.....	112
4.3.2 Levantamento de atributos e performance da equipe.....	112
4.3.3 Avaliação das amostras.....	115
4.4 CONCLUSÕES.....	120
REFERÊNCIAS.....	121

**CAPÍTULO 5 - DITERPENES IN GREEN AND ROASTED COFFEE OF
COFFEAARABICA CULTIVARS GROWING IN THE SAME EDAPHO-
CLIMATICCONDITIONS**

SUMMARY	127
HIGHLIGHTS	127
5.1 INTRODUCTION	128
5.2 MATERIALS AND METHODS	130
5.2.1 Raw material.....	130
5.2.2 MATERIALS AND EQUIPMENTS	131
5.2.3 Diterpenesanalysis	132
5.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	133
5.4 CONCLUSIONS.....	139
REFERENCES.....	139

6 CONCLUSÃO GERAL	144
--------------------------------	------------

7 CONSIDERAÇÕES SOBRE O TRABALHO E SUGESTÃO DE ESTUDOSFUTUROS.....	145
---	------------

Anexo A.....	146
---------------------	------------

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO, REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E OBJETIVOS

1.1. INTRODUÇÃO

A influência econômica do café está fundamentada em sua colocação como o segundo produto de importância no comércio mundial (ICO, 2012).

A origem do café remonta do século III d.C., quando Kaldi, um pastor de cabras observou que os animais ficavam agitados ao se alimentarem com o pequeno fruto de um arbusto e ao experimentá-lo sentiu uma energia estranha. Kaldi levou os frutos ao mosteiro e seu consumo foi apreciado espalhando-se pelo mundo (ABIC, 2012). Há registros de que o oficial Francisco de Mello Palheta, em 1727, foi o responsável por introduzir as primeiras sementes de café no Brasil, no estado do Pará. Palheta obteve clandestinamente com a esposa do governador de Caiena (Guiana Francesa), uma pequena muda de café arábica que foi trazida escondida na bagagem (ABIC, 2012). No Brasil, o cultivo de café se espalhou rapidamente devido às condições climáticas favoráveis e em sua trajetória o café passou pelo Maranhão, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Minas Gerais, e rapidamente evoluiu de uma posição relativamente secundária para a de produto-base da economia brasileira (ABIC, 2012).

Entre aproximadamente 100 espécies descritas do gênero *Coffea*, somente duas produzem frutos que tem importância econômica: *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex Froehner e seus produtos são designados como café arábica e café *C. canephora*, respectivamente (SIMON, 2009). A origem mais provável de *C. arabica* é a hibridação natural entre as espécies diplóides *C. eugenioides* e *C. canephora* (SIMON, 2009).

O café arábica representa cerca de 70 % e o *C. canephora* cerca de 30 % do mercado internacional. A ampla aceitação no mercado da espécie *C. canephora* se deve ao fato de ter preço menor e do interesse para indústria de café solúvel devido ao alto teor de sólidos solúveis. A cultivar mais difundida para plantios no Brasil é o robusta ou conilon, adaptada a regiões de baixa altitude e temperaturas elevadas, de grande rusticidade, vigor e resistência a deficiências hídricas prolongadas (BRAGANÇA et al., 2001). O café arábica produz uma bebida de qualidade superior, com aroma intenso e sabores diversificados e com variações em seu corpo e acidez (CEPLAC, 2012).

O Brasil ocupa a posição de maior produtor e exportador mundial de café, e o Estado do Paraná se apresenta como um tradicional produtor de café arábica. A estimativa para 2012, ano de maior produção no ciclo bienal, indica que o Brasil deverá produzir entre 48,97 e 52,27 milhões de sacas de 60 kg de café beneficiado (CONAB, 2012).

O Paraná registrou em 2011 uma produção de 1.842 milhões de sacas beneficiadas (CONAB, 2012). A área em produção no estado em 2012 está estimada em 72.989 hectares, sendo cultivado em aproximadamente 210 municípios e correspondendo a 3,2% da renda agrícola paranaense (CONAB, 2012). No Paraná o café é cultivado nas regiões do Norte Pioneiro, Norte, Noroeste e Oeste do Estado. As áreas de cultivo são muito extensas, o que justifica a grande variação de altitudes. A altitude média é de aproximadamente 650 metros, sendo que na região do Arenito, próximo ao rio Paraná, a altitude é de 350 metros e na região de Apucarana chega a 900 metros (ABIC, 2012). Segundo o CEPLAC (2012) as cultivares mais indicadas para plantio são Mundo Novo, Catuaí Amarelo, Catuaí Vermelho, Acaia e Icatu, que apresentam adaptação a regiões de temperaturas amenas e altitude elevada e, quanto à bebida, possuem potencial para produção de cafés finos.

A evolução do mercado de cafés tem sido impulsionada por mudanças de hábito e perfil de consumidores que hoje se preocupam mais com a qualidade e características da bebida (RIZENTAL, 2011). A demanda por cafés de qualidade aumentou a busca pelo consumo em cafeterias, a aquisição de máquinas domésticas de café e o consumo de cafés especiais contribuindo para o surgimento de um novo conceito - o café de "atitude". O termo café de atitude reflete o perfil de consumidores que estão interessados em saber mais informações sobre o produto: sua história, região e forma de produção, tipo de torra e características da bebida (RIZENTAL, 2011). Marcas de cafés como Starbucks®, Nespresso®, Caribou Coffee®, dentre outras, vêm ditando as tendências nessa área. Atualmente o uso da identificação de origem geográfica do café, que estabelece um processo de marcação de área capaz de produzir cafés com qualidades especiais e diferenciadas, como acontece em algumas regiões de Minas Gerais e do Paraná, é uma estratégia de marketing que pode também conferir um diferencial ao produto (ABIC, 2012).

Dentro deste perfil de consumidores a ABIC realizou a pesquisa “Tendências de Consumo do Café em 2010” e verificou que os determinantes de compra ainda são a marca a qual está habituado, a data de validade e a qualidade, que está relacionada ao aroma e sabor residual na boca (ABIC, 2010). A pesquisa destaca ainda a citação de outros quesitos, antes não avaliados, como informações da embalagem tais como tipo de café, o peso, a composição do produto e dados do fabricante. Os cafés chamados cafés especiais despontaram no mercado consumidor com um crescimento de 73% e inclui o café gourmet, descafeinado, orgânico, de região certificada e com certificado de origem, sendo relatado esse interesse para todas as classes sociais, principalmente a classe A (ABIC, 2010).

Os cafés especiais também obtiveram um aumento de 3,3% em seu consumo quando realizado fora de casa. Este consumo, principalmente em cafeterias ou padarias aumentou 307% de 2003 à 2010, impulsionando ainda o aumento de consumo por pessoas que já possuíam este hábito com regularidade (crescimento de 13%). Quando se fala do apelo para aspectos de saúde a pesquisa aponta aumento de 3% (2003 a 2010) no interesse por novos produtos a base de café que tragam em seu rótulo informações sobre os benefícios para a saúde (ABIC, 2010).

Com relação ao conceito de café de qualidade observa-se que saboroso/sabor que deixa na boca, aroma e vontade de repetir são elementos de um bom café, apontados em todas as classes sociais. Os consumidores de classe A, também associam um bom café a ter uma torra na medida certa. Essa percepção, sem dúvida, é fruto do esforço que a indústria vem fazendo nos últimos anos de esclarecimento ao consumidor sobre os atributos que compõem um bom café (ABIC, 2010).

Para descrever e caracterizar os atributos das bebidas de café é necessário o emprego de técnicas sensoriais descritivas. Nos métodos descritivos em geral, os provadores utilizam um vocabulário comum na caracterização dos produtos, sendo necessário treinamento longo para uso consensual das terminologias e escalas (OLIVEIRA; BENASSI, 2003). Entre os métodos descritivos, uma das opções de maior simplicidade de aplicação é o Perfil Livre (*Free-Choice Profiling*) desenvolvido na década de 80 por pesquisadores ingleses, como alternativa para o uso de uma terminologia mais próxima do consumidor. Esse método baseia-se no princípio de que as pessoas percebem as mesmas características no produto, mesmo que expressem de forma diferenciada. Como no Perfil Livre existe a liberdade de utilizar

os termos descritivos na quantidade e da maneira que desejar desde o princípio até o final da avaliação, não é necessário que os provadores aprendam uma linguagem comum para avaliar os produtos o que possibilita eliminar o treinamento da equipe (WILLIAMS; LANGRON, 1984; LAWLESS; HEYMANN, 2010). O uso de Perfil Livre para análise de café já tem sido descrito com sucesso na literatura (WILLIAMS; LANGRON, 1985; JONG; HEIDEMA; VAN DER KNAAP, 1998; NARAIN; PATERSON; REID, 2003; BASSOLI, 2006).

Ainda considerando estudos de análise sensorial, na área de consumidor as pesquisas têm cada vez sido mais focadas em saudabilidade e benefícios a saúde obtidos pelo consumo dos alimentos (MEISELMAN, 2012).

Higdon e Frei (2006) descreveram como sendo recomendada a ingestão máxima de 3 xícaras diárias da bebida de café para gestantes e recomendam mais estudos sobre o efeito do consumo de cafeína em crianças e adolescentes. Os autores sumarizaram que, no geral, existem poucas evidências de risco à saúde e consideráveis evidências de benefícios no consumo moderado de café por adultos saudáveis.

Diversos estudos clínicos e epidemiológicos nos últimos anos associaram o consumo moderado de café a benefícios a saúde. Dentre as propriedades da bebida destacam-se o efeito estimulante do sistema nervoso central, ação anticarcinogênica e/ou antiteratogênica, atividade antioxidante, efeito hipoglicêmico e hepatoprotetor, redução de danos oxidativos ao DNA, na prevenção e redução de risco de doenças crônico-degenerativas e alguns tipos de câncer e diabetes tipo 2. Muitos desses efeitos estão associados à atividade antioxidante atribuída a compostos naturalmente presentes no café (cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos, cafeol e cafestol) ou formados durante o processamento (ácido nicotínico e melanoidinas) (HIGDON; FREI, 2006; RUFÍÁN-HENARES; MORALES, 2007, GEORGE; RAMALAKSHMI; RAO, 2008, GOMÉZ-RUIZ; LEAKE; AMES, 2008; VIGNOLI; BASSOLI; BENASSI, 2011; BUTT; SULTAN, 2011; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Na composição da bebida, e conseqüentemente sua funcionalidade e aceitabilidade sensorial, destacam-se as diferenças entre os cafés relacionadas tanto com a variabilidade genética (espécie e cultivar) quanto com fatores agrônômicos e edafoclimáticos (altitude, temperatura, demanda hídrica, tipos e níveis de adubação, maturação dos grãos), e ainda com processos (pós-colheita, torra e armazenamento) (KY et al., 2001; SILVA et al., 2005; LEROY et al., 2006;

PIMENTA; VILELA, 2002, VIGNOLI, 2009). Dessa forma se houver interesse em avaliar o impacto de uma variável específica na composição, existe necessidade de padronizar as outras condições do estudo.

Os programas de melhoramento genético de café têm desenvolvido cruzamentos especiais para atender a essa diversidade de ambientes de cultivo disponibilizando genótipos que apresentem além de adaptação, resistência a pragas e doenças, bem como características agrônômicas de interesse como alta produtividade, porte baixo de plantas e maturação em épocas distintas.

Os estudos relacionados aos efeitos na composição decorrentes dos cruzamentos realizados para a obtenção de novas cultivares de café ainda são escassos e, geralmente tratam da influência das diferentes localidades de cultivo, tipos de adubação, sistemas de cultivo e espécies (conilon ou arábica) (MALTA; NOGUEIRA; GUIMARÃES, 2003; SILVA et al., 2005; VAAST et al., 2006; GEROMEL et al., 2008). Devido ao aumento de cultivares disponíveis para o cultivo e comercialização é interessante o estudo sobre o impacto da diversidade genética na composição do café, e, conseqüentemente, na sua funcionalidade, qualidade e características sensoriais.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar o perfil de substâncias bioativas e/ou relativas à qualidade da bebida em cafés verdes e torrados e avaliar a atividade antioxidante e características sensoriais de cafés arábica torrados comparando cultivares tradicionais (Bourbon vermelho, Catuaí vermelho e Icatu), que não apresentam cruzamentos com outras espécies e/ou são extensamente cultivados no Brasil, e cultivares modernas (IAPAR 59, IPR 98, IPR 99, IPR 103) oriundos de cruzamentos diferenciados para conferir maior resistência à doenças e melhor adaptação às condições climáticas. Todos os cafés foram produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas e tiveram seu tratamento pós-colheita e processamento/preparo da bebida (no caso de café torrado) padronizados, de maneira que a diversidade apresentada pudesse ser atribuída somente às características genéticas.

A partir do exposto anteriormente, o capítulo 1 apresenta uma introdução geral e uma revisão bibliográfica sobre a matriz do café verde e torrado, enfocando a sua base genética, a sua composição associada à funcionalidade, em especial à atividade antioxidante e às características sensoriais da sua bebida.

O capítulo 2 refere-se à composição da matriz de café arábica verde, avaliando-se os teores de açúcares totais e redutores, ácido quínico, málico e cítrico, fenólicos totais, 5-ACQ, proteína, trigonelina, cafeína, lipídeos, cafestol e caveol, e, enfocando a influência da diversidade genética nas características das cultivares.

O capítulo 3 refere-se à avaliação da influência da diversidade genética na composição (ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ, cafeína, melanoidinas, cafestol e caveol) e na atividade antioxidante, avaliada por Folin Ciocalteu, atividade sequestrante do radical ABTS (expressa como TEAC), e auto-oxidação do ácido linoléico nos cafés torrados.

O capítulo 4 enfoca a influência da diversidade genética nas características sensoriais dos cafés empregando Análise Descritiva por Perfil Livre.

Tendo em vista que teores de caveol e cafestol destacaram-se como de grande interesse na discriminação, o capítulo 5 enfoca a relação existente entre o teor de diterpenos de cafés de diferentes cruzamentos e o Catuaí, trabalhando com cafés verdes e torrados e analisando duas safras, de maneira a complementar o estudo da aplicabilidade da relação caveol/caffestol como uma ferramenta na discriminação de cultivares arábica com participação de diferentes cafés em seu cruzamento.

1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1. Cultivares de café arábica e seus cruzamentos

A primeira variedade de café arábica cultivada no Brasil recebeu o nome de Típica, Arábica, Nacional ou Crioulo. Por aproximadamente um século de expansão da cultura, cafezais brasileiros foram formados com progênies de pequena introdução, o que implicava em pequena variabilidade genética. Através de mutações na cultivar Nacional produziu-se cultivares como Maragogipe (seleção datada de 1870), destacada por produzir grãos maiores, e a Amarelo de Botucatu (1871), por produzir grãos amarelos, mas que não foram muito plantadas por apresentarem produtividade inferior à da cultivar original (SIMON, 2009).

Em 1852, a cultivar Bourbon Vermelho, proveniente da Ilha de Reunião, foi introduzida no país, superando em produtividade a cultivar Nacional, e ocupando lugar de destaque na cafeicultura brasileira. A seleção, em 1930, de um provável

híbrido natural entre Bourbon Vermelho e Amarelo de Botucatu deu origem a cultivar Bourbon Amarelo (SIMON, 2009; CNC, 2012).

Outra importante introdução ocorreu em 1896, com sementes provenientes da Ilha de Sumatra. A cultivar Sumatra não teve a mesma expressão da Bourbon Vermelho, mas sua grande contribuição foi ter originado, por hibridação natural com Bourbon Vermelho, a cultivar Mundo Novo, selecionada em 1931. Uma seleção em Mundo Novo deu origem a cultivar Acaíá, que apresenta sementes de tamanho maior. O gene mutante que determina a redução do comprimento dos internódios foi à mutação genética mais importante em café arábica, e ocorreu na cultivar Bourbon Vermelho, dando origem, por seleção, em 1930, a cultivar Caturra (SANTOS, 2012).

Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho foram originadas de hibridação entre Caturra Amarelo e Mundo Novo realizada em 1949. Estas cultivares apresentaram características de rusticidade e produção semelhante ao Mundo Novo e o porte reduzido da Caturra. As cultivares de Catuaí são as mais plantadas atualmente no Brasil, existindo grande número de linhagens melhoradas de Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo (SANTOS, 2012; SIMON, 2009).

Os programas de pesquisa em melhoramento possuem linhas de pesquisa visando à seleção de plantas e progênies superiores derivadas de cruzamentos interespecíficos. Híbrido de Timor e Icatu, por exemplo, são híbridos interespecíficos utilizados para a transferência de genes de resistência à ferrugem-do-cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) da espécie *C. canephora* para a *C. arabica* (SIMON, 2009). A ferrugem é a principal doença da cultura do café no Brasil e o Instituto Agrônomo do Paraná vem estudando esse problema e desenvolvendo e recomendando o cultivo de cultivares híbridas.

Icatu Vermelho é um híbrido interespecífico resultante do cruzamento artificial entre *C. canephora* e *C. arabica* (Mundo Novo cv. Bourbon Vermelho) (SANTOS, 2012). Icatu Amarelo é um híbrido resultante do cruzamento natural entre Icatu Vermelho e a cultivar Mundo Novo e Bourbon Amarelo, que tem despertado interesse por apresentar plantas vigorosas com alta produtividade se igualando a potencialidade da cultivar Mundo Novo, porém com porte um pouco mais elevado (SANTOS, 2012). Icatu tem sido explorada em cruzamentos com cultivares arábica como Mundo Novo, Bourbon Amarelo e Catuaí (SIMON, 2009).

O Híbrido de Timor é resultante de hibridação natural entre essas duas espécies, e seu cruzamento com as cultivares arábica Caturra e Villa Sarchi deram

origem, respectivamente, às populações denominadas Catimor e Sarchimor. Outras combinações foram desenvolvidas pelos cruzamentos de Híbrido de Timor com Catuaí e Mundo Novo (SIMON, 2009).

As cultivares IAPAR 59, IPR 98 e IPR 99 originaram-se do cruzamento entre *Coffea arabica*, Villa Sarchi 971/10 e o Híbrido de Timor 832/2, realizado no Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (CIFC), em Portugal.

Em 1975, o IAPAR introduziu a geração F3 e por seu desempenho nas regiões de Londrina, Loanda e Carlópolis, demonstrou condições para seu lançamento como cultivar, passando a receber a denominação de IAPAR 59 que tem tido seu cultivo recomendado desde 1993 (REVISTA CAFEICULTURA, 2005a; IAPAR, 2008a).

Após seleção para resistência à ferrugem e produtividade, o IAPAR lançou a IPR 98, que se destaca pela boa qualidade de bebida (IAPAR, 2008b). A cultivar IPR 99 também apresenta resistência à ferrugem, boa qualidade de bebida e alta produtividade nas condições do Paraná (REVISTA CAFEICULTURA, 2005b).

A IPR 103 tem suas origens no cruzamento entre Catuaí e Icatu, realizado pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Em 1977, o IAPAR introduziu o material em sua coleção sob o código IAPAR 77054 e, por meio de método genealógico, foi lançada como IPR 103 que possui boa qualidade de bebida com aroma suave, bom corpo e sabor levemente ácido. Quanto a sua resistência à ferrugem, nas condições de clima e solo do Paraná, a cultivar é tolerante (IAPAR, 2012; RODRIGUES, 2009).

1.2.2. Relação entre as condições de cultivo e produção com a composição e a qualidade de café

Além da cultivar empregada, a diversidade observada nas características do café está diretamente relacionada à forma de cultivo, processos pós-colheita e de produção. Fatores como a altitude, a temperatura, a demanda hídrica, aos tipos e níveis de adubação, a maturação dos grãos e os processos de torra, armazenamento e preparo de bebida influenciam diretamente a composição do café, definindo assim sua qualidade e aceitabilidade sensorial (PIMENTA; VILELA, 2002; ARAÚJO, 2007). O desenvolvimento de uma bebida de café de qualidade está

associado ao teor de proteínas, lipídeos, aminoácidos, carboidratos, ácidos carboxílicos e compostos fenólicos. Além das características diretamente relacionadas a esses componentes, eles são ainda precursores dos compostos responsáveis pelo sabor e aroma formados durante o processo de torra (MONTAVON et al., 2003; SILVA et al., 2005, ABRAHÃO et al., 2010).

O zoneamento climático da cultura de café foi estudado com base nos fatores térmicos e hídricos, e definiu-se uma região considerada apta para o cultivo de café arábica na faixa de 18 a 22°C. Regiões de temperaturas médias anuais entre 17 e 18°C e entre 22 e 23°C são avaliadas como uma área marginal, enquanto acima de 23°C e abaixo de 17°C são consideradas inaptas (CARAMORI et al., 2001). Com relação à altitude, as melhores bebidas são obtidas em regiões acima de 1000 m, onde o nível de chuvas anuais permanece em 1500 mm (SILVA et al., 2005).

No Brasil, está bem estabelecido que cafés de certas regiões como sul de Minas Gerais apresentam melhor qualidade de bebida atribuída à menor temperatura média observada. Possivelmente a baixa temperatura faz com que os frutos de café sofram um processo de maturação mais lento, permitindo que o produto passe por todas as etapas bioquímicas necessárias para o desenvolvimento da qualidade de bebida (SILVA et al., 2005).

A região cafeeira do Paraná está localizada em alta latitude, numa área de transição climática que apresenta grande diversidade de clima e solo. Essas condições interferem na formação e maturação dos frutos, alterando as características intrínsecas do grão, possibilitando uma variedade de tipos de cafés que apresentam potencial para exploração como cafés especiais (ANDROCIOILLI et al., 2003).

Androciolli et al. (2003) estudaram a influência da temperatura da região de cultivo na qualidade de bebida avaliando-se os atributos aroma, acidez, sabor, corpo, doçura e nota global em cafés da cultivar IAPAR 59 de lavouras de 43 municípios do Paraná, empregando-se prova de xícara com escala de 1 a 10. Nas regiões com faixa de temperatura de 19-20°C e 20-21°C a bebida apresentou características de sabor, aroma, acidez, corpo e doçura elevados, com nota global média de 8,90 e 8,48, respectivamente. Os cafés das faixas de temperatura de 21-22°C mostraram-se bem equilibrados e sua nota foi de 7,88. Os cafés das faixas de 22-23°C e 23-24°C foram muito semelhantes entre si, em todas as características, recebendo nota global de 7,57 e 7,40, respectivamente. A bebida de café advinda do

cultivo em região considerada apta (20-21°C) teve o perfil sensorial descrito como bebida de sabor, aroma, doçura e corpo superior àquelas cultivadas em regiões quentes.

A adubação e o estado nutricional da planta podem influenciar a composição do grão e, conseqüentemente a qualidade de bebida. O nitrogênio é o nutriente mais exigido pelas culturas, tendo inúmeras funções, como estimular a formação e o desenvolvimento de gemas floríferas e frutíferas, aumentar a vegetação, o perfilhamento e os teores de proteínas. Além disso, são componentes estruturais de aminoácidos e proteínas, bases nitrogenadas e ácidos nucléicos, coenzimas e vitaminas, pigmentos e outros produtos secundários. Uma adubação nitrogenada aumenta o teor de nitrogênio no grão, o que influencia negativamente a qualidade de bebida (MALTA; NOGUEIRA; GUIMARÃES, 2003). Malta et al. (2008) trabalhando com sistema orgânico de cafés, observaram que, no segundo ano de cultivo orgânico o emprego de esterco bovino isoladamente ou associado com casca de café e adubação verde, proporcionou cafés de melhor qualidade sensorial do que o cultivo convencional.

Os tratamentos pós-colheita aos quais se submete ao café também contribuem para a qualidade do produto. Tratamentos por via seca e úmida são empregados, sendo o primeiro o mais usual no Brasil por sua simplicidade, baixo custo e menor nível de controle durante sua execução. Nesse caso todos os frutos são secos em terreiro, imediatamente após colheita, ou em secadores mecânicos, produzindo o café natural. Na produção de café natural, o fruto é seco integralmente, ocorrendo durante a secagem alterações químicas que modificam o sabor do café. Para que essas mudanças sejam positivas alguns cuidados no manuseio pré e pós-colheita são necessários para evitar o desenvolvimento de microrganismos contaminantes (RIBEIRO et al., 2011).

A presença de defeitos está associada a problemas nos processos de colheita e pós-colheita e altera de forma significativa a composição e qualidade da bebida (FARAH et al., 2006). Os defeitos intrínsecos aparecem devido aos processos inadequados durante a condução da lavoura, na colheita e pós-colheita gerando grãos verdes, pretos, ardidos, chochos, mal granados, conchas, quebrados, brocados e preto-verdes. Os defeitos extrínsecos correspondem aos elementos estranhos ou materiais diferentes dos grãos de café, como o café em coco, o

marinheiro - café com pergaminho, e as cascas, os paus e as pedras, sendo os últimos também denominados como impurezas (QUEIROZ, 2008).

Além dos fatores edafoclimáticos e do tratamento pós-colheita, a composição do grão de café sofre interferência do processo de torra aplicado. É nesta etapa do processamento que ocorre o desenvolvimento de aroma e sabor característicos do café, envolvendo reações complexas com mecanismos ainda relativamente pouco definidos (OOSTERVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003; WANG et al., 2011).

As mudanças que ocorrem nos grãos durante o processo de torra são de natureza física e química e envolvem reações de desidratação, hidrólise, oxidação e catálise, que liberam gases e formam compostos aromáticos (LOPES, 2000; FERNANDES et al., 2001; OOSTERVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003). A torra afeta de forma diferenciada os diversos componentes do produto, como será discutido em detalhes no item 1.2.3. O processo de torra reduz os teores de ácidos clorogênicos e de trigonelina, destacando entre os produtos de degradação deste último o ácido nicotínico (VIANI; HORMAN, 1974; CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 2000; CHAVES et al., 2004; PERRONE; DONANGELO; FARAH, 2008). A cafeína é termoestável a temperaturas de até 230 °C, sendo o composto da fração hidrossolúvel do grão menos afetado pelo processo (MOREIRA; TRUGO; DE MARIA, 2000). Durante a torra, a sacarose é transformada em produtos de reação de Maillard (OOSTERVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003), verificando-se a formação de pigmentos e voláteis que darão origem às características específicas do café (LOPES, 2000). Ácido quínico apresenta ligeiro aumento durante a torra em consequência da degradação dos ácidos clorogênicos, porém a degradação não acontece de forma proporcional, pois ocorre formação de compostos como lactonas de ácidos clorogênicos e lactonas de ácido quínico (BALZER, 2001). Os ácidos málico e cítrico sofrem degradação, formando a partir do cítrico compostos como ácidos citracênico, glutárico, itacênico, mesacênico e succínico e, a partir do málico, os ácidos fumárico e maléico (BALZER, 2001). Alcazár et al. (2003) relata que para cafés arábicas o ácido cítrico sofreu redução após a torra de 852 para 522 mg 100 g⁻¹ e de 414 para 174 mg 100 g⁻¹ para ácido málico. Com relação à fração lipídica, a torra aumenta seu teor proporcionalmente devido à degradação de outros componentes, principalmente carboidratos (LAGO, 2001; SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006). Os diterpenos caveol e cafestol, geralmente são descritos por

apresentar uma relativa estabilidade à temperatura (URGERT et al., 1995; CAMPANHA, 2010; DIAS et al., 2012).

Com base nestes dados, para uma avaliação da composição e qualidade de diferentes cultivares seria necessário empregar as mesmas condições de cultivo (clima, solo e adubação), processamento pós-colheita e processo de torra.

1.2.3. Compostos bioativos e de interesse para a qualidade de bebida

1.2.3.1. Ácidos carboxílicos e açúcares

A variabilidade genética é responsável pela diversidade de composição do café (SCHOLZ et al., 2000) e afeta a acidez e o conteúdo de açúcares e consequentemente a qualidade sensorial (MEDINA FILHO, 2007). Os ácidos no café têm papel importante no desenvolvimento da planta por ajudar na quelação e neutralização da toxicidade do alumínio, promovendo rápida adaptação ao metabolismo celular e também ativando e anexando nutrientes importantes ao redor das raízes das plantas (PING; RONG, 2006). Em determinados estágios do desenvolvimento dos frutos ocorrem o acúmulo de ácidos que compoem um grupo metabolicamente diverso, como por exemplo, os ânions citrato e malato, são metabolizados no ciclo de Krebs, enquanto o ácido quínico e ascórbico estão associados a outros mecanismos (FAMIANI et al., 2005).

Os principais ácidos no café verde são cítrico, málico, clorogênico e quínico (estruturas no Anexo A), responsáveis por cerca de 11% do peso dos grãos de café verde e por 6%, nos grãos torrados (BALZER, 2001). O conteúdo de ácidos carboxílicos em cafés está altamente associado com o nível de maturação dos grãos (ROGERS et al. 1999). Concentrações de ácido quínico e málico diminuem com desenvolvimento do processo de maturação (ROGERS et al. 1999). Ácido cítrico tem comportamento oposto, apresentando menores valores nos estágios iniciais do desenvolvimento do grão com um aumento de 1280 e 1580 mg 100 g⁻¹ durante a maturação (ROGERS et al., 1999). Variações no conteúdo de ácido cítrico, quínico e málico estão associadas a variabilidade genética e tem sido relatado para outros frutos climatéricos como pêssegos (SOUTY et al., 1999).

Fatores como espécie e variedade, condições de cultivo, estágio de maturação, processo de torra e processo de preparo e armazenamento da bebida

influenciam o perfil de ácidos carboxílicos (ROGERS et al., 1999; VERARDO et al., 2002). Os ácidos acético e láctico parecem ser gerados durante o processo de torra por meio de precursores como carboidratos em especial a sacarose (BALZER, 2001; GINZ et al., 2001). O conteúdo desses ácidos, principalmente na forma livre, exerce influência sobre a acidez da bebida de café (VERARDO et al., 2002).

Ácido quínico apresenta ligeiro aumento durante o processo de torra em consequência da degradação dos ácidos clorogênicos, porém a degradação não acontece de forma proporcional, pois ocorre formação de compostos como lactonas de ácidos clorogênicos e lactonas de ácido quínico (BALZER, 2001). Os ácidos málico e cítrico também sofrem degradação, formando compostos como ácidos citracânico, glutárico, itacônico, mesacônico, succínico, fumárico e maléico (BALZER, 2001).

Steiman (2003) descreve valores de 570, 410 e 1370 mg 100g⁻¹ para ácidos quínico, málico e cítrico, respectivamente em café verde. Em café torrado, Alcázar et al. (2003) relataram teores de 174 e 522 mg 100g⁻¹ para ácidos málico e cítrico, respectivamente.

Ácidos carboxílicos de baixa massa molecular contribuem para sabor e aroma do café e a maioria deles são voláteis. A acidez da bebida de café (juntamente com o aroma e amargor) é reconhecida como um importante atributo na qualidade sensorial. Em cafés arábica, que apresentam alta qualidade sensorial em especial nos graus de torra clara ou média, o gosto com maior destaque é o ácido (GALLI; BARBAS, 2004).

Os correspondentes precursores e mecanismos de formação de ácidos alifáticos em café foram estudados por Ginz et al. (2000), onde a sacarose, se apresentou como principal precursor de ácidos fórmico, acético, glicólico e láctico.

A concentração e a presença de açúcares, em especial sacarose, frutose e glicose, estão relacionadas principalmente ao estágio de maturação do fruto. A sacarose aumenta à medida que o café amadurece, enquanto que a frutose e a glicose diminuem ao final do ciclo (MAZZAFERA, 1999; ROGERS et al., 1999).

A sacarose é o carboidrato mais abundante no café verde e atua como um precursor de aroma durante o processo de torra gerando várias classes de compostos tais como furanos, aldeídos e ácidos carboxílicos (OOSTERVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003; PERRONE; DONANGELO; FARAH, 2008).

Durante o processo de torra do café, os açúcares redutores reagem com aminoácidos (reação de Maillard), dando origem a compostos coloridos desejáveis, responsáveis pela cor marrom do café, e compostos como aminoacetonas e aminoaldoses que após algumas reações formam numerosos compostos voláteis, que apresentam grande efeito no aroma do produto final (GINZ et al., 2000; PÁDUA; PERREIRA; FERNANDES, 2012). As condições de torra influenciam na degradação dos polissacarídeos, sendo que a estabilidade térmica está relacionada aos diferentes tipos de açúcares (OOSTERVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003; BEKEDAM et al., 2007; WANG et al., 2011).

1.2.3.2. Cafeína

Metilxantinas e ácidos metilúricos são derivados de alcalóides purinas. Dentre o grupo das xantinas, que incluem a teofilina e a teobromina, a cafeína (1,3,7 – trimetilxantina) é a de maior ação no sistema nervoso central. Esse composto apresenta solubilidade em água quente, sabor amargo e é inodoro (ASHIHARA; SUZUKI, 2004; MOREIRA; TRUGO; DE MARIA, 2005).

A cafeína (estruturada no Anexo A) é sintetizada em apenas alguns grupos de plantas, sendo encontrada em todas as partes do cafeeiro, porém com mais abundância nas flores, nas sementes e nas folhas mais novas (CHAVES et al., 2004). O teor de cafeína nos grãos depende da espécie e cultivar, método de cultivo, condições de crescimento e aspectos sazonais (HEČIMOVIĆ et al., 2011). Em grãos verdes de *C. arabica*, o conteúdo médio é de 1,0 g 100 g⁻¹ (CHAVES et al., 2004; BAGGIO, 2006). Para café arábica torrados são citados valores na faixa de 0,57 a 1,61 g 100 g⁻¹ (CASAL et al., 2000; FRANCA et al., 2005; ALVES et al., 2006).

A estabilidade da cafeína ao processo de torra é atribuída ao aumento de seu ponto de sublimação com o aumento da pressão no interior do grão e a uma baixa taxa de difusão do vapor através das camadas externas (MORAIS; TRUGO; DE MARIA, 2000).

Quanto ao aspecto sensorial, a cafeína é um dos principais responsáveis pelo sabor amargo no café, também associado à presença de trigonelina e compostos fenólicos (SCHOLZ, 2008).

A cafeína apresenta ação farmacológica variada, provocando, dentre outros efeitos, o aumento da capacidade de alerta e redução da fadiga, concomitante

melhora no desempenho de atividades que requeiram maior vigilância. Em contrapartida, o consumo de cafeína pode afetar negativamente o controle motor e a qualidade do sono, bem como causar irritabilidade em indivíduos com quadro de ansiedade (HIGDON; FREI, 2006; DE MARIA; MOREIRA, 2007; GLADE, 2010; HEČIMOVIĆ et al., 2011). Para avaliar este efeito farmacológico foram realizados estudos de cultivares livres de cafeína (TEIXEIRA et al., 2012) e ensaios para elucidar a relação precisa entre a quantidade consumida de cafeína e efeito fisiológico (HEČIMOVIĆ et al., 2011).

Outro efeito atribuído à cafeína e seus metabólitos no organismo é sua capacidade antioxidante e o mecanismo de ação sugerido é devido à presença de um anel amidazol intacto e a existência de um doador de elétrons na posição C8 do grupo imidazol (GOMÉZ-RUIZ; LEAKE; AMES, 2008). Cafeína também tem sido investigada por sua ação antioxidante contra danos oxidativos em microsomas hepáticos em ratos. A indução dos danos ocorre por três espécies reativas de oxigênio (hidroxil, peroxil e oxigênio singlete) que possuem ações danosas sobre a membrana *in vivo*. Testes foram realizados e os resultados mostraram que a cafeína, em concentrações milimolares, inibiu a peroxidação lipídica contra as três espécies, e com maior eficácia contra oxigênio singlete (GEORGE; RAMALAKSHMI; RAO, 2008).

Abreu et al. (2011) avaliando o efeito da ingestão de cafeína e café em ratos, relatam que, além de melhorar as funções cognitivas, o consumo de café modulou o sistema antioxidante endógeno no cérebro e apresentou ação protetora quando administrada antes do agente genotóxico em vários testes *in vivo*.

1.2.3.3. Trigonelina

A trigonelina é uma N-metil betaína (estrutura no Anexo A) e é conhecida por contribuir para a formação de compostos com aromas e sabores agradáveis (furanos, pirazina, alquilpiridinas e pirroles) ocorrida durante a torra do café (PERRONE; DONANGELO; FARAH, 2008; KY et al., 2001).

Nos grãos verdes de *C. arabica*, a trigonelina está presente em teores de aproximadamente 0,6 a 0,9 g 100 g⁻¹ (FRANCA; MENDONÇA; OLIVEIRA, 2005; KY et al., 2001). Devido a instabilidade à temperatura, para café arábica torrado são

citados valores na faixa de 0,17 a 0,99 g 100 g⁻¹ (CASAL et al., 2000; FRANCA et al., 2005; ALVES et al., 2006).

A trigonelina é solúvel em água e é responsável por grande parte do amargor encontrado no café. Os produtos de degradação da trigonelina, derivados de pirrol, são precursores de aroma e gosto amargo e isso se reflete nas características de bebida (VIANI; HORMAN, 1974; ZHENG; NAGAI; ASHIHARA, 2004; MALTA; CHAGAS, 2009). Desmetilação da trigonelina durante a torra gera o ácido nicotínico (estrutura no Anexo A), que está disponível na bebida, em contraste com fontes naturais onde está presente na forma ligada (CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 2000; PERRONE; DONANGELO; FARAH, 2008). Esse composto, no entanto, é também degradado com o aumento da intensidade do processo. Segundo Casal et al. (2000), o teor de ácido nicotínico aumenta com o aumento da intensidade da torra, porém após 15 minutos a 240°C ocorre uma diminuição desse teor demonstrando a instabilidade térmica desse composto.

A trigonelina apresenta atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* (associada a cáries dentárias), e *in vitro* possui atividade na regeneração de neurônios correlacionando-se este efeito à melhora da memória espacial de ratos (ALLRED et al., 2009). Apresenta também ação de inibição da invasão de câncer em células de fígado *in vitro* e pode também atuar como um fitoestrógeno (ALLRED et al., 2009). Lang et al. (2011) relataram ainda a redução na incidência de diabetes tipo 2, e ação indutora de desintoxicação enzimática e efeito quimioprotetora de N-metilpiridina, produto de degradação da trigonelina com a torra. Daglia et al. (2004) avaliando compostos com ação antioxidante no café (capacidade de seqüestrar radicais OH) verificou que a concentração de 3 mM de trigonelina inibe a degradação da deoxirribose em 19,3% *in vitro* e 15,7% em condições *ex vivo*. Neste mesmo estudo o ácido nicotínico apresentou mesma eficiência de ação antioxidante empregando 0,15 mM de concentração *in vivo* e para ensaios *ex vivo* sua inibição foi de 23,2%.

1.2.3.4. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários que atuam na adaptação e proteção da planta ao estresse ambiental (FARAH; DONANGELO, 2006; MONTEIRO; FARAH, 2012). Os polifenóis presentes no café exercem ação

protetora e antioxidante dos aldeídos, quando em qualquer condição adversa dos grãos, como colheita inadequada, problemas no processamento e armazenamento. Contribuem, ainda, para o sabor e aroma do produto final (FERNANDES et al., 2012).

Ésteres quínicos de ácidos hidroxicinâmicos, conhecidos como ácidos clorogênicos (ACG), estão presentes em quantidade de 5 a 8 g 100 g⁻¹ nos grãos verdes de café arábica (FARAH; DONANGELO, 2006). Os ACGs possuem composição muito complexa e no café verde são encontrados cinco grupos principais: monoésteres de ácido cafeico (ácidos cafeoilquínicos), monoésteres do ácido p-cumárico (ácidos cumaroilquínicos, monoésteres de ácido ferúlico (ácidos feruloilquínicos, diésteres de ácido cafeico (ácidos dicafeoilquínicos) e diésteres de ácido cafeico e ferúlico (ácidos dicafeoilquínico). Os ACGs são sensíveis ao processo de torra formando principalmente, o ácido quínico (BALZER, 2001). A produção excessiva e/ou a degradação do ácido quínico tem sido associada à acidez indesejável quando o café é excessivamente torrado (acima de 20% de perda de peso) ou quando a bebida do café permanece em aquecimento após o preparo (SCHOLZ, 2008; COFFEE RESEARCH INSTITUTE, 2012).

O processo de torra ocasiona a destruição de alguns compostos fenólicos devido a sua instabilidade térmica, e são degradados em fenóis derivados. Durante esta degradação térmica parte dos ácidos clorogênicos é isomerizada, outra é transformada em quinolactonas por desidratação e formação de uma ligação intramolecular e por fim outra parte é hidrolizada e degradada em compostos de baixo peso molecular (LELOUP et al., 1995; DAGLIA et al., 2000; FARAH; DONANGELO, 2006).

O representante majoritário dos ACG é o ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ) (estrutura no Anexo A) (TRUGO; MACRAE, 1984; KY; NOIROT; HAMON, 1997; DE MARIA; MOREIRA, 2004;), empregado nesse trabalho como um representante da categoria. Em cafés arábica torrados são citados valores na faixa de 0,09 a 0,47 g 100 g⁻¹ (FRANCA et al., 2005; ALVES et al., 2006).

Entre as funções biológicas dos ACG são descritos a ligação a centros opióides do cérebro, atividade inibitória de enzimas associadas à replicação do vírus HIV, aumento da imunidade devido ao efeito indutor na replicação e na mobilidade de macrófagos em camundongos, e ação anti-mutagênica (MONTEIRO; TRUGO, 2005; HIGDON; FREI, 2006; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). Farah e Donangelo

(2006) descrevem outras funções como atividade hepatoprotetora, hipoglicêmica e antiviral.

Os ácidos clorogênicos têm atividade antioxidante, por atuarem como sequestrantes de radicais, e pela capacidade doadora de hidrogênio e habilidade de estabilizar os radicais fenoxil resultantes (MARINOVA; TONEVA; YANISHLIEVA, 2009; HEČIMOVIĆ et al., 2011). Daglia et al. (2004) estudaram em cafés verdes e torrados das espécies *C. arabica* e *C. canephora* a atividade anti-radicaís hidroxil avaliada *in vitro* e em sistema celular biológico. Não se observou diferença *in vitro*, mas nos ensaios biológicos foi observada uma maior proteção anti-radicaís nas amostras de café torrado de *C. canephora* e, entre os compostos avaliados, o 5-ACQ foi o mais eficiente nos ensaios biológicos.

1.2.3.5. Melanoidinas

Durante o processamento térmico de alimentos pode ocorrer a reação de Maillard, que resulta numa grande variedade de produtos. Devido à alta reatividade dos compostos intermediários formados, ocorrem ciclizações, reações de desidratação, retroaldolizações, rearranjos, isomerizações e condensações, resultando em compostos aromáticos de baixa massa molecular e melanoidinas. As melanoidinas são responsáveis pela coloração marrom, possuem alta massa molecular e a composição final depende dos compostos precursores e da condição da reação (RUFÍÁN-HENARES; MORALES, 2007; BEKEDAM et al., 2008a; KIM; LEE, 2009; WANG; QIAN; YAO, 2011).

As melanoidinas são um dos mais importantes componentes da bebida de café, contribuindo com aproximadamente 25 g 100 g⁻¹ de matéria seca (VIGNOLI, 2009). Com relação ao efeito da torra na formação de melanoidinas do café, Bekedam et al. (2008b) observaram que no início ocorre a formação de melanoidinas de massa molecular (MM) intermediária e a torra prolongada conduz a formação de melanoidinas de alta MM (>12-14 KDa). Em estudo para elucidação da estrutura das melanoidinas de café, Bekedam et al. (2008c) descreveram a presença de produtos de degradação de ACG (ácidos cafeico e quínico).

A formação de melanoidinas no café ocorre pela incorporação de ácidos clorogênicos, tornando-a não somente de interesse por conferir coloração marrom à bebida, mas também por expressiva atividade antioxidante, que tem sido associada

à capacidade quelante de metais e desativação de radicais (DAGLIA et al., 2000; BORRELLI et al., 2002; BEKEDAM et al., 2008b). Vários estudos avaliaram a relação entre a atividade contra grupos peróxido, e radicais (AAPH e ABTS) e a intensidade de cor das frações de melanoidinas (BORRELLI et al., 2002; RUFÍÁN-HENARES; MORALES, 2007; GÓMEZ-RUIZ et al., 2008).

Bekedam et al. (2008d) estudaram a atividade antioxidante da melanoidina empregando um radical (TEMPO) que não é seqüestrado por ácidos clorogênicos, a fim de avaliar a atividade antioxidante sem a interferência de compostos fenólicos, e outro (Fremy radical), para analisar a fração fenólica. Os autores relatam que a manutenção da atividade antioxidante (AA) com o aumento da intensidade da torra pode ser atribuída à incorporação de polifenóis na estrutura das melanoidinas. Os autores observaram que, apesar do processo de torra gerar compostos antioxidantes, os compostos fenólicos possuem maior contribuição para a atividade antioxidante total da bebida.

Outras propriedades funcionais ligadas às melanoidinas foram estudadas como atividade antimicrobiana (RUFÍÁN-HENARES; MORALES, 2008), ação sobre as enzimas xenobióticas (WANG; QIAN; YAO, 2011), e ação prebiótica e antihipertensiva (RUFÍÁN-HENARES; MORALES 2007).

Considerando que as melanoidinas são produtos escuros formados na reação de Maillard, a determinação de compostos escuros pela leitura da absorvância a 420 nm tem sido tradicionalmente citada como uma forma de estimar a melanoidina em produtos de café (LÓPEZ-GALILEA; PAZ DE PEÑA; CID, 2007; RUFÍÁN-HENARES; MORALES, 2007; WANG; QIAN; YAO, 2011).

1.2.3.6. Diterpenos

Os diterpenos são compostos formados por quatro unidades de isopreno (C_5H_8) (SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006), e estão presentes no café em sua forma livre ou esterificados com os ácidos palmítico, linoléico e esteárico (KURZOCK; SPEER 2001). Nos grãos verdes de café são encontrados até quatro diterpenos pentaciclos (caveol, cafestol, 16-O-metilcafestol e 16-O-metilcaveol), sendo os dois primeiros os mais frequentes e relevantes (estruturas no Anexo A).

Kurzock e Speer (2001) relatam teores de 250 a 670 mg 100 g⁻¹ e 90 a 350 mg 100 g⁻¹ para cafestol e caveol, respectivamente, em cafés arábica verde.

A estabilidade dos diterpenos em relação a torra ainda é controversa na literatura. Speer e Kölling-Speer (2006) relataram que, com o processo de torra, caveol e cafestol podem ser degradados formando dehidroderivados (dehidrocafestol e dehidrocaveol) e outros produtos de decomposição (cafestal, isocaveol e dehidroisocaveol). Os autores descrevem perdas com a torra para os diterpenos na forma esterificada (KURZOCK; SPEER, 2001), e maior redução (de até 80%) para os compostos na forma livre (3,5% do total de diterpenos no grão verde). Campanha, Dias e Benassi (2010) descreveram valores médios de 780 a 800 mg de caveol 100 g^{-1} e 420 a 460 mg de cafestol 100 g^{-1} para cafés arábica com diferentes graus de torra, e não observaram redução de diterpenos com o aumento de intensidade do processo. Urgert et al. (1995) relatam que em torras mais intensas (até 26,5 % de perda de peso do grão) não houve a redução no teor de diterpenos no café arábica, se mantendo a concentração em 560 mg 100 g^{-1} e 730 mg 100 g^{-1} para cafestol e caveol, respectivamente.

Dias et al. (2011), avaliando a degradação de cafestol e caveol (a 230°C por 2-10 min), observaram a formação de dehidro derivados (dehidrocafestol e dehidrocaveol) em torras mais intensas. No entanto, os autores relatam que, tendo em vista o aumento proporcional de lipídios no grão com a torra (devido a perda de outros componentes termo sensíveis), os teores de caveol e cafestol se mantiveram estáveis durante este processo.

Os diterpenos têm chamado a atenção por seus efeitos sobre a saúde e tem sido relatado em diversos trabalhos enfocando tanto aspectos positivos quanto negativos de sua ingestão.

A ingestão diária de altas concentrações de cafestol (10 mg) foi relacionada com o aumento do colesterol sérico em humanos (CRUCHTEN et al., 2010). O efeito de elevação de colesterol (total e LDL), triglicerídeos e alanina aminotransferase (ALT) tem sido atribuído à ingestão de cafés fervidos sem um processo de filtração que possa reter os diterpenos (SPEER et al., 1991; ROOS et al., 1997; KURZOCK; SPEER, 2001, ARAÚJO; SANDI, 2006; SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006; CRUCHTEN et al., 2010). Urgert et al. (1995) avaliando bebidas de café preparadas por diversos métodos verificaram que ocorre uma retenção de diterpenos nos filtros de café e que para cafés instantâneos o teor é desprezível. Os níveis de diterpenos são altos em cafés do tipo “French press” (3,5 e 4,4 mg 150 mL^{-1} de cafestol e caveol, respectivamente), “Escandinavo evaporado” (3,0 e 3,9 mg 150 mL^{-1} de

cafestol e caveol, respectivamente) e “turco/grego” (3,9 e 3,9 mg 150 mL⁻¹ de cafestol e caveol, respectivamente).

Em contraposição, os diterpenos têm sido associados com efeito protetor contra câncer de colo, à indução da degradação de substâncias tóxicas e à ação protetora contra a aflatoxina B1, ação antioxidante e antiinflamatória e efeito hepatoprotetor (ROOS et al., 1997; CAVIN et al., 2002; KIM et al., 2006, LEE; CHOI; JEONG, 2007; MURIEL; ARAUZ, 2010; CHU et al., 2011).

1.2.4. Atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante em alimentos deve levar em consideração a composição e a propriedade antioxidante dos constituintes e os efeitos biológicos que irão depender da biodisponibilidade deste antioxidante (ROGINSKI; LISSI, 2005).

Segundo Prior, Wu e Schaich (2005), por não haver um método que seja universal para quantificar e medir precisamente a atividade antioxidante, a escolha do método mais apropriado deve seguir critérios como: medir compostos que realmente ocorrem em potenciais aplicações, fonte de radical com relevância biológica, deve ser de simples execução, mecanismo químico definido, adaptáveis para antioxidantes de natureza lipofílica e hidrofílica bem como em diferentes fontes de radicais.

Duas categorias de métodos podem ser aplicados para a avaliação da atividade antioxidante: diretos e indiretos. Os métodos diretos são baseados em estudos do efeito de um alimento contendo antioxidante na degradação oxidativa de um sistema teste. Os métodos indiretos estão associados com a habilidade do antioxidante em sequestrar alguns radicais livres que não estão envolvidos na real degradação oxidativa, como os radicais livres estáveis e coloridos (ROGINSKI; LISSI, 2005).

Na avaliação por métodos diretos, usualmente são empregados sistemas onde ocorre competição, entre uma sonda oxidável e o antioxidante, pelos radicais gerados por uma fonte (ROGINSKI; LISSI, 2005). Como substratos para oxidação podem ser utilizados lipídios, proteínas, DNA, ou espécies biológicas relevantes como plasma sanguíneo, membranas biológicas, etc. A peroxidação lipídica é a mais conveniente, porque a cinética da lipoperoxidação já foi teórica e experimentalmente

bem estudada (ROGINSKI; LISSI, 2005). Entre esses métodos, a detecção espectrofotométrica de dienos conjugados formados (auto-oxidação de ácido linoléico) em uma mistura do extrato com um sistema emulsão de ácido linoléico e sob condições de oxidação acelerada em alta temperatura permite calcular a porcentagem de atividade antioxidante do extrato (CHANDA; DAVE, 2009).

Em ensaios indiretos, diferentes mecanismos de atividade antioxidante são explorados. Os processos muitas vezes empregam um radical livre ou oxidante, geralmente uma sonda para monitorar a reação, associados ao antioxidante. A sonda ao ser reduzida ou seqüestrada pelo antioxidante sofre mudanças colorimétricas, onde a intensidade é proporcional à atividade deste antioxidante ou à concentração do mesmo (ROGINSKI; LISSI, 2005; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

Dentre os métodos indiretos destaca-se o ensaio TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*) que se baseia na habilidade dos antioxidantes em sequestrar o cátion radical de longa vida ABTS^{•+}, reduzindo a coloração do extrato. Termodinamicamente, um composto pode reduzir ABTS^{•+} quando tem um potencial redox menor que o ABTS (0,68 V), o que acontece com muitos compostos fenólicos. A atividade antioxidante é usualmente expressa em g de Trolox 100 g⁻¹ ou mmol equivalente de Trolox g⁻¹. Valores de 2,28 a 6,31 g de Trolox 100 g⁻¹ são citados para cafés torrados comerciais brasileiros (ALMEIDA; BENASSI, 2011).

O ensaio Folin-Ciocalteu, tradicional método de quantificação de compostos fenólicos totais, mede a capacidade antioxidante de uma amostra pela presença de fenóis que são oxidados em meio básico (reações de óxi-redução), resultando na formação do O₂⁻, o qual reage com os ácidos formando compostos (coloração verde) com uma intensa absorção próximo a 750 nm. Os resultados são usualmente expressos em equivalente de ácido gálico ou g de ácido gálico 100 g⁻¹ de produto (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005). Valores de 1,58 a 4,11 g 100 g⁻¹ foram descritos para cafés torrados comerciais brasileiros comercializados com várias denominações (tradicional, forte, extra-forte, Premium, aralto, exportação, expresso e gourmet) (ALMEIDA; BENASSI, 2011).

1.3. OBJETIVO GERAL

Comparar o perfil de componentes bioativos e/ou de importância para a qualidade da bebida, a atividade antioxidante e as características sensoriais de cafés arábica de diferentes cultivares (IAPAR 59, IPR 98, IPR 99, IPR 103, Bourbon vermelho, Catuaí vermelho e Icatu) produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas.

1.4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar e comparar os teores de cafestol, caveol, cafeína, trigonelina, 5-ACQ, ácidos carboxílicos (ácidos quínico, málico e cítrico), e açúcares totais e redutores nos cafés verdes.

Determinar e comparar os teores de cafestol, caveol, ácido nicotínico, cafeína, trigonelina, 5-ACQ e melanoidinas nos cafés torrados.

Avaliar e comparar a atividade antioxidante dos cafés torrados por diferentes metodologias (Folin Ciocalteu, TEAC, e auto-oxidação do ácido linoléico).

Verificar a influência da composição na atividade antioxidante dos cafés torrados.

Avaliar as características sensoriais das bebidas de café através do método Análise Descritiva de Perfil Livre.

Avaliar a aplicação da relação caveol/cafestol na caracterização de diferentes origens genéticas, avaliando duas safras em matrizes de café verde e torrado.

REFERÊNCIAS

ABIC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. Tendência de Consumo de Café VIII – 2010. Disponível em:
http://www.abic.com.br/publique/media/EST_PESQTendenciasConsumo2010.pdf,
Acesso em: 17 setembro 2012.

ABIC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. Boletim Carvalhaes N° 26, 2012a. Disponível em: <http://abic.com.br/asp/noticias_noticia.asp?cod=585>.
Acesso em: 17 setembro 2012.

ABIC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. A história do café – Origem e Trajetória. 2012b. Disponível em: <http://abic.com.br/scafe_historia.html>, Acesso em: 17 setembro 2012.

ABRAHÃO, S.A.; PEREIRA, R.G.F.A.; DUARTE, S.M.S.; LIMA, A.R.; ALVARENGA, D.J.; FERREIRA, E.B. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 414-420, 2010.

ABREU, R.V.; SILVA-OLIVEIRA, E.M., MORAES, M.F.D., PEREIRA, G.S., MORAES-SANTOS, T. Chronic coffee and caffeine ingestion effects on the cognitive function and antioxidant system of rat brains. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Phoenix, v. 99, n.4, p. 659–664, 2011.

ALCÁZAR, A.; FERNÁNDEZ-CÁCERES, P.L.; MARTÍN, M.J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A.G. Ion chromatographic determination of some organic acids, chloride and phosphate in coffee and tea. **Talanta**, Amsterdam, v.61, n. 1, p. 95-101, 2003.

ALLRED, K.F.; YACKLEY, K.M.; VANAMALA, J.; ALLRED, C.D. Trigonelline is a novel phytoestrogen in coffee beans. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.139, n.10, p. 1833–1838, 2009.

ALMEIDA, M.B.; BENASSI, M.T. Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1893-1900, 2011.

ANDROCIOLI FILHO, A.; LIMA, F.B.; TRENTO, E.J.; CARNEIRO FILHO, F.; CARAMORI, P.H.; SCHOLZ, M.B.S. Caracterização da qualidade da bebida dos cafés produzidos em diversas regiões do Paraná. In: III Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2003, Porto Seguro. **Anais...** Brasília: Embrapa Café, 2003, p. 256-257.

ARAÚJO, F.A. **Café (*Coffea arabica*, L.) submetido a diferentes condições de torrefação: caracterização química e avaliação da atividade antioxidante e sensorial**. 2007. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ARAÚJO, J.M.A.; SANDI, D. Extraction of coffee diterpenes and coffee oil using supercritical carbon dioxide. **Food Chemistry**, Oxford, v. 101, n.3, p. 1087-1094, 2006.

ASHIHARA, H; SUZUKI, T. Distribution and biosynthesis of caffeine in plants. **Frontiers in Bioscience**, Tampa, v.9, n.1, p.1864-1876, 2004.

BAGGIO, J. **Avaliação dos resíduos (casca e pó orgânico) de café (*Coffea arabica* L.) como provável fonte de substâncias bioativas**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

BALZER, H.H. 1 B Acids in coffee. In: **Coffee Recent Developments**; Clarke, R.J., Vitzthum, O.G., Eds.; Blackwell Science: Berlin, 2001, p. 18.

BASSOLI, D.G. **Impacto aromático dos componentes voláteis do café solúvel: uma abordagem analítica e sensorial**. 2006. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.

BEKEDAM, E. K.; MARIEKE, P. F. C. De L.; SCHOLS, H. A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; SMIT, G. Arabinogalactan proteins are incorporated in negatively charged coffee brew melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.55, n. 3, p. 761-768, 2007.

BEKEDAM, E. K.; ROOS, E.; SCHOLS, H. A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; SMIT, G. Low molecular weight melanoidins in coffee brew. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 56, p. 4060–4067, 2008a.

BEKEDAM, E.K.; SCHOLS, H.A.; BOEKEL, T.V.; SMIT, G. Incorporation of chlorogenic acids in coffee brew melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.56, n.6, p. 2055-2063, 2008b.

BEKEDAM, E.K.; LOOTS, M.J.; SCHOLS, H.A.; VAN BOEKEL, M.A.J.S.; SMIT, G. Roasting Effects on Formation Mechanisms of Coffee Brew Melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.56, n.16, p. 7138–7145, 2008c.

BEKEDAM, E.K.; SCHOLS, H.A.; CÄMMERER, B.; KROH, L.W.; VAN BOEKEL, M.A.J.S.; SMIT, G. Electron spin resonance (ESR) studies on the formation of roasting-induced antioxidative structures in coffee brews at different degrees of roast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 56, n.12, p. 4597–4604, 2008d.

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**, Columbus, v. 50, n.22, p. 6527-6533, 2002.

BRAGANÇA, S.M.; CARVALHO, C.H.S.; FONSECA, A.F.A; FERRÃO, R.G. Variedades clonais de café conillon para o Estado do Espírito Santo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.5, p.765-770, 2001.

BUTT, M.S.; SULTAN, M.T. Coffee and its consumption: benefits and risks. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.51, n.4, p. 363-373, 2011.

CAMPANHA, F. G.; DIAS, R.C.E.; BENASSI, M.T. Discrimination of coffee species using kahweol and cafestol: effects of roasting and of defects. **Coffee Science**, Lavras, v. 5, n. 1, p. 87-96, 2010.

CARAMORI, P.H.; CAVIGLIONEI, J.H.; WREGE, M.S.; GONÇALVES, S.L.; FARIA, R.T.; FILHO, A.A.; SERA, T.; CHAVES, J.C.D.; KOGUISHI, M.S. Zoneamento de riscos climáticos para a cultura de café (*Coffea arabica* L.) no Estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v.9, n.3, p.486-494, 2001.

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

CAVIN, C.; HOLZHÄUSER, D.; SCHARF, G.; CONSTABLE, A.; HUBER, W. W.; SCHILTER, B. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 40, n. 8, p.1155-1163, 2002.

CEPLAC – COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. Café. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/cafe.htm>>. Acesso em: 17 setembro 2012.

CHANDA, S.; DAVE, R. In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: an overview. **African Journal of Microbiology Research**, Nairobi, v.3, n.13, p. 981-996, 2009.

CHAVES, J.C.D.; MIYAZAWA, M.; BLOCH, M.F.M.; YAMAKAMI, J.K. Estimativa do teor de cafeína nas sementes de café baseada na sua concentração nas folhas de mudas e de plantas adultas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 3, p. 287-292, 2004.

CHU, Y-F.; CHEN, Y.; BLACK, R.M.; BROWN, P.H.; LYLE, B.J.; LIU, R.H.; OUC, B. Type 2 diabetes-related bioactivities of coffee: Assessment of antioxidant activity, NF-kB inhibition, and stimulation of glucose uptake. **Food Chemistry**, Oxford, v.124, n.3, p. 914–920, 2011.

CNC – Conselho Nacional do Café, Cafés do Brasil – Características agrônômicas. Disponível em: <<http://www.cncafe.com.br/conteudo.asp?id=13>>. Acesso em: 17 setembro 2012.

COFFEE RESEARCH INSTITUTE. Coffee. Disponível em: <<http://www.coffeeresearch.org/science/bittermain.htm>>. Acesso em: 17 setembro 2012.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – **Acompanhamento da Safra Brasileira (Café). Primeira Estimativa - Avaliação da Safra Agrícola Cafeeira 2012**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 17 setembro 2012.

CRUCHTEN, S.T.J. VAN; DE HAANC, L.H.J.; MULDERD, P.P.J.; KUNNEE, C.; BOEKSCHOTENA, M.V.; KATANF, M.B.; AARTSC, J.M.M.J.G.; WITKAMPA, R.F. The role of epoxidation and electrophile-responsive element-regulated gene transcription in the potentially beneficial and harmful effects of the coffee components cafestol and kahweol. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Lexington, v. 21, n.8, p. 757–763, 2010.

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

DAGLIA, M.; RACCHI, M.; PAPETTI, A.; LANNI, C.; GOVONI, E.; GAZZANI, G. In vitro and ex vivo antihydroxyl radical activity of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.52, n.5, p. 1700-1704, 2004.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Métodos para análise de ácido clorogênico. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 586-592, 2004.

DE MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 99-105, 2007.

DE SOUZA, R.M.N.; CANUTO, G.A.B.; DIAS, R.C.E; BENASSI, .M.T. Teores de compostos bioativos em cafés torrados e moídos comerciais. **Química Nova**, São Paulo, v.33, n.4, p.885-890, 2010.

DIAS, R.C.E.; FARIA, A.F.; MERCADANTE, A.Z.; BRAGAGNOLO, N.; BENASSI, M.T. Diterpenes profile in coffee: Influence of roasting process. In: AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. **Volume: 242 Meeting Abstract: 156-AGFD Published: AUG 28 2011 Accession Number: WOS: 000299378300118.** Disponível em: http://abstracts.acs.org/chem/242nm/program/view.php?obj_id=91648&terms. Acesso em: 17 setembro de 2012.

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

FAMIANI, F.; CULTRERA, N.G.M.; BATTISTELLI, A.; CASULLI, V.; PROIETTI, P.; STANDARDI, A.; CHEN, Z-H; LEEGOOD, R.C.; WALKER, R.P. Phosphoenolpyruvate carboxykinase and its potential role in the catabolism of organics acids in the flesh of soft fruit during ripening. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 56, n. 421, p. 2959-2969, 2005.

FARAH, A., MONTEIRO, M.C., TRUGO, L.C. Distribuição dos ácidos clorogênicos nos principais defeitos do café. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Londrina, 2005. **Anais...** Brasília: Embrapa - Café, 2005. CD-ROM.

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

FARAH, A.; MONTEIRO, M.C.; CALADO, V.; FRANCA, A.S.; TRUGO L.C. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, Oxford, v. 98, n2, p. 373–380, 2006.

FARAH, A. Coffee Constituents. In: CHU, Y-F. **Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention**, 1ªEd. Oxford: Willey-Blackwell, 2012. p.23-57.

FERNANDES, S.M.; PEREIRA, R.G.F.A.; THÉ, P.M.P.; PINTO, N.A.V.D.; CARVALHO, V.D. Teores de polifenóis, ácido clorogênico, cafeína e proteína em café torrado. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 3, p. 197-199, 2001.

FERNANDES, S; PEREIRA, R.G. PINTO, N.A.V.D. Polifenóis em grãos de cafés arábica e conillon. Disponível em: <www.coffeebreak.com.br/ocafezal.asp>, Acesso em: 17 setembro 2012.

FRANCA, A.S.; MENDONÇA, J.C.F.; OLIVEIRA, S.D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **LWT- Food Science and Technology**, Berlin, v. 38, n.7, p. 709–715, 2005.

GALLI, V.; BARBAS, C. Capillary electrophoresis for the analysis of short-chain organic acids in coffee. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1032, n.1-2, p. 299-304, 2004.

GEORGE, S.E.; RAMALAKSHMI, K.; RAO, L.J. M. A Perception on health benefits of coffee. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 48, n.5, p. 464–486, 2008.

GEROMEL, C. FERREIRA, L. P.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; RIBEYRE, F.; SCHOLZ, M.B.S.; PEREIRA, L.F.P.; VAAST, P.; POT, D.; LEROY, T.; ANDROCIOLI FILHO, A.; VIEIRA, L.G.E.; MAZZAFERA, P.; MARRACCINI, P. Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.46, n.5, p. 569-579, 2008.

GINZ, M.; BALZER, H.H.; BRADBURY, A.G.W.; MAIER, H.G. Formation of aliphatic acids by carbohydrate degradation during roasting of coffee. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 211, n. 6, p. 404–410, 2000.

GLADE, M.J. Caffeine – Not just a stimulant. **Nutrition**, New York, v. 26, n. 10, p. 932–938, 2010.

GÓMEZ-RUIZ, J. A.; AMES, J. M.; LEAKE, D. S. Antioxidant activity and protective effects of green and dark coffee components against human low density lipoprotein oxidation. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 227, n. 4, p. 1017-1024, 2008.

HEČIMOVIĆ, I.; BELŠČAK-CVITANOVIC, A.; HORZIC, D.; KOMES, D. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. **Food Chemistry**, Oxford, v.129, n.3, p. 991–1000, 2011.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Coffee and health: a review of recent human research. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 46, n. 2, p. 101-123, 2006.

IAPAR - Café IPR 103. Semente Básica. Disponível em:
<http://www.iapar.br/arquivos/File/zip_pdf/cafeiapar103.pdf>. Acesso em: 17 setembro 2012.

IAPAR - Café Iapar 59, 2008a, Folheto **Semente Básica**, 2008.

IAPAR - Café IPR 98, 2008b, Folheto **Semente Básica**, 2008.

ICO - International Coffee Organization. Disponível em: <http://www.ico.org/>. Acesso em: 17 setembro 2012.

JONG, S.; HEIDEMA, J.; VAN DER KNAAP, H.C.M. Generalized Procrustes analysis of coffee brands tested by five Europeans sensory panels. **Food Quality and Preference**, Barking, v.9, n.3, p. 111-114, 1998.

KIM, H. G.; KIM, J. Y.; HWANG, Y. P.; LEE, K. J.; LEE, K. Y.; KIM, D. H.; KIM, D. H.; JEONG, H. G. The coffee diterpenes kahweol inhibits tumor necrosis factor- α -

induced expression of cell adhesion molecules in human endothelial cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 217, n. 3, p. 332-341, 2006.

KIM, J.S.; LEE, Y.S. Enolization and racemization reactions of glucose and fructose on heating with amino-acid enantiomers and the formation of melanoidins as a result of the Maillard reaction. **Amino Acids**, Viena, v. 36, n.3, p. 465–474, 2009.

KURZROCK, T.; SPEER, K. Diterpenes and diterpene esters in coffee. **Food Reviews International**, New York, v. 17, n. 4, p. 433-450, 2001.

KY, C. L.; LOUARN, J.; DUSSERT, S.; GUYOT, B.; HAMON, S.; NOIROT, M. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acid and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. **Food Chemistry**, Oxford, v.75, n.2, p.223-230, 2001.

LAGO, R.C.A. Lipídios em grãos de café. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.19, n.2, p. 319-340, 2001.

LANG, R.; WAHL, A.; STARK, T.; HOFMAN, T. Urinary N-methylpyridinium and trigonelline as candidate dietary biomarkers of coffee consumption. **Molecular and Nutritional Food Research**, Weinheim, v.55, n.11, p. 1–11, 2011.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. Descriptive Analysis. In: LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory Evaluation of Food, Principles and Practices**, Food Science Text Series, 2^a Ed., New York: Springer, 2010. p. 227.

LEE, K. J.; CHOI, J. H.; JEONG, H. G. Hepatoprotective and antioxidant effects of the coffee diterpenes kahweol and cafestol on carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 45, n. 11, p. 2118-2125, 2007.

LELOUP, V.; LOUVRIER A.; LIARDON, R. Degradation mechanisms of chlorogenic acids during roasting. In: 16 th International Scientific Colloquium on Coffee ASIC, 1995, Kyoto. **Anais...** Paris: 1995, p.192-198.

LEROY, T.; RIBEYRE, F.; BERTRAND, B.; CHARMETANT, P.; DUFOUR, M.; MONTAGNON, C.; MARRACCINI, P.; POT, D. Genetics of coffee quality. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Pelotas, v.18, n.1, p. 229-242, 2006.

LOPES, L. M. V. **Avaliação da qualidade de grãos crus e torrados de cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

LOPÉZ-GALILEA, I.; DE PENA, M. P.; CID, C. Correlation of selected constituents with the antioxidant capacity of coffee beverages: Influence of the brewing procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 55, n.15, p. 6110–6117, 2007.

MALTA, M.R.; CHAGAS, S.J.R. Avaliação de compostos não-voláteis em diferentes cultivares de cafeeiro produzidas na região sul de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 57-61, 2009.

MALTA, M.R.; NOGUEIRA, F.D.; GUIMARÃES, P.T.G. Composição química, produção e qualidade do café fertilizado com diferentes fontes e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1246-1252, 2003.

MALTA, M.R.; PEREIRA, R.G.FA; CHAGAS, S.J.R.; FERREIRA, D.F. Qualidade sensorial do café de lavouras em conversão para o sistema de produção orgânico. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n.3, p. 775-783, 2008.

MARINOVA, E.M.; TONEVA, A.; YANISHLIEVA, N.. Comparison of the antioxidative properties of caffeic and chlorogenic acids. **Food Chemistry**, Oxford, v. 114, n. 4, p. 1498–1502, 2009.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, Oxford, v. 64, n.4, p. 547-574, 1999.

MEDINA FILHO, H. P. “**A qualidade do café e o melhoramento genérico clássico**”. Campinas: IAC, 2007.

MEISELMAN, H.L. The future in sensory/consumer research: evolving to a better science. **Food Quality and Preference**, Oxford, 2012, in press.

MONTEIRO, M.C.; FARAH, A. Chlorogenic acids in Brazilian *Coffea arabica* cultivars from various consecutive crops. **Food Chemistry**, Oxford, v. 134, n. 1, p. 611-614, 2012.

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

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

MURIEL, P.; ARAUZ, J. Coffee and liver diseases. **Fitoterapia**, Milano, v.81, n.5, p. 297–305, 2010.

NARAIN, C.; PATERSON, A.; REID, E. Free choice and conventional profiling of commercial black filter coffees to explore consumer perceptions of character. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 15, n.1, p. 31–41, 2003.

OLIVEIRA, A. P. V; BENASSI, M. T. Perfil Livre: uma opção para análise sensorial descritiva. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 37, n. supl, p. 66-72, 2003.

OOSTERVELD, A.; VORAGEN, A. G. J.; SCHOLS, H. A. Effect of roasting on the carbohydrate composition of *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 54, n. 2, p. 183-192, 2003.

PÁDUA, F.R.M.; PEREIRA, R.G.F.; FERNANDES, S.M. Açúcares totais em café arábica e conillon. 2012. Disponível em: <www.coffeebreak.com.br/ocafezal.asp>. Acesso em: 17 setembro 2012.

PERRONE, D.; DONANGELO, C. M.; FARAH, A. Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography-mass spectrometry. **Food Chemistry**, Oxford, v. 110, n. 4, p. 1030-1035, 2008.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras-Mg. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, ed. especial, p. 1481-1491, 2002.

PING, W.; RONG Z. Determination of organic acids exuded from plant roots by High Performance Liquid Chromatography. **Chinese Journal of Chromatography**, Dalina Shi, v.24, n.3, p.239-242, 2006.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.53, n.10, p. 4290-4302, 2005.

QUEIROZ, A.F. **Influência do processo de secagem do café na ocorrência do grão melado**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação de Tecnologia em Cafeicultura - Escola Agrotécnica Federal de Muzambinho, Muzambinho, 2008.

REVISTA CAFEICULTURA - Café IAPAR 59 (2005a). Disponível em:
<<http://www.revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=ler&mat=3650>>. Acesso em: 17 setembro 2012.

REVISTA CAFEICULTURA - Café IPR 99 (2005b). Disponível em:
<<http://www.revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=ler&mat=3694>>. Acesso em: 17 setembro 2012.

RIBEIRO, B.B.; MENDONÇA, L.L.; DIAS, R.A.A.; ASSIS, G.A.; MARQUES, A.C. Parâmetros qualitativos do café proveniente de diferentes processamentos na pós-colheita. **Revista Agrarian**, Dourados, v.4, n.14, p.273-279, 2011.

RIZENTAL, J. A. Palestra: **Estado da arte da cafeicultura do Cerrado Brasileiro**. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Araxá - Mg. 22 a 25 de agosto de 2011. Disponível em:
<http://www.simposiocafe.sapc.embrapa.br/images/stories/Palestras/viispcb-palestra3-rizental.pdf>. Acesso em: 17 setembro 2012.

RODRIGUES, R.S. Qual cultivar de café plantar? Informativo n. 213, p 8-11, 2009 Disponível em: <<http://cocari.com/container.php?recurso=informativoMateria.php&codigoMateria=143>>. Acesso em: 17 setembro 2009.

ROGERS, W.J.; MICHAUX, S.; BASTIN, M.; BUCHELI, P. Changes to the content of sugars, sugar alcohols, myo-inositol, carboxylic acids and inorganic anions in developing grains from different varieties of robusta (*Coffea canephora*) and arabica (*C. Arabica*) coffees. **Plant Science**, Limerick, v. 149, n.3, p. 115-123, 1999a.

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

ROOS, B.; VAN DER WEG., G.; URGERT, R.; VAN DE BOVENKAMP, P.; CHARRIER, A.; KATAN, M.B. Levels of cafestol, kahweol, and related diterpenoids in wild species of the coffee plant *Coffea*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 45, n.8, p. 3065-3069, 1997.

RUFÍAN-HENARES, J. A.; MORALES, F. J. Functional properties of melanoidins: in vitro antioxidant, antimicrobial and antihypertensive activities. **Food Research International**, Barking, v.40, n.8, p. 995–1002, 2007.

RUFIAN-HENARES, J.A.; MORALES, F.J. Antimicrobial activity of melanoidins against *Escherichia Coli* is mediated by a membrane-damage mechanism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.56, n.7, p. 2357–2362, 2008.

SANTOS, J.C.F. Origens e características dos cultivares de café. 2012. Disponível em: <<http://www.revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=ler&mat=3696>>. Acesso em: 30 março 2012.

SCHOLZ, M.B.S.; PRETE, C.E.C.; CRUDI, E.; MAGRI, T.B. Composição química de variedades de café (*Coffea arabica*). In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas, 2000. **Resumos expandidos**: Brasília, Embrapa Café; Belo Horizonte: Minasplan, 2000. p. 673-676.

SCHOLZ, M. B. S. **Tipologia dos cafés paranaenses: uma abordagem através da análise fatorial múltipla dos aspectos físico-químicos e sensoriais**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

SILVA, E. A.; MAZZAFERA, P.; BRUNINI, O.; SAKAI, E.; ARRUDA, F.B.; MATTOSO, L.H.C.; CARVALHO, C.R.L.;PIRES, R.C.M. The influence of water

management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Pelotas, v.17, n.2, p. 229-238 2005.

SILVA, E.A; MAZZAFERA, P.; BRUNINI, O.; SAKAI, E.; ARRUDA, F.B.; MATTOSO, L.H.C.; CARVALHO, C.R.L.; PIRES, R.C.M. The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Pelotas, v.17, n. 2, p. 229-238, 2005.

SIMON, M.T. Melhoramento genético de café. 2009. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/bioano02/a2001a23.htm>>. Acesso em: 17 setembro 2009.

SOUTY, M.; GÉNARD, M.; REICH, M.; ALBAGNAC, G. Influence de la fourniture en assimilats sur la maturation et la qualité de la pêche (*Prunus persica* L. 'Suncrest'). **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.79, n. 2, p. 259-268, 1999.

SPEER, K.; TEWIS, R.; MONTAG, A. 16-o-methylcafestol a quality indicator for coffee. In: International Scientific Colloquium On Coffee - ASIC, 1991, San Francisco: **Proceedings...** San Francisco, 1991. p. 237-244.

SPEER, K.; SPEER-KÖLLING. I. The lipid fraction of the coffee bean – Minireview, **Brazilian Journal Plant Physiology**, Pelotas, v.18, n. 1, p.201-216, 2006.

STEIMAN, S.R. **Method development for green coffee analysis and its possible application for group discrimination and correlation of green coffee chemistry with cupping quality**. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências), 2003. Disponível em: http://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/handle/10125/6988/uhm_ms_3785_r.pdf?sequence=2 Acesso em: 17 setembro 2012.

TEIXEIRA, A.L.; PRADO, P.E.R.; DIAS, K.O.G.; MALTA, M.R.; GONÇALVES, F.M. A. Avaliação do teor de cafeína em folhas e grãos de acessos de café arábica, **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 43, n. 1, p. 129-137, 2012.

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

URGERT, R.; VAN DER WEG, G.; KOSMEIJER-SCHUIL, T.G.; VAN DE BOVENKAMP, P.; HOVENIER, R.; KATAN, M.B. Levels of the cholesterol-levating diterpenes cafestol and kahweol in various coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 43, n. 8, p. 2167-2172, 1995.

VERARDO, G.; CECCONI, F.; GEATTI, P.; GIUMANINI, A.G. New procedures for determination of acids in coffee extracts, and observations on the development of acidity upon ageing. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, New York, v.374, n.5, p.879-885, 2002.

VIANI, R.; HORMAN, I. Thermal behavior of trigonelline. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 39, n.6, p. 1216-1217, 1974.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**, Oxford, v.124, n. 3, p. 863-868, 2011.

VIGNOLI, J.A. **Influência das condições de processamento e matéria-prima na composição química e atividade antioxidante do café**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

WANG, H-Y; QIAN, H.; YAO, W-R. Melanoidins produced by the Maillard reaction: structure and biological activity. **Food Chemistry**, Oxford, v.128, n.3, p.573–584, 2011.

VAAST, P.; BERTRAND, B.; PERRIOT, J.J.; GUYOT, B.; GÉNARD, M. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. **Journal of Science Food and Agriculture**, Oxford, v.86, n.1, p.197–204, 2006.

WILLIAMS, A. A.; LANGRON, S. P. A comparison of the aromas of six coffees characterized by conventional profiling, free-choice profiling and similar scaling methods. **Journal of Science and Food Agriculture**, Sussex, v. 36, n. 3, p. 204 - 214, 1985.

WILLIAMS, A. A.; LANGRON, S. P. The use of free-choice profiling for evaluation of commercial port. **Journal of Science and Food Agriculture**, Sussex, v. 35, n. 5, p. 558-568, 1984.

ZHENG, X-Q; NAGAI, C.; ASHIHARA, H. Pyridine nucleotide cycle and trigonelline (N-methylnicotinic acid) synthesis in developing leaves and fruits of *Coffea arabica*. **Physiologia Plantarum**, Sweden, v.122, n.4, p. 404-411, 2004.

CAPÍTULO 2

**IMPACTO DA DIVERSIDADE GENÉTICA NA COMPOSIÇÃO DE CAFÉS
ARÁBICA VERDES PRODUZIDOS NAS MESMAS CONDIÇÕES
EDAFOCLIMÁTICAS**

(A ser submetido a revista Journal of Agricultural and Food Chemistry)

Resumo

Fatores edafoclimáticos, condições de cultivo, processos pós-colheita e a diversidade genética influenciam a composição dos grãos de café verde. O melhoramento busca transferir genes de resistência a doenças via introgressão de genes de outras espécies como *C. canephora*. O objetivo do presente estudo foi avaliar cafés arábica brasileiros de cultivares tradicionais (Bourbon, Catuaí e Icatu) e de cruzamentos modernos (Iapar 59 e IPRs 98, 99 e 103), produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas e submetidos à colheita e tratamentos pós-colheita padronizados, para verificar a influência da diversidade genética em sua composição. Teores de sacarose, açúcares redutores, ácidos carboxílicos (quínico, málico e cítrico), fenólicos totais, 5-ACQ, compostos nitrogenados (proteína, trigonelina e cafeína) e lipídeos, cafestol e caveol foram determinados. Observou-se que a diversidade genética conferiu variabilidade de composição aos cafés estudados, permitindo a discriminação de cultivares tradicionais e modernas. As cultivares modernas apresentaram maiores teores de ácidos málico e 5-ACQ, lipídeos, caveol e trigonelina. Os parâmetros caveol e a relação caveol/cafestol foram propostos como os melhores discriminadores entre cultivares modernas e tradicionais, observando-se que a introgressão de genes de resistência de *C. canephora* aumentou os teores de caveol e os valores da relação caveol/cafestol.

Palavras-chave: Cultivares IPRs, ácido málico, caveol, cafestol, 5-ACQ, trigonelina.

2.1. Introdução

Nos últimos anos, tem sido desenvolvidas cultivares de café para atender às demandas de diferentes regiões de cultivo, buscando características agronômicas específicas, como elevado potencial produtivo, associadas a menor custo de produção e diminuição da aplicação de agrotóxicos pela maior resistência a pragas e doenças (MENDONÇA et al., 2007). O grande desafio para pesquisadores e melhoristas é desenvolver cafés com as características agronômicas desejadas e que apresentem ainda alta qualidade de bebida (BERTRAND et al., 2008).

No processo de melhoramento de cafés, o Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) desenvolveu cruzamentos entre o *Coffea arabica* Villa Sarchi e o Híbrido de Timor (Sarchimor) para obter diferentes cultivares resistentes à ferrugem (Iapar 59 e IPRs 98 e 99), e cruzamentos entre Icatu e Catuaí, para obter cultivares com maior tolerância a geadas, alto vigor vegetativo, adaptação a regiões quentes e solos

pobres e resistência a doenças como necrose dos frutos (IPR 103) (SERA et al., 2007). Cruzamentos derivados de *Coffea arabica* Villa Sarchi e Híbrido de Timor, que visam transferir genes de resistência a doenças, geram cultivares modernas com substancial quantidade de material genético do *C. canephora*. A diferença de qualidade de bebida de cultivares tradicionais e aqueles obtidos de cruzamentos direcionados (modernos) é sentido pela maioria dos comercializadores, que relatam que estes cafés apresentam qualidade sensorial menor (BERTRAND et al., 2008). O conhecimento acerca da composição físico-química e sensorial aliado ao aproveitamento da grande diversidade genética existente nos cafés pode ser uma ferramenta útil para ampliar o mercado de exportações mantendo a qualidade e competitividade.

Diversos estudos têm relacionado as diferenças na qualidade, composição e características sensoriais do café com ambiente de produção, fatores agronômicos e edafoclimáticos (altitude, temperatura, demanda hídrica, tipos e níveis de adubação) (SILVA et al., 2005; VAAST et al., 2006; MALTA; NOGUEIRA; GUIMARÃES, 2003; GEROMEL et al., 2008), maturação dos grãos, processamento (pós-colheita, torra e armazenamento) (PIMENTA; VILELA, 2002; ROGERS et al., 1999; MONTAVON et al., 2003; DUARTE et al., 2010; KNOPP et al., 2006; CAMPA et al., 2004; RODARTE et al., 2009), porém existem poucos relatos associando estas diferenças à variabilidade genética (espécie e cultivar) dos cafés (KY et al., 2001; LEROY et al., 2006; BERTRAND et al., 2003; BERTRAND et al., 2006; BERTRAND et al., 2008).

O perfil dos componentes do café verde, como carboidratos, ácidos carboxílicos, lipídios, compostos fenólicos e nitrogenados (proteínas, cafeína, trigonelina), varia em função de grande número de parâmetros (fatores edafoclimáticos e tratos culturais, maturidade e sanidade dos grãos e

processamento pós-colheita), assim na maioria dos trabalhos não é possível atribuir as variações descritas somente à origem genética dos cafés (BALZER, 2001; KY et al., 2001; SRIDEVI et al., 2010; GEROMEL, et al., 2008; VAAST et al., 2006; ROGERS et.al, 1999; STEIMAN, 2003). Além disso, muitos autores não têm registros sobre as informações genéticas das amostras ou tem dificuldade em informar o histórico de cruzamento das variedades empregadas.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar grãos de cafés verdes arábica brasileiros de cultivares tradicionais (Bourbon, Catuaí e Icatu) e de cruzamentos modernos (Iapar 59 e IPRs 98, 99 e 103), produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas e submetidos à colheita e tratamentos pós-colheita padronizados, para verificar a influência da diversidade genética em sua composição.

2.2. Material e métodos

2.2.1. Cafés: especificação e processamento

Os cafés arábica foram coletados do Centro Tecnológico da Cooperativa COCARI, Mandaguari, Paraná - Brasil, durante os meses de maio a julho de 2009. Foram coletados frutos de sete cultivares plantadas nas condições de latitude (Sul) 23°32'52", altitude de 650 m e temperaturas médias anuais de 22 a 23°C. Foram estudadas cultivares tradicionais com produção bem estabelecida em diversas regiões do Brasil (São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Paraná) e cultivares modernas. Foram escolhidas cultivares modernas desenvolvidas pelo Instituto Agrônomo do Paraná e registradas no Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC) (Iapar 59, IPR 98, IPR 99 e IPR 103), que estão disponíveis para plantio comercial (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 – Cultivares de café arábica avaliadas e sua origem genética.

Cultivar	Origem genética
Bourbon vermelho	Arábica puro
Catuaí vermelho	Caturra amarelo (mutação simples de Bourbon vermelho) x Mundo Novo (hibridação do Bourbon vermelho com Sumatra)
Icatu amarelo	Icatu vermelho (híbrido de <i>C. canephora</i> e arábica) x Mundo Novo x Bourbon amarelo
Iapar 59, IPR 98 e 99	Híbrido de Timor e Villa Sarchi (Sarchimor)
IPR 103	Catuaí vermelho IAC 99 e Amarelo IAC 66 x Icatu

Fonte: SANTOS, 2011; SERA et al., 2007; FAZUOLI, 2009.

Os cafés foram coletados em estágio cereja e secos naturalmente ao sol (côco), beneficiados, padronizados em peneira 16 (6,5 mm) e todos os grãos com defeitos foram retirados. Os cafés, mantidos congelados (-18°C), foram moídos em moinho Perten 3600 (Hägersten, Suécia) imediatamente antes das análises, usando nitrogênio líquido para prevenir a oxidação dos compostos. O tamanho das partículas foi padronizado para 24 mesh (0,5 mm).

Os cafés foram caracterizados quanto a umidade (estufa 105°C até peso constante, análise em duplicata), apresentando umidade média de $11,5 \pm 0,7$ g 100 g⁻¹. Todos os resultados foram expressos em base seca.

2.2.2. Reagentes, materiais e equipamentos

Os seguintes reagentes foram empregados para a extração das amostras e no preparo da fase móvel: tercbutil-metil éter grau CLAE (Acrós Organics, New Jersey, EUA); KOH e éter de petróleo (Quimex, São Paulo, Brasil); acetonitrila grau HPLC, e etanol 98% (J.T.Baker, Xalostoc, State of México); metanol, sulfato de cobre e potássio (Nuclear, Diadema, Brasil); ácido acético, ácido clorídrico, ácido sulfúrico, tartarato duplo sódio/potássio, e arseniato dissódico (Merk, Darmstadt,

Alemanha); hidróxido de sódio, óxido de magnésio, e sulfato de sódio anidro (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil); clorofórmio, fosfato dissódico anidro, e molibdato de amônio (F.Maia, Cotia, Brasil); e ácido bórico (Biotec, Cotia, Brasil). Para análise de compostos fenólicos totais foi usado reagente de Folin-Ciocalteu da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA). Caveol e cafestol (Axxora, San Diego, EUA), e ácido 5-cafeoilquinico, cafeína, trigonelina, e ácidos gálico, quínico, málico e cítrico (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) foram usados como padrões. A água empregada no preparo de padrões e soluções foi obtida por sistema de purificação e filtração Elga® (Elga Labwater, UK). As fases móveis foram filtradas em sistema Millipore de filtração a vácuo utilizando-se membranas de celulose e nylon de 0,45 µm (Millipore, Billerica, EUA). Para filtração das amostras foram empregados papel de filtro Whatman nº1 (Whatman International, Maidstone, Inglaterra) e membrana de nylon (0,45 µm) (Millipore, Billerica, EUA). Para extração em fase sólida foi empregada resina de troca fortemente aniônica Dowex 1X4 200 mesh (Sigma Aldrich, St Louis, EUA).

Como equipamentos, foram usados centrífuga Sovall SS-3 (Ivan Sorvall INC, New York, EUA), banho ultrasônico FS110 (Fischer Scientific, Lafayette, EUA) e espectrofotômetro Evolution 300 UV-Vis (Thermo Scientific, San Jose, EUA). Empregou-se ainda um cromatógrafo a líquido Surveyor Plus (Thermo Scientific, San Jose, EUA) que consiste de um amostrador automático Peltier com controle de temperatura e forno integrado, bomba quaternária, e detector de arranjo de diodos. O equipamento foi acoplado a uma interface SS420 e sistema de aquisição de dados ChromQuest 5.0 (Thermo Scientific, San Jose, EUA).

2.2.3. Determinação de sacarose e açúcares redutores

O café (1,0000 g) foi adicionado de 30 mL de água e aquecido a em banho (70°C, 30 min). Após o resfriamento, adicionou-se 3,0 mL de acetato de zinco e 3,5 mL de ferrocianeto de potássio. Para obtenção do extrato, completou-se o volume em balão volumétrico de 100 mL com água e filtrou-se em papel de filtro (SCHOLZ et al., 2011).

Os açúcares redutores foram determinados pelo método de Somogyi & Nelson (SOUTHGATE, 1976). O extrato (1 mL) foi adicionado de reagente de Nelson (1 mL), e mantido em banho-maria em ebulição por 10 min, com posterior resfriamento em banho de gelo. Após esta etapa, adicionou-se 1 mL de reagente de Somogyi e 7 mL de água, sob agitação. Foi feita leitura a 535 nm. A curva padrão foi obtida empregando glicose em ácido benzóico 0,1% como padrão (1 a 10 mg 100 g⁻¹). As extrações foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos em mg 100g⁻¹ de café.

O teor de sacarose foi calculado pela diferença entre açúcares totais e açúcares redutores. Para análise dos açúcares totais, 25 mL do extrato foi hidrolisado com 2,5 mL de HCl 1:1 durante 16 horas em temperatura ambiente. A solução foi neutralizada com solução de NaOH 20% até pH 7,0 e completou-se o volume em balão volumétrico de 50 mL com água destilada. Os açúcares totais foram determinados no extrato hidrolisado, conforme descrito para os açúcares redutores.

2.2.4. Determinação dos ácidos quínico, málico e cítrico

A extração foi baseada no procedimento sugerido por Rodrigues et al. (2007). Café (0,5000 g) foi submetido à extração em 20 mL de água sob agitação a 80°C por 30 min. Após resfriado em banho de gelo, o pH do extrato foi ajustado para

7,0 com NaOH 0,1N, completou-se o volume com água para 50 mL em balão volumétrico e filtrou-se em papel. O filtrado (5 mL) foi submetido a extração em fase sólida em cartucho com aproximadamente 1 cm de resina de troca fortemente aniônica, montado em suporte à vácuo. A resina foi condicionada com 6 mL de água destilada e, após a passagem da amostra, 10 mL de água foi usada para a limpeza. Os ácidos foram eluidos com 5 mL de HCl 1M e, na sequência, 2 mL de água destilada. O eluato foi coletado em balão de 10 mL e completou-se o volume com água destilada, este extrato foi filtrado em membrana de nylon antes da injeção. As extrações foram realizadas em duplicata.

A análise por CLAE foi feita conforme descrito por Kitzberger et al. (2012). Foi utilizada coluna de fase reversa ACE 5 C18 (250 mm x 4.6 mm d.i., 5 µm) (Advanced Chromatography Technologies, Aberdeen, Escócia) e detecção a 210 nm. Empregou-se eluição isocrática de H₂SO₄ 0,005 N (pH 2,5) com programação de vazão: 0-2 min, 0,7 mL min⁻¹; 2-15 min, 0,4 mL min⁻¹, e de 15-20 min, 0,7 mL min⁻¹. Empregou-se temperatura do forno de 30°C, e temperatura da bandeja de amostras de 5°C. A identificação foi baseada no tempo de retenção, co-cromatografia e espectros no UV. A quantificação foi realizada por padronização externa, construindo-se curvas de calibração (7 pontos em triplicata) para os ácidos quínico e cítrico (na faixa de 125 a 2000 mg 100 g⁻¹) e para ácido málico (50 a 800 mg 100 g⁻¹).

2.2.5. Determinação de compostos fenólicos totais

Café (0,1500 g) foram extraído em água sob agitação durante 5 min completando-se o volume para 100 mL, e após a filtração, coletou-se o filtrado (1 mL) em tubo de ensaio. Adicionou-se 5 mL do reagente Folin Ciocalteau 0,04 N, e 4

mL de solução de carbonato de sódio (75 g L^{-1}) e agitou-se em Vortex. Após banho-maria (50°C por 5 min) e resfriamento, foi feita a leitura à 760 nm. As análises foram realizadas em duplicata. Para a curva de calibração, empregou-se o ácido gálico como padrão (1 a $10 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), e os resultados foram expressos em mg de equivalente em ácido gálico 100g^{-1} .

2.2.6. Determinação de trigonelina e ácido 5 – cafeoilquínico

A determinação foi realizada conforme sugerido por Alves et al. (2006). O café ($0,5000 \text{ g}$) foi extraído em 30 mL de solução água: acetonitrila ($95:5 \text{ v/v}$), por 10 minutos em ebulição. Após filtração em papel de filtro, 10 mL do extrato foram diluídos em 25 mL da solução de extração e filtrado em membrana de nylon. As extrações foram realizadas em duplicata. Na análise por CLAE, empregou-se como fase móvel ácido acético $5\% \text{ (v/v)}$ (A) e acetonitrila (B) em eluição gradiente: 0 a 5 min, 5% de B; 5 a 10 min, 5 a 13% de B (linear); 13 a 35 min, 13% de B, e 35 a 45 min de 5% de B. Foram empregados vazão de fase móvel de $0,7 \text{ mL min}^{-1}$ e temperatura do forno de 25°C . Como fase estacionária, foi utilizada coluna de fase reversa Spherisorb ODS 1 ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm i.d.}, 5 \mu\text{m}$) (Waters, Milford, EUA). A detecção foi feita à 264 nm (trigonelina) e à 325 nm (5-ACQ). A identificação foi baseada no tempo de retenção, co-cromatografia e espectros no UV. A quantificação foi realizada por padronização externa, construindo-se curvas de calibração (6 pontos em triplicata) para trigonelina (72 a $2400 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) e 5-ACQ (150 a $5000 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$).

2.2.7. Determinação de proteínas

Café (0,1000 g) foi transferido para tubo de digestão e misturado a 0,2 g de mistura catalítica (sulfato de potássio e de cobre 10:1) e 3 mL de H₂SO₄ concentrado e aquecido em bloco digestor (300°C). Após resfriamento acrescentou-se 10 mL de água, e antes da destilação (Microkjedahl), adicionou-se 15 mL de NaOH 40%. Coletou-se o destilado em erlemmeyer de 125 mL contendo ácido bórico 2% com indicador vermelho de metila e verde de bromocresol. A titulação foi realizada com H₂SO₄ 0,04N. Para teor de proteínas, considerou-se o fator 6,25, e os resultados foram expressos em g 100 g⁻¹ de café (AOAC, 1990).

2.2.8. Determinação de cafeína

Café (0,2000 g) foi acrescido de 0,2 g de MgO e 15 mL de água fervente e extraído a 80°C por 30 minutos em banho-maria. Após resfriamento transferiu-se para balão e o volume foi completado para 50 mL. O extrato foi filtrado e 2 mL foi adicionado a 0,2 mL de solução aquosa de H₂SO₄ (1:9) e 4 mL de clorofórmio em tubo rosqueado. Realizou-se agitação por 10 min e separou-se a fase clorofórmio em tubo de ensaio (2,0 mL) para posterior evaporação completa do solvente em banho-maria. Ressuspendeu-se o extrato em 10 mL de água fervente e fez-se a leitura a 272 nm. As análises foram realizadas em duplicata. Para a curva de calibração utilizou-se cafeína como padrão (1 a 9 mg 100 g⁻¹), e os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de café (AOAC, 1990, SCHOLZ et al., 2011).

2.2.9. Determinação de lipídeos

O café (1,0000 g) seco em estufa a 105°C por 3 horas, foi transferido para cartucho de papel e colocado em extrator de Soxhlet. A extração empregou éter de petróleo durante 16 horas sob refluxo. Após a extração, secou-se os cartuchos em

estufa a 105°C e fez-se pesagem. Os lipídeos foram expressos em g 100 g⁻¹ de café (AOAC, 1990).

2.2.10. Determinação de caveol e cafestol

A análise foi realizada conforme sugerido por Dias et al. (2010). Os cafés (0,2000 g) foram saponificados a 80°C por 1 h com 2,0 mL de hidróxido de potássio 2,5 M L⁻¹ (em etanol 96%, v/v). Após adição de 2,0 mL de água, foi feita extração dos insaponificáveis com 2,0 mL de tercbutil-metil éter, e posterior agitação e centrifugação (3 min a 3000 rpm) recolhendo-se a fase orgânica. Este procedimento de extração foi repetido três vezes. Adicionou-se 2,0 mL de água destilada (para limpeza) e o extrato foi evaporado em banho-maria à secura (70 °C). Após ressuspensão em 4,0 mL de fase móvel, o extrato foi filtrado em membrana de nylon. As extrações foram realizadas em duplicata. Na análise por CLAE foi utilizada coluna de fase reversa Spherisorb ODS 1 (250 mm x 4.6 mm i.d., 5 µm) (Waters, Milford, USA), eluição isocrática de acetonitrila: água (55:45, v/v) na vazão de 0,9 mL min⁻¹, e detecção à 220 nm e à 290 nm, para cafestol e caveol, respectivamente. Empregou-se temperatura do forno de 25°C, e tempo de corrida de 20 minutos. A identificação foi baseada no tempo de retenção, co-cromatografia e espectros no UV. A quantificação foi realizada por padronização externa, construindo-se curvas de calibração (6 pontos em triplicata) na faixa de concentração de 50 a 1000 mg 100g⁻¹ para os dois compostos.

2.2.11. Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), considerando-se como causa de variação as cultivares de café, e teste de médias

(Tukey, $p \leq 0,05$) empregando o programa Statistica 6.1 (Statsoft, 2006). Os resultados foram ainda avaliados por Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise Hierárquica de Agrupamentos (AHA) empregado o software XLStat versão 2008.4.02 (Addinsoft, 2008). Para obter as associações hierárquicas, considerou-se como medida de similaridade a distância Euclidiana e a média ponderada por grupos.

2.3. Resultados e Discussão

A composição química dos cafés verdes de diferentes cultivares está apresentada na Tabela 2.2.

Foram observados valores de sacarose entre 6193 e 9266 mg 100 g⁻¹. O maior teor foi encontrado para Bourbon, e IAPAR 59, IPR 99 e IPR 103 apresentaram teores de sacarose inferiores aos cafés tradicionais e IPR 98 (Tabela 2.2). Em cultivar Acaiá (cruzamento natural de Sumatra e Bourbon) processadas por via seca, úmida e semi-seca, Knopp et al. (2006) encontraram valores de 7600 a 9250 mg 100 g⁻¹ de sacarose. Vaast et al. (2006) reportaram 7800 a 8400 mg 100 g⁻¹ para o Costa Rica 95 (Catimor) e Geromel et al. (2008) descreveram valores mais altos (8510 mg 100 g⁻¹) para a cultivar IAPAR 59.

Açúcares redutores tiveram uma variação de 200 mg 100 g⁻¹ (Catuaí) a 525 mg 100 g⁻¹ (IPR 99). Geromel et al. (2008) citaram para IAPAR 59 um teor de 190 mg 100 g⁻¹, semelhante ao menor valor observado no estudo.

Com relação aos ácidos carboxílicos, pode-se verificar uma variação de 264 a 553 mg 100 g⁻¹ para quínico, entre 300 a 540 mg 100 g⁻¹ para ácido málico, e entre 926 e 1309 mg 100 g⁻¹ para ácido cítrico (Tabela 2.2).

Tabela 2.2 – Composição química dos cafés arábica verdes de diferentes cultivares.

Cultivar	Bourbon	Catuai	Icatu	IAPAR 59	IPR 98	IPR 99	IPR 103
Açúcares Red.	478±10 ^{b,c}	200±4 ^f	489±2 ^b	348±1 ^d	464±7 ^c	525±0 ^a	222±2 ^e
Sacarose	9266±10 ^a	7897±125 ^b	7887±29 ^b	6917±57 ^d	7971±12 ^b	6193±18 ^e	7248±27 ^c
Ác. Quínico	444±18 ^{a,b}	459±33 ^{a,b}	553±52 ^a	355±7 ^{b,c}	385±8 ^{b,c}	264±7 ^c	330±50 ^{b,c}
Ác. Málico	456±19 ^{a,b}	327±6 ^{c,d}	300±9 ^d	428±12 ^{b,c}	466±8 ^{a,b}	403±64 ^{b,c,d}	540±0 ^a
Ác. Cítrico	1309±30 ^a	1224±74 ^{a,b}	1121±41 ^{b,c}	1002±22 ^{c,d}	926±3 ^d	997±21 ^{c,d}	1064±12 ^{c,d}
FT	5331±159 ^a	4551±0 ^b	5209±15 ^a	5308±15 ^a	5157±43 ^a	4697±60 ^b	4579±67 ^b
5-ACQ	4997±72 ^{a,b}	4175±159 ^c	4536±1 ^{b,c}	5354±276 ^a	4870±146 ^{a,b}	4856±40 ^{a,b}	4685±197 ^b
Proteína	16,5±0 ^c	17,6±0 ^{a,b}	17,3±0,1 ^b	17,9±0,3 ^a	17,3±0,1 ^b	16,1±0,1 ^c	18,0±0 ^a
Trigonelina	1096±60 ^{a,b}	1057±13 ^{a,b}	1080±44 ^{a,b}	1196±8 ^a	964±84 ^b	1230±29 ^a	1140±35 ^{a,b}
Cafeína	1320±35 ^{c,d}	1385±38 ^{b,c}	1477±4 ^a	1521±15 ^a	1491±5 ^a	1285±2 ^d	1447±14 ^{a,b}
Lipídeos	13,6±0 ^b	12,6±0,1 ^d	12±0 ^e	13,8±0 ^b	13,2±0,1 ^c	14,4±0,1 ^a	14,2±0,2 ^a
Cafestol	476±25 ^{b,c}	604±8 ^a	501±37 ^b	326±25 ^d	490±21 ^{b,c}	436±2 ^{b,c}	399±5 ^{c,d}
Caveol	313±7 ^e	371±6 ^d	433±18 ^d	898±35 ^a	644±39 ^c	785±2 ^b	721±30 ^{b,c}

Lipídeos e proteínas expressas em g 100g⁻¹ de café e demais resultados em mg 100g⁻¹ de café. FT= Fenólicos Totais. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre cultivares (p>0,05).

Todos os valores encontrados foram superiores aos descritos para café arábica: 30 a 67 mg 100 g⁻¹ para ácido quínico, 27,3 a 70 mg 100 g⁻¹ para ácido málico, e de 70 a 150 mg 100 g⁻¹ para ácido cítrico (BALZER, 2001; ICO, 2012; ROGERS et al., 1999; MENDES, 2005). Para café conilon relatou-se 160 a 860 mg 100 g⁻¹ para ácido quínico, 180 a 730 mg 100 g⁻¹ para ácido málico e de 330 a 1010 mg 100 g⁻¹ para ácido cítrico (BALZER, 2001).

Verificou-se teores entre 4551 a 5331 mg de compostos fenólicos totais em 100 g⁻¹ de café. Os cafés Bourbon, Icatu, IAPAR 59 e IPR 98 apresentaram os maiores valores (Tabela 2.2). Os teores de 5-ACQ apresentaram variação entre as cultivares de 4175 a 5354 mg 100 g⁻¹. IAPAR 59 apresentou maiores teores de 5-ACQ do que IPR 103, Catuaí e Icatu (Tabela 2.2).

Bertrand et al. (2003) relataram que cruzamentos genéticos empregando a introgressão de genes de *C. canephora* de resistência à ferrugem através de cruzamentos com o Híbrido de Timor devem resultar em cultivares com altos teores de ácidos clorogênicos e compostos fenólicos totais. Mendonça et al. (2007), também relataram para cafés com genes resistentes à ferrugem (Acauã, Canário, Catucaí Amarelo e Icatu Amarelo) teores mais altos de compostos fenólicos, que foram atribuídos a participação de *C. canephora* nos cruzamentos. Nesse trabalho, no entanto, observou-se valores mais altos em cultivares com inserção desses genes (Tabela 2.2).

Observou-se teor de proteína de 16,1 a 18,0 g 100 g⁻¹, sendo os menores valores referentes a IPR 99 e Bourbon. Para cafés brasileiros de diferentes cultivares e qualidade de bebida são descritos valores na faixa de 14,5 a 17 g de proteína 100 g⁻¹ (FRANCA et al, 2005; GEROMEL et al., 2008; SCHOLZ et al., 2011).

Observou-se para a trigonelina, uma variação de 964 a 1196 mg 100 g⁻¹ (Tabela 2.2). Esses valores estão concordantes com o descrito na literatura tanto para cafés arábica de diferentes procedências, de 880 a 1770 mg 100 g⁻¹ (KY et al., 2001), como para cafés brasileiros com diferentes qualidade de bebida e origens genéticas, de 1000 a 1350 mg 100 g⁻¹ (RODARTE et al., 2009; MALTA; CHAGAS, 2009). Observou-se que IPR 98 apresentou teores de trigonelina inferior ao das cultivares IAPAR 59 e IPR 99 (Tabela 2.2), que apresentam origem genética similar.

Para o teor de cafeína pode-se observar variação de 1285 a 1521 mg 100 g⁻¹ (Tabela 2.2). Observou-se que, IPR 99 apresentou teor de cafeína inferior ao das cultivares IAPAR 59 e IPR 98 (Tabela 2.2), de origem genética similar. Para café conilon são descritos valores de cafeína mais altos do que para cafés arábica. Duarte et al. (2010) avaliando cafés híbridos e arábicas puros produzidos em Minas Gerais/Brasil, com tratamento pós-colheita por via seca, encontraram valores na faixa de 1050 a 1530 mg 100 g⁻¹. Cruzamentos empregando Híbrido de Timor e Villa Sarchi apresentaram grande variabilidade nos teores de cafeína, de 700 a 1700 mg 100 g⁻¹, sendo os maiores valores observados para os cafés híbridos (MAZZAFERA, et al., 1992).

Os teores de lipídeos variaram de 12 a 14,4 g 100 g⁻¹, sendo que as maiores concentrações foram observadas para as cultivares IPR 99 e 103 e os menores teores foram encontrados para as cultivares Catuaí e Icatu. Valores de 10,8 a 15,2 g de lipídios 100 g⁻¹ foram citados para cafés arábica de diferentes origens geográficas, cultivares e porcentagem de defeitos (OLIVEIRA et al., 2006; GEROMEL et al., 2008; MAZZAFERA et al., 1998).

Os valores de diterpenos totais (caveol + cafestol) variaram de 788 a 1223 mg 100 g⁻¹, sendo valores mais altos para as cultivares modernas (Figura 2.1).

No presente estudo, cafeol e cafeol variaram de 326 a 604 mg 100 g⁻¹ e de 313 a 898 mg 100 g⁻¹, respectivamente. Catuaí apresentou o maior teor de cafeol, e para cafeol observaram-se teores mais altos para as cultivares modernas que para as tradicionais (Tabela 2.2). Comportamento similar foi relatado por Kitzberger, et al. (2010), que verificaram para outras cultivares modernas (como IPR 100, IPR 102 e IPR 106) maiores teores de cafeol e menores de cafeol quando comparado a cafés sem a introgressão genética.

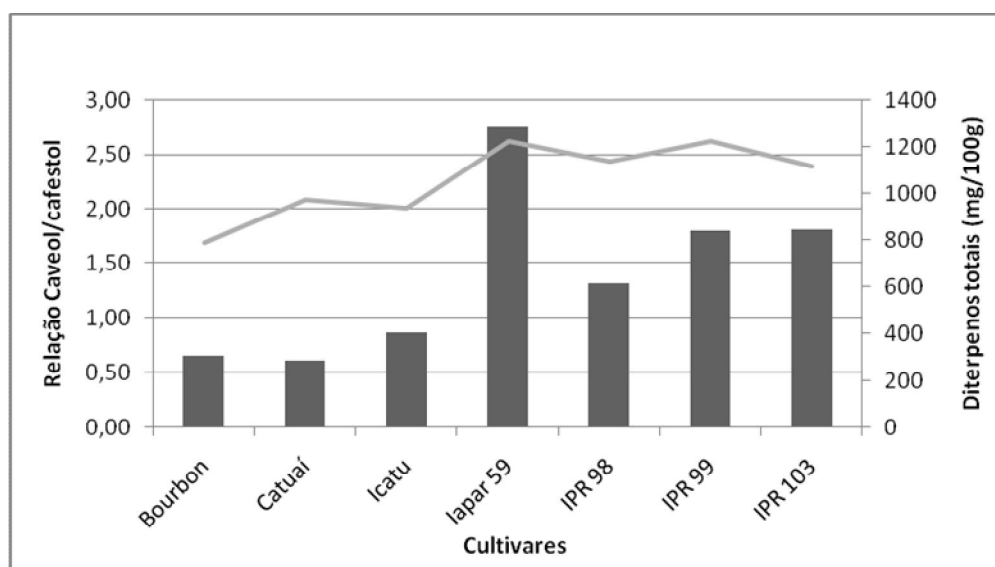


Figura 2.1 – Relação cafeol/cafeol (■) e diterpenos totais (—) das cultivares.

Na literatura são descritos para cafés arábica valores de 100 a 736 mg de cafeol 100 g⁻¹, e de 150 a 700 mg de cafeol 100g⁻¹ (URGERT et al. 1995; ROOS et al, 1997; KURZOCK; SPEER, 2001; RUBAYIZA; MEURENS, 2005). É interessante mencionar que para cafés *C. canephora* são descritos valores de cafeol inferiores a 10 mg 100 g⁻¹ ou a ausência do composto (SRIDEVI et al.,2010, SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006; URGERT et al. 1995; ROOS et al, 1997; DIAS et al., 2010).

Na análise da relação cafeol/cafeol, verificou-se que os cafés de cultivares tradicionais (Bourbon, Catuaí e Icatu) apresentaram relação abaixo de 1,00 (na faixa

de 0,61 a 0,86) por apresentarem maior teor de cafestol (Figura 2.1). Os cruzamentos modernos (IAPAR 59, IPR 98, IPR 99 e IPR 103) devido ao maior teor de cafeol, apresentaram uma relação cafeol/cafestol variando de 1,31 a 2,75 (Figura 2.1). Esta inversão da relação cafeol/cafestol para cruzamentos com introgressão de genes de resistência de *C. canephora* foi anteriormente citada por Kitzberger et al. (2010) com respeito a Catuaí e Icatu e IPRs 100 (cruzamento com Catuaí), IPR 102 (Icatu X Catuaí) e IPR 106 (Icatu), mostrando que esse comportamento acontece mesmo que haja a participação do cultivar tradicional no cruzamento. De Souza e Benassi (2012), trabalhando com cafés torrados e moídos, relataram valores de relação cafeol/cafestol de 1,73 a 3,40 para cinco cafés arábica e valor médio de $1,07 \pm 0,38$ para 38 cafés comerciais brasileiros, que poderiam ser *blends* de arábica e conilon.

Verifica-se que os teores de cafeol e a relação cafeol/cafestol discriminaram melhor as cultivares modernas das tradicionais que os outros parâmetros estudados como compostos nitrogenados (proteína, cafeína, trigonelina), açúcares (sacarose e açúcares redutores), ácidos carboxílicos (ácido quínico, málico e cítrico) e compostos fenólicos (totais e ácido clorogênico) (Tabela 2.2 e Figura 2.1). Observou-se assim, em condições fixas de cultivo e origem geográfica, o efeito da genética, pela introgressão de genes de resistência de *C. canephora*, que pode ser melhor observado avaliando-se o conteúdo e a proporção de diterpenos.

Mesmo para cultivares de origem genética semelhante, como cruzamentos de Híbrido do Timor e Villa Sarchi, foi difícil fazer uma associação entre os diferentes cruzamentos e a composição. Leroy et al. (2006) relataram vários estudos sobre hereditariedade dentro de cruzamentos com reflexos na qualidade de bebida, e citaram a trigonelina entre os compostos fortemente influenciados pela genética. No

presente estudo, no entanto, observou-se para trigonelina que, IPR 98 apresentou teores inferiores ao das cultivares IAPAR 59 e IPR 99 (Tabela 2.3), de origem genética similar (Tabela 2.1). De forma semelhante, não foi observado maior similaridade de composição entre a cultivar moderna IPR 103 e suas cultivares de origem (Catuaí e Icatu) (Tabela 2.1) do que com os outros cafés em estudo (Tabela 2.2). Campa et al. (2004) descreveram que a trigonelina é altamente dependente da cultivar, mas também relataram que espécies parentais podem apresentar grandes diferenças no seu conteúdo.

Ao padronizar as condições edafoclimáticas e de pós-colheita, avaliou-se de forma independente as diferenças de composição devidas à genética, mas cabe ressaltar que as cultivares podem apresentar diferentes níveis de adaptação à região estudada.

Pela Análise de Componentes Principais (ACP) é possível observar a influência das características de composição para a separação de cultivares de origem arábica (tradicionais) e cruzamentos com a presença de genes do *C. canephora* (modernos). A projeção dos cafés cultivados nas mesmas condições edafoclimáticas no *biplo*t da ACP pode ser visualizada na Figura 2.2.

Os dois primeiros componentes explicaram 61,5% da variância total, sendo que o componente 1 (CP1) contribuiu para 41,6% da explicação, e o CP2, 19,9%. As equações 1 e 2 descrevem a formação das componentes.

$$\text{CP1} = -0,86 \text{ cafestol} + 0,94 \text{ caveol} + 0,70 \text{ 5-ACQ} - 0,73 \text{ sacarose} + 0,85 \text{ lipídeos} \\ + 0,67 \text{ trigonelina} - 0,88 \text{ quínico} + 0,59 \text{ málico} - 0,67 \text{ cítrico} \quad (\text{Equação 1})$$

$$\text{CP2} = - 0,72 \text{ açúcares redutores} - 0,22 \text{ fenólicos totais} + 0,82 \text{ cafeína} + 0,96 \\ \text{proteínas} \quad (\text{Equação 2})$$

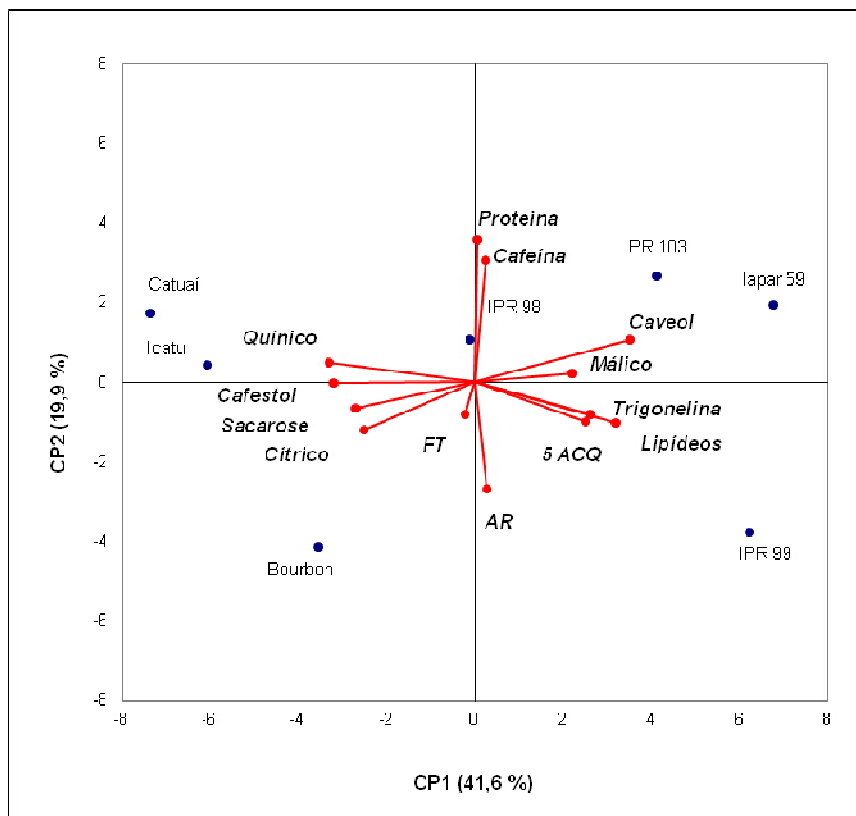


Figura 2.2 – Biplot dos cafés de diferentes cultivares considerando variáveis de composição.

As cultivares tradicionais Bourbon, Catuaí e Icatu, com uma constituição genética de cafés arábica, foram discriminadas das cultivares modernas na Análise de Componentes Principais e pela Análise Hierárquica de Agrupamento (Figuras 2.2 e 2.3, Tabela 2.3).

A CP1 foi negativamente correlacionada com cafestol, sacarose, ácidos quínico e cítrico e, positivamente, com caveol, 5-ACQ, lipídeos, trigonelina e ácido málico (Figura 2.2, equação 1). As cultivares IAPAR 59, IPR 98, IPR 99 e IPR 103, alocados mais a direita na ACP, se caracterizaram por maiores teores de ácidos málico e 5-ACQ, lipídeos, caveol e trigonelina. Os cafés tradicionais, alocados a esquerda na ACP, apresentam maiores teores de cafestol, sacarose, ácido quínico e

cítrico (Figura 2.2, Tabela 2.3). A cultivar IPR 98 apresentou um comportamento intermediário entre os modernos e tradicionais (Figura 2.2).

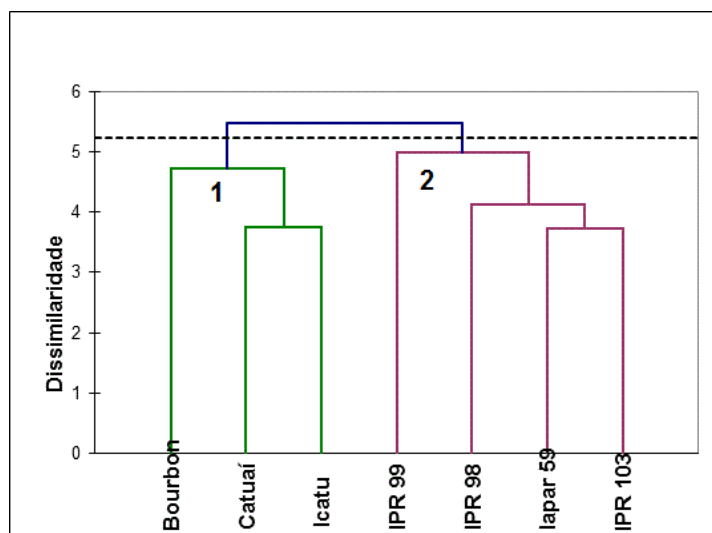


Figura 2.3 – Dendrograma da Análise Hierárquica de Agrupamento dos cafés de diferentes cultivares considerando variáveis de composição.

Tabela 2.3 – Valores médios de composição* dos grupos formados pela Análise Hierárquica de Agrupamento.

Grupo**	Aç. Red.	Sacarose	Quínico	Málico	Cítrico	FT	5 ACQ	Prot	Trig	Cafeína	Lip	Cafestol	Caveol
1	389	8350	485	361	1218	5030	3984	17,1	1017	1394	12,8	527	372
2	390	7082	334	459	997	4935	4378	17,3	1074	1436	13,9	422	772

* Lipídeos e proteínas expressas em g 100g⁻¹ de café e demais resultados em mg 100 g⁻¹ de café.

** Figura 3. Grupo 1 – Bourbon, Catuaí e Icatu. Grupo 2 – IPR 98, 99 e 103 e IAPAR 59.

Os compostos nitrogenados cafeína e proteína, fenólicos totais e açúcares redutores, principais participantes da CP2 (Figura 2.2, equação 2) permitiram discriminar o Bourbon e IPR 99, que apresentaram baixos teores de cafeína e proteína, das outras cultivares tradicionais e modernas, respectivamente.

Em conclusão, observou-se que as características genéticas conferiram

variabilidade de composição às cultivares de café estudadas. De forma geral, o grupo das cultivares modernas (IAPAR 59, IPR 98, IPR 99 e IPR 103) caracterizou-se por maiores teores de ácidos málico e 5-ACQ, lipídeos, caveol e trigonelina. Os parâmetros caveol e a relação caveol/cafestol foram propostos como os melhores discriminadores entre cultivares modernas e tradicionais, observando-se que a introgressão de genes de resistência do *C. canephora* aumentou os teores de caveol e os valores da relação caveol/cafestol.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão de bolsas de Doutorado e Produtividade em Pesquisa e pelo financiamento do projeto, e ao Centro Tecnológico da Cooperativa COCARI pelo fornecimento dos cafés.

Referências

- (1) Addinsoft. (2007). XLStat: software for statistical analysis. Versão 2008.4.02 **2008**. Paris. 1 CD-ROM.
- (2) Alves, S. T.; Dias, R.C.E.; Benassi, M.T.; Scholz, M.B.S. Metodologia para análise simultânea de ácido nicotínico, trigonelina, ácidos clorogênicos e cafeína em café torrado por cromatografia líquida de alta eficiência. *Quím. Nova* **2006**, *29*, 1146-1148.
- (3) ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, 1990. 1298 p.
- (4) Balzer, H.H. 1 B Acids in Coffee, In: *Coffee Recent Developments*; Clarke, R.J., Vitzthum, O.G., Eds.; Blackwell Science: Berlin, Germany, **2001**, 18.

(5) Bertrand, B.; Villarreal, D.; Laffargue, A.; Posada, H.; Lashermes, P.; Dussert, S. Comparison of the effectiveness of fatty acids, chlorogenic acids, and elements for the chemometric discrimination of coffee (*Coffea arabica* L.) varieties and growing origins. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 2273-2280.

(6) Bertrand, B.; Guyot, B.; Anthony, F.; Lashermes, P. Impact of the *Coffea canephora* gene introgression on beverage quality of *C. arabica*. *Theor. Applied Genet.* **2003**, *107*, 387-394.

(7) Bertrand, B.; Vaast, P.; Alpizar, E.; Etienne, H.; Davrieux, F.; Charmetant, P. Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of Arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. *Tree Phys.* **2006**, *26*, 1239-1248.

(8) Campa, C.; Ballester, J.F.; Doubeau, S.; Dussert, S.; Hamon, S.; Noirot, M. Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. *Food Chem.* **2004**, *88*, 2, 39-43.

(9) Dias, R. C. E.; Campanha, F. G.; Vieira, L. G. E.; Pereira, L. P.; Pot, D.; Marraccini, P.; Benassi, M. T. Evaluation of kahweol and cafestol in coffee tissues and roasted coffee by a new High-Performance Liquid Chromatography Methodology. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 88-93.

(10) De Souza, R. M. N.; Benassi, M. T. Discrimination of commercial roasted and ground coffees according to chemical composition. *J. Brazil. Chem. Soc.* **2012**, *23*, 1347-1354.

(11) Duarte, G.S.; Pereira, A.A.; Farah, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chem.* **2010**, *118*, 851-855.

(12) Farah, A.; Donangelo, C. M. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian J.Plant Phys.* **2006**, *18*, 23-26.

(13) Fazuoli, L.C. (2009). Melhoria de *Coffea arabica* - Melhoria do café - Mesa redonda, Centro de Café 'Alcides Carvalho' – IAC, Guarapari, 11– 08 – **2009**.

(14) Franca, A.S.; Mendonça, J.C.F.; Oliveira, S.D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *LWT.* **2005**, *38*, 709–715.

(15) Geromel, C. Ferreira, L. P.; Davrieux, F.; Guyot, B.; Ribeyre, F.; Scholz, M.B.S.; Pereira, L.F.P.; Vaast, P.; Pot, D.; Leroy, T.; Androcioli Filho, A.; Vieira, L.G.E.; Mazzafera, P.; Marraccini, P. Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits. *Plant Phys.Biochem.* **2008**, *46*, 569-579.

(16) ICO - INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. Arquivo disponível em: http://www.ico.org/event_pdfs/patarroyo.pdf. Acesso em: 29 de março de **2012**.

(17) Kitzberger, C.S.G.; Scholz, M.B.S.; Pereira, L.F.P.; Vieira, L.G.E.; Sera, T.; Silva, J.B.G.D.; Benassi, M. T. Analysis of diterpenes in green and roasted coffee of *Coffea arabica* cultivars growing in the same edapho-climatic conditions. In: 23 International Conference on Coffee Science, **2010**, Bali - Indonesia. Abstracts 23 International Conference on Coffee Science. CD ROM.

(18) Kitzberger, C.S.G.; Scholz, M.B.S.; Benassi, M.T. Method for determination of carboxylic acids in green coffee beans by RP-HPLC, In: XVI World Congress of Food Science and Technology, **2012**, Foz do Iguaçu – Brasil. Abstracts XVI World Congress of Food Science and Technology. CD ROM.

(19) Knopp, S.; Bytof, G.; Selmar, D. Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. *Eur.Food Res.Tech.* **2006**, *223*, 195-201.

(20) Kurzrock, T.; Speer, K. Diterpenes and diterpene esters in coffee. *Food Rev.Internat.* **2001**, *17*, 4, 433–450.

(21) Ky, C. L.; Louarn, J.; Dussert, S.; Guyot, B.; Hamon, S.; Noiro, M. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acid and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chem.* **2001**, *75*, 223-230.

(22) Leroy, T.; Ribeyre, F.; Bertrand, B.; Charmetant, P.; Dufour, M.; Montagnon, C.; Marraccini, P.; Pot, D. Genetics of coffee quality. *Braz.J.Plant Phys.* **2006**, *18*, 229-242.

(23) Malta, M.R.; Chagas, S.J.R. Avaliação de compostos não-voláteis em diferentes cultivares de cafeeiro produzidas na região sul de Minas Gerais. *Acta Scient.Agron.* **2009**, *31*, 57-61.

(24) Malta, M.R.; Nogueira, F.D.; Guimarães, P.T.G. Composição química, produção e qualidade do café fertilizado com diferentes fontes e doses de nitrogênio. *Ciênt.Agrotec.* **2003**, *27*, 1246-1252.

(25) Mendes, L.C. Estudos para determinação das melhores formulações de *blends* de café arábica (*C. arabica*) com café robusta (*C. canephora*) para uso no setor de cafés torrados e moídos e de cafés espresso. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos, **2005**. Disponível em: http://www.fea.unicamp.br/alimentarium/ver_documento.php?did=131.

(26) Mazzafera, P.; Carvalho, A.; Fazuoli, L.C.; Medina Filho, H.P. Variabilidade do teor de cafeína em sementes de café. *Turrialba*, 1992, *42*, 231–237. Mazzafera, P; Soave, D.; Zullo, M.A.T.; Guerreiro Filho, O. Oil content of green coffee beans from some coffee. *Bragantia*, **1998**, *57*, 45-48.

(27) Mendonça, L.M.V.L.; Pereira, R.G.F.A.; Mendes, A.N.G.; Borém, F.M.; Marques, E.R. Composição química de grãos crus de cultivares de *Coffea arabica* L. suscetíveis e resistentes à *Hemileia vastatrix* Berg et Br. *Ciênc.Agrotec.* **2007**, *31*, 413-419.

(28) Montavon, P.; Mauron, A.F.; Duruz, E. Changes in green coffee protein profiles during roasting. *J.Agric.Food Chem.* **2003**, *51*, 2335-2343.

(29) Oliveira, L.S.; Franca, A.S.; Mendonça, J.C.F.; Barros-Junior, M.C.; Proximate composition and fatty acids profile of green and roasted defective coffee beans. *LWT - Food Sci.Tecn.* **2006**, *39*, 3, 235–239.

(30) Pimenta, C.J.; Vilela, E.R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras-Mg. *Ciênc.Agrotec. ed especial*, **2002**, 1481-1491.

(31) Rodarte, M.P.; Abrahão, S.A.; Pereira, R.G.F.A.; Malta, M. R. Compostos não voláteis em cafés da região sul de Minas submetidos a diferentes pontos de torração. *Ciênc.Agrotec* **2009**, *33*, 1366-1371.

(32) Rodrigues, C.I.; Marta, L.; Maia, R.; Miranda, M.; Ribeirinho, M.; Máguas, C. Application of solid-phase extraction to brewed coffee caffeine and organic acid determination by UV/HPLC. *J. Food Compos.Anal.* **2007**, *20*, 440-448.

(33) Rogers, W.J.; Michaux, S.; Bastin, M.; Bucheli, P. Changes to the content of sugars, sugar alcohols, myo-inositol, carboxylic acids and inorganic anions in developing grains from different varieties of Robusta (*Coffea canephora*) and Arabica (*C. Arabica*) coffees. *Plant Sci.* **1999**, *149*, 115-123.

(34) Roos, B.; Van Der Weg, G.; Urgert, R.; Van De Bovenkamp, P.; Charrier, A.; Katan, M. B. Levels of cafestol, kahweol, and related diterpenoids in wild species of the coffee plant *Coffea*. *J.Agric.Food Chem.* **1997**, *45*, 8, 3065–3069.

(35) Rubayiza, A. B.; Meurens, M. Chemical discrimination of Arabica and robusta coffees by Fourier transform Raman spectroscopy. *J.Agric.Food Chem.* **2005**, 53, 12, 4654–4659.

(36) Santos, J.C.F. *Origens e características das cultivares de café*. Disponível em: <<http://www.revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=ler&mat=3696>>. Acesso em: 03 abril de 2011.

(37) Scholz, M.B.S.; Figueiredo, V.R.G.; Silva, J.V.N.; Kitzberger, C.S.G. Características físico-químicas de grãos verdes e torrados de cultivares de café do Iapar. *Coffee Sci.* **2011**, 6, 3, 245-255.

(38) Sera, G.H.; Sera, T.; Ito, D.S.; Mata, J.S.; Doi, D.S.; Azevedo, J.A.; Ribeiro Filho, C. Progênies de *Coffea Arabica* cv IPR-100 resistentes ao nematóide *Meloidogyne paranaensis*. *Bragantia* **2007**, 66, 43-49.

(39) Silva, E.A.; Mazzafera, P.; Brunini, O.; Sakai, E.; Arruda, F.B.; Mattoso, L.H.C.; Carvalho, C.R.L.; Pires, R.C.M. The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. *Braz. J. Plant. Physiol.* **2005**, 17, 229-238.

(40) Southgate, D.A.T. Determination of Food Carbohydrates. *Applied Science Publishers*, Londres, **1976**. 197p.

(41) Speer, K.; Kölling-Speer., I. The lipid fraction of the coffee bean – Minireview, *Braz. J. Plant. Physiol.* **2006**, 18, 1, 201-216.

(42) Sridevi, V.; Giridhar, P.; Ravishankar, G.A. Free diterpenes cafestol and kahweol in beans and *in vitro* cultures of *Coffea* species. *Curr.Sci.* **2010**, 99, 8, 1101-1104.

(43) Statsoft. *STATISTICA for Windows: computer program manual*. Versão 7.1.Tulsa: Software Inc., **2006**.

(44) Steiman, S.R. (2003). Method development for green coffee analysis and its possible application for group discrimination and correlation of green coffee chemistry with cupping quality. Master of science thesis. Disponível em: http://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/handle/10125/6988/uhm_ms_3785_r.pdf?sequence=2.

(45) Urgert, R.; Van Der Weg, G.; Kosmeijer-Schuil, T. G.; Van De Bovenkamp, P.; Hovenier, R.; Katan, M. B. Levels of the cholesterol elevating diterpenes cafestol and kahweol in various coffee brews. *J.Agric.Food Chem.* **1995**, *43*, 8, 2167–2172.

(46) Vaast, P.; Bertrand, B.; Perriot, J.J.; Guyot, B.; Génard, M. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. *J. Sci. Food agric.* **2006**, *86*, 1, 197–204.

CAPÍTULO 3

**INFLUÊNCIA DA DIVERSIDADE GENÉTICA NA BIOATIVIDADE DE CAFÉS
ARÁBICA PRODUZIDOS NAS MESMAS CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS**

(A ser submetido a revista LWT - Food Science and Technology)

Resumo

A composição do café torrado é afetada pela genética, condições de cultivo, processos pós-colheita e de torra. Por meio do melhoramento transfere-se genes de resistência à doenças, afetando a composição por desenvolver cultivares de café arábica com presença de material genético do *C. canephora*. Compostos presentes no café (ácido clorogênico, trigonelina, cafeína, cafestol, caveol) e outros formados na torra (ácido nicotínico, melanoidinas), influenciam as características da bebida e possuem comprovada contribuição à saúde, atuando principalmente como antioxidantes. O objetivo do trabalho foi estudar cafés arábica de cultivares tradicionais (Bourbon, Catuaí e Icatu) e cruzamentos modernos (IAPAR 59 e IPRs 98, 99 e 103) submetidas às mesmas condições edafoclimáticas, e padronizando cultivo, colheita, e processos pós-colheita e de torra a fim de avaliar a influência da diversidade genética na composição e atividade antioxidante (AA). A composição de bioativos foi determinada por CLAE e espectrofotometria. Para estimar a AA, foram determinados fenólicos totais (Folin-Ciocalteu), a atividade sequestradora de radical livre (ABTS) e a inibição da auto-oxidação do ácido linoléico (dienos conjugados). As características genéticas conferiram variabilidade de composição aos cafés de cada cultivar, principalmente associada aos teores de 5-ACQ, caveol e cafestol. Cultivares com genes do *C. canephora* foram diferenciados dos cafés de genética arábica, apresentando um perfil diferenciado de diterpenos e expressiva atividade antioxidante.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, cultivares IPRs, compostos bioativos, atividade antioxidante.

3.1. Introdução

Atualmente o interesse e o consumo de café estão associados à discussão e divulgação dos seus efeitos na saúde atribuídos à bebida (Butt & Sultan, 2011). O Brasil, maior produtor e segundo maior consumidor de café, apresenta cultivo representativo tanto da espécie *Coffea arabica* (café arábica), quanto do *C. canephora*. Destaca-se ainda pela ampla área territorial destinada a cultura do café, diversidade de condições de cultivo e variabilidade genética entre cultivares.

As diferenças entre os cafés estão relacionadas tanto com a variabilidade genética (espécie e cultivar) quanto com fatores agronômicos e edafoclimáticos (altitude, temperatura, demanda hídrica, tipos e níveis de adubação, maturação dos grãos) e ainda com processos de pós-colheita, torra e armazenamento, que

influenciam a composição definindo a qualidade e aceitabilidade sensorial do café (Ky, Louarn, Dussert, Guyot, Hamon, & Noiro, 2001; Pimenta & Vilela, 2002; Silva, Mazzafera, Brunini, Sakai, Arruda, Mattoso, Carvalho, & Pires, 2005; Leroy, Ribeyre, Bertrand, Charmetant, Dufour, Montagnon, Marraccini, & Pot, 2006).

Os trabalhos na literatura estão usualmente mais focados nas diferenças associadas ao ambiente de produção e processamento do que nas cultivares de café empregadas. É importante caracterizar cada cultivar sob o aspecto sensorial, funcional e agrônomo, potencializando a qualidade juntamente com aspectos de produtividade e resistência à doenças, e permitindo desta maneira a indicação de cultivares específicos para cada região produtora de café, considerando a diversidade de clima, solo e disponibilidade hídrica.

O café arábica, em contraste com o *C. canephora*, que exibe uma grande diversidade de genes de resistência à várias doenças, é caracterizado pela maior susceptibilidade a pragas e doenças. As pesquisas de melhoramento de café buscam, no geral, transferir genes de resistência do *C. canephora* para o arábica via um híbrido interespecífico (Híbrido de Timor). Assim, novas cultivares de arábica são muitas vezes linhas introgressas que contém substancial quantidade de material genético do *C. canephora*. O Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) lançou diferentes cultivares de café resultantes de cruzamento original entre o *Coffea arabica* Villa Sarchi e o Híbrido de Timor (Sarchimor), que apresentam resistência à ferrugem (IAPAR 59 e IPRs 98 e 99) e de outros cruzamentos entre Icatu x Catuaí com características agrônomicas especiais e de resistência a doenças como necrose dos frutos (IPR 103) (Sera, Sera, Ito, Mata, Doi, Azevedo, & Ribeiro Filho, 2007).

Deve-se considerar, no entanto, que a introgressão pode carregar não

somente genes de resistência, mas também outros genes indesejáveis envolvidos na redução da qualidade da bebida (Bertrand, Villarreal, Laffargue, Posada, Lashermes, & Dussert, 2008).

A qualidade da bebida está associada a precursores de sabor e aroma naturais do café, como compostos nitrogenados, carboidratos, lipídios e fenólicos, e outros formados no processo de torra (produtos da reação de Maillard e ácido nicotínico) (Montavon, Mauron, & Duruz, 2003; Oosterveld, Voragen, & Schols, 2003; Silva, Mazzafera, Brunini, Sakai, Arruda, Mattoso, Carvalho, & Pires, 2005). Alguns desses compostos como cafeína, trigonelina, ácido nicotínico, ácido clorogênico (5-ACQ), melanoidinas, diterpenos (caveol e cafestol) tem sido destacados pela importância nutricional e funcional associada principalmente ao potencial como antioxidante (Rufián-Henares & Morales, 2007; Gómez-Ruiz, Leake, & Ames, 2008; Butt & Sultan, 2011; Vignoli, Bassoli, & Benassi, 2011).

Em virtude do grande número de parâmetros que podem influenciar a composição dos cafés e sua funcionalidade, o objetivo do presente estudo foi estudar cafés arábica brasileiros de cultivares tradicionais (Bourbon, Catuaí e Icatu) e de cruzamentos modernos (IAPAR 59 e IPRs 98, 99 e 103), produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas e submetidos à colheita, tratamentos pós-colheita e processo de torra padronizados, a fim de avaliar a influência da diversidade genética na composição e atividade antioxidante.

3.2. Material e métodos

3.2.1. Cafés: especificação, processamento e caracterização

As amostras de café arábica foram coletadas do Centro Tecnológico da Cooperativa COCARI, Mandaguari, Paraná - Brasil, durante os meses de maio a

julho de 2009. Foram coletadas sete amostras provenientes de um *pool* de plantas cultivadas nas condições de latitude (Sul) 23°32'52", altitude de 650 m e temperaturas médias anuais de 22-23°C. Foram estudadas cultivares tradicionais (com sua produção já bem estabelecida em diversas regiões do Brasil) e modernas (cruzamentos lançados e registrados pelo Instituto Agrônômico do Paraná). Entre as tradicionais avaliou-se Bourbon vermelho, Catuaí vermelho (cruzamento de Caturra amarelo x Mundo Novo) e Icatu amarelo, cruzamento de Icatu vermelho (híbrido de *C. canephora* e arábica) x Mundo Novo x Bourbon amarelo. Das cultivares modernas, avaliaram-se IAPAR 59, IPR 98 e 99 as quais são resultantes de cruzamento do Híbrido de Timor e Villa Sarchi (Sarchimor) e a IPR 103 que é um cruzamento de Catuaí vermelho IAC 99 e Amarelo IAC 66 x Icatu (Sera et al., 2007; Fazuoli, 2009; Santos, 2011).

Os cafés foram coletados em estágio cereja e secos ao sol naturalmente (côco), beneficiados e padronizados em peneira 16 (6,5 mm), e submetidos a eliminação de todos os defeitos.

Os cafés torrados em torrador Rod-Bel (São Paulo, Brasil) com duração de processo de 8 a 11 minutos, a uma temperatura de 200 a 210°C atingindo a perda de peso entre 15,2±0,9 %. Após torra, os cafés foram moídos na regulagem média, resultando em partículas com tamanho superior a 0,6 mm.

Para caracterização da cor (medida em duplicata) empregou-se colorímetro com iluminante CIE C, ângulo de 10° e observador padrão CIE. Os cafés apresentaram valores de luminosidade de 28,7±1,8 e tonalidade cromática de 54,4±2,7. Os cafés foram também caracterizados quanto a umidade (estufa 105°C até peso constante, em duplicata), apresentando umidade de 3,8±0,8 % (m/m) de café.

3.2.2. Materiais e equipamentos

Para extração e preparo de fase móvel foram empregados: tercbutil-metil éter grau CLAE (Acrós Organics, New Jersey), KOH (Quimex, São Paulo), acetonitrila grau CLAE (J.T.Baker, State of México), metanol (Nuclear, Diadema), ácido acético (Merk, Darmstadt) e etanol 98% (J. T. Baker, Xalostoc). Para análise de atividade antioxidante, foram utilizados os seguintes reagentes da Sigma Aldrich (St. Louis): Folin-Ciocalteu, ABTS 98% (2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), persulfato de potássio 99%, Trolox 95% (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2- ácido carboxílico), ácido linoléico 99% e Tween 20. Como padrões foram utilizados caveol e cafestol (Axxora, San Diego), ácido nicotínico, ácido-5-cafeoilquínico, cafeína, trigonelina, ácido gálico (Sigma Aldrich, St. Louis).

Empregou-se colorímetro Minolta CR-410 (Konica Minolta Sensing INC, Osaka), estufa de secagem FANEM 315 SE (Fanem, São Paulo), centrífuga Sovall SS-3 (Ivan Sorvall INC, New York), ultrassom FS110 (Fischer Scientific, Lafayette) e espectrofotômetro Evolution 300 UV- Vis (Thermo Scientific, San Jose).

Utilizou-se um cromatógrafo à líquido de alta eficiência Surveyor Plus (Thermo Scientific, San Jose) que consiste em um amostrador automático com controle de temperatura Peltier e forno de colunas integrado (Surveyor Plus), bomba quaternária (Surveyor LC Plus), detector de arranjo de diodos (Surveyor PDA Plus) com injetor automático (25µL), sistema de dados para cromatografia ChromQuest 5.0 e interface SS420.

3.2.3. Análises cromatográficas

3.2.3.1. Determinação de hidrossolúveis: ácido nicotínico, trigonelina, cafeína e ácido 5 – cafeoilquínico

Para extração, 0,5000 g de café foi fervido em 30 mL de solução água: acetonitrila (95:5 v/v) por 10 minutos. Após filtração, 10 mL do filtrado foram diluídos em 25 mL da solução de extração e filtrado em membrana de nylon (0,45 μm) (Millipore, Billerica), conforme Alves, Dias, Benassi, & Scholz, (2006). As extrações foram realizadas em duplicata.

Empregou-se como fase móvel (A) ácido acético 5% (v/v) e (B) acetonitrila em eluição gradiente: 0 a 5 min, 5% de B; 5 a 10 min, 5 a 13% de B (linear); 13 a 35 min, 13% de B, e 35 a 45 min; 5% de B a uma vazão de 0,7 mL min^{-1} , e temperatura do forno de 25°C. Como fase estacionária, foi utilizada coluna de fase reversa Spherisorb ODS 1 (250 mm x 4.6 mm i.d., 5 μm) (Waters, Milford). Ácido nicotínico e trigonelina foram detectados a 264 nm, cafeína a 272 nm e ácido 5-ACQ a 325 nm (Alves et al., 2006). A identificação foi baseada no tempo de retenção, co-cromatografia e espectros no UV. A quantificação foi realizada por padronização externa, construindo-se curvas de calibração com 6 pontos (em triplicata), nas seguintes faixas de concentração: ácido nicotínico (0,006 a 1,2 mg L^{-1}), trigonelina (0,06 a 12 mg L^{-1}), 5-ACQ (0,11 a 22 mg L^{-1}), cafeína (1,25 a 25 mg L^{-1}).

3.2.3.2. Determinação de diterpenos (caveol e cafestol)

Os cafés (0,2000 g) foram saponificados a 80°C por 1 h com 2,0 mL de hidróxido de potássio 2,5 mol L^{-1} (em etanol 96%, v/v). Após adição de 2,0 mL de água ultrapura, foi feita a extração dos insaponificáveis com 2,0 mL de tercbutil-metil éter, e posterior agitação e centrifugação (3 min a 3000 rpm) recolhendo-se a fase orgânica. Este procedimento de extração foi repetido três vezes. Adicionaram-se 2,0 mL de água destilada (para limpeza) e o extrato foi evaporado em banho-maria à secura (70 °C). Após ressuspensão em 4,0 mL de fase móvel, o extrato foi filtrado

em membrana de nylon 0,45 μm (Millipore, Billerica) (Dias, Campanha, Vieira, Pereira, Pot, Marraccini, & Benassi, 2010). As extrações foram realizadas em duplicata.

Foi utilizada coluna cromatográfica Spherisorb ODS 1 (250 mm x 4.6 mm i.d., 5 μm) (Waters, Milford), eluição isocrática de acetonitrila: água ultrapura (55:45, v/v) na vazão de 0,9 mL min^{-1} , e detecção a 220 e 290 nm, para cafestol e caveol, respectivamente. Empregou-se temperatura do forno de 25°C, e tempo de corrida de 20 minutos. A identificação e quantificação foram feitas como descrito para os hidrossolúveis. As curvas de calibração foram construídas na faixa de concentração de 50 a 1000 mg de caveol e cafestol para 100g (Dias et al., 2010).

3.2.4. Estimativa de melanoidinas

Cinco gramas de café foram extraídos com 50 mL de água ultrapura por 5 min e filtrados a vácuo. O conteúdo de melanoidinas foi estimado por leituras de absorvância a 420 nm, após diluição de 1:4 (v/v; μL de extrato mL^{-1} de água). As extrações foram realizadas em duplicata. O índice de cor dos compostos foi empregado como um indicador do desenvolvimento de produtos da reação de Maillard (López-Galilea, De Pena, & Cid, 2007).

3.2.5. Determinação da atividade antioxidante

3.2.5.1. Determinação da atividade doadora de íons hidrogênio ao radical ABTS^{•+}

Os extratos foram preparados por sonicação de 10,000 g de café em 50 mL de metanol 80% por 20 minutos. Após filtração a vácuo (papel de filtro Watman 1), o material foi lavado uma vez com 15 mL de metanol e duas vezes com 20 mL de

solução de metanol 80%. O volume foi completado com água destilada a 100 mL e resfriado por uma hora.

A atividade antioxidante (AA) foi avaliada conforme descrito por Sánchez-González, Jiménez-Escrig, & Saura-Calixto (2005). Para produção do cátion ABTS^{•+}, reagiu-se a solução de ABTS 7 mM L⁻¹ com persulfato de potássio 2,45 mM L⁻¹ e o reagente foi mantido no escuro a temperatura ambiente por 12 a 16 horas antes do uso. A solução de ABTS^{•+} foi diluída em tampão fosfato (pH 7,4) para obtenção de absorvância de 0,7 a 730 nm. Após a adição de 10 µL de padrão Trolox para 4 mL da solução ABTS^{•+}, as leituras a 730 nm foram realizadas após 6 minutos de reação. Soluções de etanol com concentrações conhecidas de Trolox (2,5; 5,0; 7,5; 12,5 e 20,0 µM L⁻¹) foram usadas para calibração. Os resultados foram obtidos em duplicata e foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC, µmol eq g⁻¹ de sólidos totais).

3.2.5.2. Determinação da inibição da auto-oxidação do ácido linoléico (formação de dienos conjugados)

Os extratos foram preparados com 10,0000 g de café extraídos em 100 mL de água destilada em ebulição por 10 min (Daglia, Papetti, Gregotti, Bertè, & Gazzani, 2000). Foi avaliado o aumento do conteúdo de dienos conjugados (absorvância a 234 nm) na emulsão de ácido linoléico 10 mM em Tween 20 (0,0280 g) em tampão fosfato 0,1 M L⁻¹ (10 mL, pH 6,5). Após adição dos extratos (20 µL) a 2 mL da emulsão e agitação, os tubos foram colocados ao abrigo de luz a 37°C, por 17 horas. Após adição de 0,2 mL da mistura a 2 mL de metanol absoluto e 6 mL de metanol 60%, e agitação, foi lida a absorvância (Mau, Tsai, Tseng, & Huang, 2005). As análises foram realizadas em duplicata. O branco consistiu de um tubo de ensaio

sem amostra e ácido linoléico e o controle sem amostra. A AA foi expressa como porcentagem (Equação 1).

$$AA\% = (\text{Abs}_{234} \text{ controle} - \text{Abs}_{234} \text{ amostra}) / (\text{Abs}_{234} \text{ controle}) * 100 \quad \text{Equação 1}$$

3.2.5.3. Determinação de compostos fenólicos totais

A amostra (0,1500 g) foi dissolvida em água em ebulição sob agitação durante 5 min, e após a filtração, coletou-se o filtrado (1 mL) em tubo de ensaio. Adicionaram-se 5 mL do reagente Folin Ciocalteau diluído para 0,04 N, e 4 mL de solução de carbonato de sódio (75 g L⁻¹) e agitou-se em Vortex. Após banho-maria (50°C por 5 min) e resfriamento, foi feita a leitura da absorvância a 760 nm. Realizaram-se as análises em duplicata. Para curva de calibração, empregou-se o ácido gálico como padrão (1 a 10 µg mL⁻¹), e os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹ de café.

3.2.6. Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância, considerando-se como causa de variação as cultivares de café, teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e correlação de Pearson. Em adição, empregou-se Análise de Componentes Principais (ACP), considerando como variáveis os parâmetros de composição e os métodos de avaliação de atividade antioxidante, empregando o software XLStat versão 2008.4.02 (Addinsoft, 2008).

3.3. Resultados e Discussão

A composição de bioativos e a atividade antioxidante dos cafés para cada cultivar estão apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de cafés torrados de diferentes cultivares.

	Cultivar	Bourbon	Catuá	Icatu	IAPAR 59	IPR 98	IPR 99	IPR 103
Comp. bioativos	Ác. Nicotínico¹	19±3 ^a	25±3 ^{a,b}	24±3 ^{a,b}	26±1 ^{a,b}	20±0 ^a	27±1 ^{a,b}	29±0 ^b
	Trigonelina¹	947±3 ^{a,b}	943±28 ^{a,b,c}	950±6 ^{a,b}	1005±33 ^a	825±39 ^d	880±1 ^{b,c,d}	836±43 ^{c,d}
	5-ACQ¹	1695±121 ^a	1133±24 ^b	1467±118 ^a	1627±21 ^a	1452±7 ^a	936±41 ^b	1028±64 ^b
	Cafeína¹	1083±7 ^{d,e}	1177±5 ^{c,d}	1356±8 ^a	1309±44 ^{a,b}	1225±59 ^{b,c}	1038±2 ^e	1257±42 ^{a,b,c}
	Melanoidinas²	0,31±0 ^f	0,34±0 ^e	0,37±0 ^c	0,38±0 ^c	0,36±0 ^d	0,46±0 ^a	0,42±0 ^b
A. antioxidante	Cafestol¹	742±41 ^a	668±52 ^{a,b}	683±50 ^{a,b}	414±20 ^d	581±23 ^{b,c}	477±16 ^{c,d}	438±19 ^d
	Caveol¹	465±18 ^d	439±43 ^d	636±51 ^c	1068±21 ^a	803±56 ^b	832±27 ^b	743±37 ^{b,c}
	FT¹	4651±0,1 ^{a,b}	4294±0 ^d	4535±0 ^{b,c}	4694±0 ^a	4490±0 ^c	4172±0,1 ^d	4293±0,1 ^d
	TEAC³	395,68±3 ^c	454,74±24 ^{b,c}	541,40±12 ^{a,b}	512,26±23 ^{a,b}	530,67±36 ^{a,b}	582,82±25 ^a	560,58±20 ^a
	Dienos⁴	81,08±0,1 ^b	80,12±0,1 ^{b,c}	82,72±0,1 ^a	83,01±0,3 ^a	83,01±0,5 ^a	80,19±0,3 ^c	82,42±0,3 ^a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p > 0,05$). Valores médios \pm SD.

¹ Valores expressos em mg 100g⁻¹ de amostra. ² Valores expressos em abs (UA) a 420 nm. ³ Valores expressos em μ M g⁻¹ de equivalente em Trolox por grama de amostra. ⁴ Porcentagem de inibição da auto-oxidação do ácido linoléico.

5-ACQ= ácido cafeoilquinico, FT= Fenólicos Totais, Dienos = Auto-oxidação do ácido linoléico (formação de dienos conjugados), TEAC= Capacidade de sequestro do radical ABTS

Os teores de ácido nicotínico, principal produto da degradação da trigonelina no processo de torra (Viani & Horman, 1974), variaram de 19 a 29 mg 100 g⁻¹ (Tabela 3.1). Esse composto tem atuação como vitamina, e os valores foram próximos à faixa de 24 a 32 mg 100 g⁻¹ reportado na literatura para cafés comerciais brasileiros 100 % arábica (*Gourmet*) (De Souza, Canuto, Dias, & Benassi, 2010). Observou-se que as cultivares Bourbon e IPR 98 apresentaram os menores teores de ácido nicotínico (Tabela 3.1).

Para a trigonelina, observou-se variação de 825 a 1005 mg 100 g⁻¹ (Tabela 3.1). Esses teores foram superiores aos descritos por De Souza et al. (2010) que avaliou cafés comerciais brasileiros 100 % arábica (430 a 670 mg 100 g⁻¹), que provavelmente apresentavam torra mais intensa (L* média de 20,5). No geral, os cruzamentos IPR 98, 99 e 103 apresentaram menor teor de trigonelina, enquanto o IAPAR 59 foi mais similar aos cafés tradicionais.

Leroy et al. (2006) relataram vários estudos sobre hereditariedade dentro de cruzamentos com reflexos na qualidade da bebida, e citaram que dentre os compostos que apresentam alta hereditariedade, ou seja, são fortemente influenciados pela genética, está a trigonelina.

Os teores de 5-ACQ apresentaram variação expressiva entre as cultivares (936 a 1695 mg 100 g⁻¹) observando-se, assim, dois comportamentos: cafés com valores acima de 1400 mg 100 g⁻¹ (Bourbon, Icatu, IAPAR 59, IPR 98) e aqueles com valores abaixo de 1200 mg 100 g⁻¹ (IPR 99, IPR 103 e Catuaí) (Tabela 3.1). Os ácidos clorogênicos, além do aspecto funcional, são importantes na qualidade sensorial da bebida, como precursores dos ácidos fenólicos livres e, por conseguinte, dos compostos fenólicos voláteis que participam da formação do aroma do café torrado (Farah, & Donangelo, 2006). A literatura descreve que as

concentrações de ácidos clorogênicos podem variar em função da genética (espécie e cultivar), grau de maturação, práticas agrícolas (clima e solo) e grau de torra (Farah, & Donangelo, 2006). Ky et al. (2001) relataram que para a maioria dos ACGs a origem geográfica dentro de um grupo genético é a principal causa da variabilidade na concentração. Daglia, Cuzzoni, & Decarro (1994) encontraram teores de ácidos clorogênicos de 140 a 2170 mg 100 g⁻¹ para cafés arábica de diferentes torras e cultivados em diferentes áreas geográficas. De Souza et al. (2010) relataram para cafés arábica brasileiros comerciais variação de 270 a 1200 mg de 5-ACQ 100 g⁻¹ de café, empregando torras mais severas.

Bertrand, Guyot, Anthony, & Lashermes (2003) descreveram que a introgressão de genes de resistência à ferrugem da espécie *C. canephora* (que apresenta maior teor de ácidos clorogênicos que o café arábica), conseguida via cruzamentos com o Híbrido de Timor, poderia gerar cultivares com altos teores de ácidos clorogênicos e compostos fenólicos totais. No presente trabalho não se observou, no entanto relação direta entre o tipo de cruzamento e o teor de ácido clorogênico, uma vez que cafés originários de Sarchimor (IAPAR 59, IPR 98 e 99) apresentaram conteúdos muito variáveis de 5-ACQ (Tabela 3.1). Não foi também observado um padrão de composição entre uma cultivar híbrida (IPR 103) e as cultivares tradicionais que lhes deram origem (Catuaí e Icatu) (Tabela 3.1). Vale ressaltar que tal variabilidade de composição pode ser atribuída, ainda, a maior ou menor adaptação de cada cultivar às condições edafoclimáticas de cultivo, pois esses compostos dependem do local de produção (Ky et al. 2001).

Com relação à cafeína pode-se observar variação nos teores de 1038 a 1386 mg 100 g⁻¹ (Tabela 3.1), que estão próximos a faixa descrita pela literatura de 990 a 1540 mg 100 g⁻¹, para diferentes cultivares brasileiras arábica e híbridas e

diferentes métodos de preparo (Duarte, Pereira, & Farah, 2010) e para cafés arábica comerciais (De Souza et al., 2010). Mazzafera, Carvalho, Fazuoli, & Medina Filho (1992) descreveram teores de cafeína de várias cultivares arábica em diferentes safras e relataram haver variabilidade na concentração entre os diversos cruzamentos empregando Híbrido de Timor e Villa Sarchi. Para as cultivares Bourbon e Catuaí, os autores citam teores de cafeína (1140 e 1180 mg 100 g⁻¹), semelhantes aos encontrados nesse trabalho.

Verificou-se que as cultivares que tiveram cruzamento com a espécie *C. canephora* (Icatu, IAPAR 59, IPR 98 e 99) não necessariamente apresentaram os teores mais altos de cafeína. Mendonça, Pereira, Mendes, Borém, & Marques (2007) descreveram menores teores de cafeína do que esperavam em cultivares de cruzamentos de arábica com *C. canephora*, visto que este último apresenta quase o dobro do conteúdo de cafeína que cafés arábica. Charrier & Berthaud (1975) ressaltaram, contudo, que a expressão do genótipo para a síntese da cafeína é diferenciada ocorrendo conjuntamente interação genótipo e ambiente, o que pode resultar em teores variados de cafeína mesmo havendo cruzamentos com *C. canephora*.

O conteúdo de melanoidinas variou de 0,31 a 0,46 UA, sendo os menores valores para os cafés Bourbon e Catuaí e os maiores para o IPR 99 e 103. Para os cafés IPR 99 e 103, que apresentaram baixos valores de 5-ACQ, observaram-se os mais altos valores de melanoidinas (0,46 e 0,42, respectivamente) (Tabela 3.1). Uma vez que compostos fenólicos participam na reação de formação de polímeros, tornando-se parte das melanoidinas do café (Bekedam, Schols, Van Boekel, & Smit, 2008), pode-se considerar que, mesmo em condições padronizadas de torra, o 5-ACQ parece ter sido mais incorporado pelas melanoidinas na matriz desses

cultivares.

Os compostos lipossolúveis, cafestol e caveol, variaram de 414 a 742 mg 100 g⁻¹ e de 439 a 1068 mg 100 g⁻¹, respectivamente. Verifica-se que os teores de cafestol e caveol tiveram maior variação do que os componentes hidrossolúveis estudados, indicando um provável maior efeito da genética no conteúdo de diterpenos (Tabela 3.1). Campanha, Dias, & Benassi (2010) observaram em cafés arábica brasileiros concentrações de 360 a 478 e de 661 a 866 mg 100 g⁻¹ para cafestol e caveol, respectivamente. De Souza et al. (2010) reportaram para cafés arábica brasileiros comerciais teores de 440 a 479 mg 100 g⁻¹ para cafestol e 570 a 800 mg 100 g⁻¹, para caveol.

Pela análise da relação caveol/caffestol pode-se verificar que os cafés de cultivares tradicionais (Bourbon, Catuai e Icatu) apresentaram uma relação abaixo de um (na faixa de 0,63 a 0,93) indicando um maior teor de cafestol (Figura 3.1). Os cruzamentos modernos (IAPAR 59, IPR 98, 99 e 103) pelo maior teor de caveol, apresentaram uma relação caveol/caffestol variando de 1,38 a 2,58 (Figura 3.1). Kitzberger, Scholz, Pereira, Vieira, Sera, Silva, & Benassi (2010) verificaram em outros cafés da coleção de IPRs (IPR 100, 102 e 106) o mesmo comportamento na relação caveol/caffestol (razões de 2,77; 1,75 e 3,07, respectivamente). Apesar dos teores de caveol e cafestol e da relação caveol/caffestol apresentarem grande variação com a origem genética, os teores totais de diterpenos (caveol + cafestol) apresentam menor variabilidade (1482 mg 100 g⁻¹, para IAPAR 59, até 1107 mg 100 g⁻¹ para Catuai) (Figura 3.1). A literatura relata para caveol vários efeitos benéficos à saúde e destaca que o cafestol tem papel comprovado na elevação do colesterol (Butt & Sultan, 2011), assim pode-se verificar que do ponto de vista da saúde há benefícios em um café que apresente alto teor de caveol e baixo de cafestol como o

observado nos cruzamentos modernos.

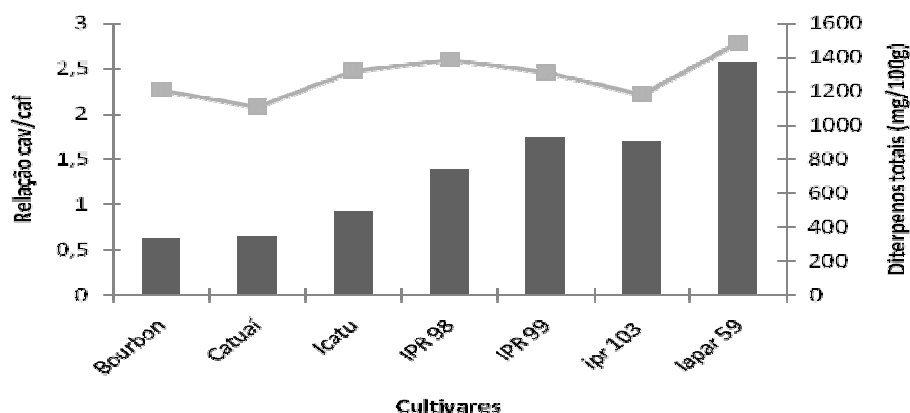


Figura 3.1 - Relação caveol/cafestol e teor de diterpenos totais ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) para os cafés torrados de diferentes cultivares.

As diferentes cultivares estudadas foram avaliadas também quanto a sua atividade antioxidante, considerando-se métodos que avaliam diferentes mecanismos (fenólicos totais, TEAC e dienos conjugados) (Tabela 3.1), uma vez que não existe metodologia oficial para determinação da AA. Duas abordagens são aplicadas para a determinação da atividade antioxidante, direta ou indireta. Quando o método indireto é aplicado estuda-se mais freqüentemente a habilidade do antioxidante em seqüestrar alguns radicais livres, como o ânion radical de longa vida $\text{ABTS}^{+\bullet}$, avaliando-se a capacidade doadora de hidrogênio expressa em TEAC. Termodinamicamente, um composto pode reduzir $\text{ABTS}^{+\bullet}$ quando tem um potencial redox menor que o ABTS (0,68 V) (Awika, Rooney, Wu, Prior, & Cisneros-Zevallos, 2003). O método de Folin-Ciocalteu, frequentemente utilizado como medida de compostos fenólicos totais tem seu mecanismo baseado em uma reação de oxidação/redução (Prior, Wu, & Schaich, 2005). Métodos diretos caracterizam-se pela presença de uma competição entre uma sonda oxidável e o antioxidante pelos radicais gerados por uma fonte de radicais livres. Como substrato de oxidação pode

ser utilizado, entre outros lipídios o ácido linoléico (Roginsky & Lissi, 2005).

Pelo método de Folin-Ciocalteu obtiveram-se teores entre 4172 a 4694 mg de fenólicos totais 100 g^{-1} de café (de equivalente em ácido gálico). Os cafés Bourbon, Icatu, IAPAR 59 e IPR 98 apresentaram os maiores valores, mas no geral observou-se pequena variação (0,2 %). Mendonça et al. (2007) avaliando cafés verdes de cruzamentos resistentes à ferrugem verificaram que quatro (Acauã, Canário, Catucaí Amarelo e Icatu Amarelo) das sete cultivares estudadas apresentaram altos teores de fenóis, o que poderia ser explicado pela participação de *C. canephora* nos cruzamentos. No entanto, no presente trabalho, de forma similar ao já discutido para 5-ACQ, não foi observada uma relação direta entre o tipo de cruzamento e a AA determinada por Folin-Ciocalteu.

Quanto a capacidade de inibir a auto-oxidação do ácido linoléico, observada pela concentração de dienos conjugados (234 nm), observou-se alta porcentagem de inibição para todos os cafés e pequena variação compreendendo a faixa de 80,12 à 83,01%. Os cafés IAPAR 59, IPR 98, IPR 103 e Icatu apresentaram maior AA associada à capacidade de inibição. Parras, Martinez-Tomé, Jiménez, & Murcia (2007) encontraram resultados similares (79% de inibição), porém empregando 28 dias de armazenamento da bebida de café filtrado.

A atividade antioxidante dos extratos de café foi também avaliada através da atividade redutora frente ao radical $\text{ABTS}^{+\bullet}$, onde se observou maior diferenciação entre o comportamento das cultivares. Os valores de atividade antioxidante dos extratos de café mostraram a alta capacidade destes extratos para seqüestrar os radicais livres testados. Em relação ao radical $\text{ABTS}^{+\bullet}$ os extratos mostraram valores de TEAC de 395,68 à 582,82 ($\mu\text{M eq g}^{-1}$). Os cafés que apresentaram maior atividade foram a IPR 99 e o IPR 103, enquanto que Bourbon apresentou a menor

atividade. Gómez-Ruiz et al. (2008) avaliando cafés arábica brasileiros em torra média encontraram valores de TEAC de $597 \mu\text{Meq g}^{-1}$, valor comparável à maior atividade encontrada no presente estudo.

Cabe ressaltar que os dados de composição e atividade antioxidante de cada cultivar nesse trabalho foram obtidos em condições edafoclimáticas específicas e que outras condições de cultivo poderiam alterar esse comportamento. Informações de produtividade, resistência, adaptação a condições edafoclimáticas e características físico-químicas e sensoriais dos cafés podem ser usadas a fim de se direcionar a produção da cultivar mais adequado para cada condição de local de cultivo, permitindo assim que expresse seu máximo potencial de qualidade.

A Análise de Componentes Principais (ACP) foi empregada para avaliar de forma conjunta as características de composição e a atividade antioxidante, observando as correlações entre variáveis e caracterizando os diferentes cultivares. O *biplot* da ACP dos cafés cultivados nas mesmas condições edafoclimáticas podem ser visualizados na Figura 3.2.

Os dois primeiros componentes explicaram 76,3% da variância total, sendo que o componente 1 (CP1) contribuiu para 45,8% da explicação, e o CP2, 30,5%. As Equações 2 e 3 apresentam os fatores que contribuíram para a formação dos componentes. CP1 foi mais bem correlacionada às variáveis ácido nicotínico, melanoidinas e AA expressa em TEAC (de forma positiva), e 5-ACQ e cafestol (de forma negativa). CP2 foi associado de forma positiva às variáveis cafeína, caveol e AA expressa em dienos e em FT (Figura 3.2, Equações 2 e 3).

$$\text{CP1} = 0,85 \text{ ácido nicotínico} - 0,80 \text{ 5-ACQ} - 0,82 \text{ cafestol} + 0,95 \text{ melanoidinas} + 0,87 \text{ TEAC} \quad \text{Equação. 2}$$

$$\text{CP2} = 0,77 \text{ cafeína} + 0,71 \text{ caveol} + 0,69 \text{ FT} + 0,93 \text{ dienos} \quad \text{Equação. 3}$$

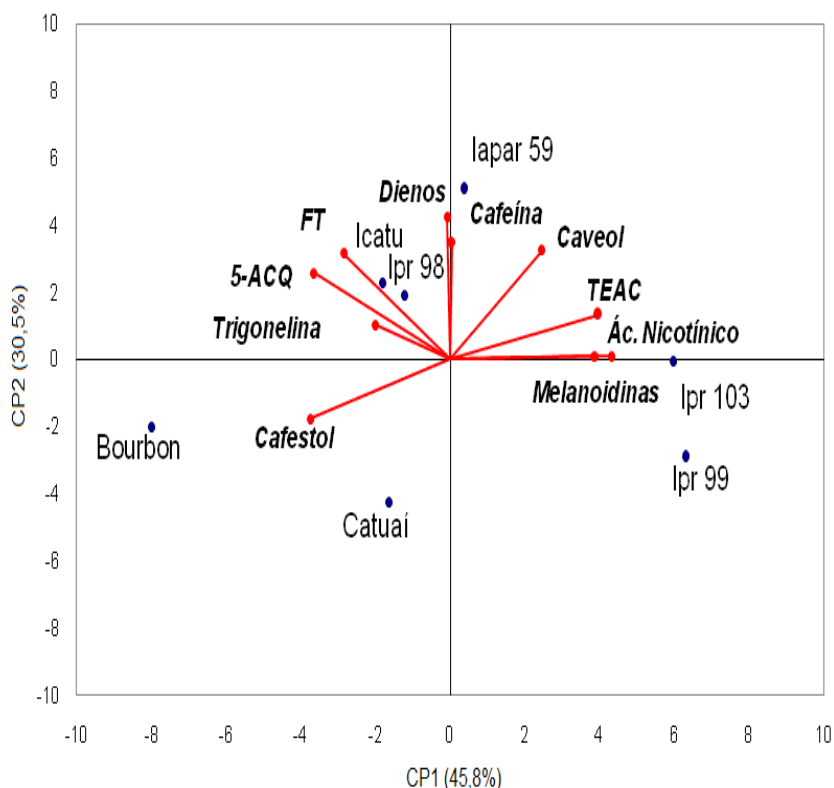


Figura 3.2 – *Biplot* dos cafés torrados de diferentes cultivares para os Componentes Principais 1 e 2 considerando variáveis de composição e atividade antioxidante.

Pela correlação de Pearson observou-se alta correlação entre a AA medida por diferentes métodos e alguns dos compostos bioativos: TEAC e melanoidinas ($r=0,90$), dienos e cafeína ($r=0,81$) e FT e 5-ACQ ($r=0,93$).

As cultivares IPR 99 e IPR 103, a direita do gráfico, foram discriminadas das cultivares IAPAR 59, Icatu e IPR 98, alocados ao centro e acima no gráfico, e das demais cultivares tradicionais (Bourbon e Catuai), configuradas a esquerda e abaixo no gráfico. Esta discriminação aconteceu tanto em função de compostos formados durante a torra (ácido nicotínico e melanoidinas), quanto de compostos geneticamente controlados, que mostram individualmente maior diferenciação entre cultivares (5-ACQ e os diterpenos), e pela atividade antioxidante (Figura 3.2).

No geral, todas as cultivares apresentaram alta atividade antioxidante, não sendo observada uma relação direta entre variabilidade genética e bioatividade. Observou-se que a IPR 103, por exemplo, apresentou perfil de composição e funcionalidade diferente das cultivares que lhes deram origem (Catuaí e Icatu) (Tabela 3.1, Figura 3.2).

No entanto, cultivares que apresentaram origem genética associada ao *C. canephora* (desenvolvidas para aumentar resistência a pragas e doenças e produtividade), sejam elas modernas como as resultantes de cruzamentos Sarchimor (IPR 98, 99 e IAPAR 59) ou de cruzamentos de Catuaí e Icatu (IPR 103), ou tradicional como o Icatu derivado de introgressão do *C. canephora*, se diferenciaram das cultivares tradicionais Bourbon e Catuaí de genética arábica, tanto pela composição como pela atividade antioxidante. A maior diversidade na AA foi associada à capacidade de atuação como sequestrante de radical livre (TEAC) e foi mais expressiva para as cultivares de genética *C. canephora*, destacando-se os cruzamentos modernos IPR 99 e 103. Dessa forma, na região de plantio e com as condições edafoclimáticas estudadas, essas cultivares poderiam ser indicadas para a produção de cafés com maior bioatividade.

Leroy et. al. (2006) relataram que a presença de genes do *C. canephora* deve ser analisada com certa cautela, o melhoramento genético empregado pode ter efeitos positivos ou negativos na qualidade do café. Do ponto de vista funcional, no entanto, nas condições do estudo os cruzamentos que tiveram o *C. canephora* como introdutor de um gene de resistência mostraram expressiva atividade antioxidante e perfil de diterpenos mais favorável do que o observado para cafés tradicionais de genética arábica.

3.4. Conclusão

As características genéticas de cada cultivar conferiram variabilidade de composição aos cafés torrados, principalmente associada aos teores de 5-ACQ e diterpenos (caveol e cafestol). Cultivares que empregam genes do *C. canephora* em seu cruzamento, desenvolvidas para aumentar resistência a pragas e doenças e aumento de produtividade, foram diferenciados dos cafés de genética arábica pelo perfil de diterpenos e apresentaram expressiva atividade antioxidante.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão de bolsas de Doutorado e Produtividade em Pesquisa e pelo financiamento do projeto, e ao Centro Tecnológico da Cooperativa COCARI pelo fornecimento dos cafés.

Referências

- Addinsoft. (2007). *XLStat: software for statistical analysis*. Versão 2008.4.02, 2008. Paris. 1 CD-ROM.
- Alves, S. T., Dias, R.C.E., Benassi, M.T., & Scholz, M.B.S. (2006). Metodologia para análise simultânea de ácido nicotínico, trigonelina, ácidos clorogênicos e cafeína em café torrado por cromatografia líquida de alta eficiência. *Química Nova*, 29, 1146-1148.
- Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X., Prior, R.L., & Cisneros-Zevallos, L. (2003). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6657-6662.
- Bertrand, B., Etienne, H., Lashermes, P., Guyot, B., & Davrieux, F. (2005). Can near-infrared reflectance of green coffee be used to detect introgression in *Coffea arabica*

cultivars? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 955–962.

Bertrand, B., Villarreal, D., Laffargue, A., Posada, H., Lashermes, P., & Dussert, S. (2008). Comparison of the effectiveness of fatty acids, chlorogenic acids, and elements for the chemometric discrimination of coffee (*Coffea arabica* L.) varieties and growing origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2273-2280.*

Bertrand, B., Guyot, B., Anthony, F., & Lashermes, P. (2003). Impact of the *Coffea canephora* gene introgression on beverage quality of *C. Arabica*. *Theoretical and Applied Genetics*, 107, 387-394.

Bekedam, E. K., Schols, H.A., Van Boekel, M.A.J.S., & Smit, G. (2008). Incorporation of chlorogenic acids in coffee brew melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2055-2063.*

Butt, M.S., & Sultan, M.T. (2011). Coffee and its consumption: benefits and risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 363 – 373.

Campanha, F. G., Dias, R.C.E., & Benassi, .M.T. (2010). Discrimination of coffee species using kahweol and cafestol: effects of roasting and of defects. *Coffee Science*, 5, 87-96.

Charrier, A., & Berthaud, J. (1985). Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*. *Café Cacao Thé*, 11, 251-264.

Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Bertè, F., & Gazzani, G. (2000). In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1449-1454.

Daglia, M., Cuzzoni, M.T., & Dacarro, C. (1994). Antibacterial activity of coffee: relationship between biological activity and chemical markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2273-2277.

De Souza, R. M. N., Canuto, G. A. B., Dias, R. C. E., & Benassi, .M. T.(2010). Teores

de compostos bioativos em cafés torrados e moídos comerciais. *Quimica Nova*, 33, 885-890.*

Dias, R. C. E., Campanha, F. G., Vieira, L. G. E., Pereira, L. P., Pot, D., Marraccini, P., & Benassi, M. T. (2010). Evaluation of kahweol and cafestol in coffee tissues and roasted coffee by a new High-Performance Liquid Chromatography Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 88–93.*

Duarte, G.S., Pereira, A.A., & Farah, A. (2010). Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry*, 118, 851-855.

Farah, A., Monteiro, M.C., Trugo, L.C. Distribuição dos ácidos clorogênicos nos principais defeitos do café. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (4.: Londrina, PR : 2005). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa - Café, 2005. CD-ROM.

Farah, A., & Donangelo, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 23-26.

Fazuoli, L.C. (2009). Melhoria de *Coffea arabica* - Melhoria do café - Mesa redonda, Centro de Café 'Alcides Carvalho' – IAC, Guarapará, 11– 08 – 2009.

Gómez-Ruiz, J. A., Ames, J. M., & Leake, D. S. (2008). Antioxidant activity and protective effects of green and dark coffee components against human low density lipoprotein oxidation. *European Food Research and Technology*, 227, 1017-1024.

Kitzberger, C. S. G., Scholz, M. B. S., Silva, J. B. G. D., & Benassi, M. T. (2011). Caracterização sensorial de cafés arábica de diferentes cultivares produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas. *Brazilian Journal of Food Technology*, 14, 38-49.

Kitzberger, C. S. G., Scholz, M. B. S., Pereira, L.F.P., Vieira, L.G.E., Sera, T., Silva, J. B. G. D., & Benassi, M. T. (2010). Analysis of diterpenes in green and roasted

coffee of *Coffea arabica* cultivars growing in the same edapho-climatic conditions. In: 23 International Conference on Coffee Science, 2010, Bali - Indonesia. Abstracts 23 International Conference on Coffee Science. CD ROM.

Ky, C. L., Louarn, J., Dussert, S., Guyot, B., Hamon, S., & Noirot, M. (2001). Caffeine, trigonelline, chlorogenic acid and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry*, 75, 223-230.

Leroy, T., Ribeyre, F., Bertrand, B., Charmetant, P., Dufour, M., Montagnon, C., Marraccini, P., & Pot, D. (2006). Genetics of coffee quality. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 229-242.

Lopez-Galilea, I., De Pena, M. P., & Cid, C. (2007). Correlation of selected constituents with the antioxidant capacity of coffee beverages: Influence of the brewing procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6110–6117.

Mau, J-L, Tsai, S-Y, Tseng, Y.H., & Huang, S.J. (2005) Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. *LWT- Food Science and Technology*, 38, 589–597.

Mazzafera, P., Carvalho, A., Fazuoli, L.C., & Medina Filho, H.P. (1992) Variabilidade do teor de cafeína em sementes de café. *Turrialba*, 42, 231–237.

Mendonça, L. M. V. L., Pereira, R. G. F. A., Mendes, A. N. G., Borém, F. M., & Marques, E. R. (2007). Composição química de grãos crus de cultivares de *Coffea arabica* L. suscetíveis e resistentes à *Hemileia vastatrix* Berg et Br. *Ciência e Agrotecnologia*, 31, 413-419.

Montavon, P., Mauron, A. F., & Duruz, E. (2003). Changes in green coffee protein profiles during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2335-2343.

Oosterveld, A., Voragen, A. G. J., & Schols, H. A. (2003). Effect of roasting on the carbohydrate composition of *Coffea arabica* beans. *Carbohydrate Polymers*, 54, 183-

192.

Parras, P., Martínez-Tomé, M., Jiménez, A. M., & Murcia, M. A. (2007). Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. *Food Chemistry*, 102, 582–592.

Pimenta, C. J., & Vilela, E. R. (2002). Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras-Mg. *Ciência e Agrotecnologia, ed especial*, 1481-1491.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290–4302.

Roginsky, V., & Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92, 235-254.

Rufián-Henares, J. A., & Morales, F. J. (2007). Functional properties of melanoidins: In vitro antioxidant, antimicrobial and antihypertensive activities. *Food Research International*, 40, 995–1002.

Sánchez- González, I, Jiménez – Escrig, A., & Saura – Calixto, F. (2005). In vitro antioxidant activity of brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). *Food Chemistry*, 90, 133-139.*

Santos, J. C. F. (2011). *Origens e características dos cultivares de café*. Disponível em: <<http://www.revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=ler&mat=3696>>. Acesso em: 03 abril.

Sera, G. H., Sera, T., Ito, D. S., Mata, J. S., Doi, D. S., Azevedo, J. A., & Ribeiro Filho, C. (2007). Progênies de *Coffea Arabica* cv IPR-100 resistentes ao nematóide *Meloidogyne paranaensis*. *Bragantia*, 66, 43-49.

Silva, E. A, Mazzafera, P., Brunini, O., Sakai, E., Arruda, F. B., Mattoso, L. H. C.,

Carvalho, C. R. L., & Pires, R. C. M. (2005). The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 229-238.

Viani, R., & Horman, I. (1974). Thermal behavior of trigonelline. *Journal of Food Science*, 39, 1216-1217.

Vignoli, J. A., Bassoli, D. G., & Benassi, M. T. (2011). Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 124, 863-868.

* As referências marcadas na lista são consideradas referências chave por serem as mais importantes para embasar os principais assuntos aqui estudados: compostos hidrossolúveis, melanoidinas, cruzamentos e aspectos genéticos, diterpenos e atividade antioxidante.

CAPÍTULO 4

CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL DE CAFÉS ARÁBICA DE DIFERENTES CULTIVARES PRODUZIDOS NAS MESMAS CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS

Trabalho Publicado como:

KITZBERGER, C.S.G.; SCHOLZ, M.B.S.; SILVA, J.B.G.D. ;BENASSI, M. T..
Caracterização sensorial de cafés arábica de diferentes cultivares produzidos nas
mesmas condições edafoclimáticas. Brazilian Journal of Food Technology, v. 14, p.
39-48, 2011.

Resumo

O melhoramento genético de café promove ganhos em produtividade e características de interesse agrônomico, mas afeta a composição do produto e conseqüentemente seus atributos sensoriais. A análise descritiva de Perfil Livre foi empregada para investigar a influência da variabilidade genética sobre as características das bebidas de cafés arábica de diferentes cultivares produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas. Foram estudadas cultivares tradicionais (Bourbon, Catuaí vermelho, Icatu amarelo) e as desenvolvidas pelo Instituto Agrônomico do Paraná (Iapar 59, IPR 98, IPR 99 e IPR 103). Os cafés, coletados em estágio cereja e secos ao sol, foram beneficiados e, após eliminação de defeitos, torrados (8 a 11 min, 200 a 210°C, L* de 28). Empregou-se 15 provadores e um delineamento de blocos incompletos balanceados para sete amostras, com 3 repetições. Os dados foram analisados por Análise Procrustes Generalizada. Os provadores mostraram concordância, repetibilidade e adequada discriminação. As duas primeiras dimensões foram responsáveis por 57% da variância observada. A primeira dimensão caracterizou-se principalmente pelos parâmetros cor de café, turbidez, aroma de café, chocolate, caramelo e doce, sabor amargo e textura encorpada (positivamente). A segunda dimensão correlacionou-se positivamente com sabor ácido e verde e transparência. O café Bourbon caracterizou-se como menos encorpado, pela menor intensidade de cor e de sabor amargo. As cultivares Iapar 59, IPR 98, Icatu e Catuaí foram descritas como similares e apresentaram comportamento intermediário. Catuaí diferenciou-se pela menor intensidade de sabor ácido e verde. As cultivares IPR 99 e IPR 103 foram caracterizadas como mais encorpadas e pela maior intensidade de cor de café, turbidez, aroma de café, chocolate, caramelo e doce. As condições edafoclimáticas da região estudada proporcionaram a formação de atributos positivos para os cultivares oriundos de cruzamentos.

Palavras-chave: Perfil Livre, Bourbon, Catuai, IPRs, IAPAR 59.

SENSORY CHARACTERISTICS OF DIFFERENT *COFFEA ARABICA* CULTIVARS GROWING IN THE SAME EDAPHO-CLIMATIC CONDITIONS.

Genetic improvement increased the productivity and positive agronomical traits of coffee, but affects the composition and the sensory attributes of the product. Free Choice Profiling was used to evaluate the influence of genetic variability on the sensory characteristics of arabica coffee beverages of different varieties produced in the same climate conditions. Traditional cultivars (Bourbon, red Catuaí, yellow Icatu) and cultivars developed by the Instituto Agrônomico do Paraná (Iapar 59, IPR 98, IPR 99 and IPR 103) were studied. Cherry fruits were sun dried, manually selected to eliminate defective coffee beans and roasted (8 to 11 min, 200 to 210 °C, L * around 28). Sensory panel (15 assessors) evaluated the beverages in an incomplete balanced block design for seven samples, with three replications. Data were analyzed by Generalized Procrustes Analysis. The panelists showed adequate agreement, repeatability and samples discrimination. The first two dimensions accounted for 57% of the variance. The first dimension was mainly characterized by coffee color, turbidity, aroma (coffee, chocolate and caramel), bitter flavor and full-bodied (texture) parameters (positively). The second dimension was positively correlated with acid and green flavor and transparency. Bourbon coffee was characterized as the least full-bodied, and by the lower intensity of color and bitter taste. The cultivars IAPAR 59, IPR 98, Icatu and Catuaí were described as similar

and showed intermediate behavior. Catuaí differed by the less intense acid and green taste. The cultivars IPR 99 and IPR 103 were characterized as more full-bodied and by the more intense coffee color, turbidity, and aroma (coffee, chocolate, caramel and sweet). The edapho-climatic conditions of the region studied allowed the formation of positive attributes for the cultivars generated from crosses.

Key words: Free choice profiling, Bourbon, Catuai, IPRs, IAPAR 59.

4.1. INTRODUÇÃO

Os programas de melhoramento genético do café têm desenvolvido cultivares com características agronômicas de resistência às pragas e doenças, buscado aumento da produtividade, plantas com porte baixo e adaptadas a diversidade climática e de solos (SERA, 2001; PETEK et al., 2006), mas muitas vezes a qualidade da bebida não é considerada nesse desenvolvimento. Dentre os cultivares registrados e lançados pelo Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) encontram-se cultivares resultantes de cruzamentos entre o *Coffea arabica*, Villa Sarchi e o Híbrido de Timor, que apresenta genes de resistência à ferrugem (EIRA et al., 2007). Destes cafés aqueles pertencentes à coleção dos IPRs (IPR 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107 e 108) e o IAPAR 59 (SERA et al., 2007; ALTEIA et al., 2001; ITO et al., 2008).

A composição química do grão e, conseqüentemente, a qualidade e aceitabilidade do café dependem de fatores genéticos, sistema de cultivo, altitude, temperatura, demanda hídrica, tipos e níveis de adubação, época de colheita, preparo, armazenamento e processo de torração (CARVALHO e CHALFOUN, 1985; PIMENTA e VILELA, 2003; ARAÚJO, 2007). Quando comparada a outras regiões do país, a qualidade do café produzido no Paraná é considerada baixa devido ao uso inadequado de cultivares para cada região, métodos inapropriados de colheita e processamento, além de aspectos relacionados a tratos culturais e comercialização do café (DAL MOLIN et al., 2008). O Paraná está localizado em alta latitude e numa área de transição climática, caracterizando-se pela grande diversidade de clima e solo. Os fatores edafoclimáticos influenciam na formação e maturação dos frutos, alterando suas características e possibilitando a obtenção de vários tipos de café, que podem apresentar potencial para a exploração de cafés especiais no estado (ANDROCIOLI FILHO et al., 2003).

O Perfil Livre é uma técnica de análise sensorial descritiva que se baseia no princípio de que as pessoas percebem as mesmas características nas amostras

mesmo expressando de forma diferente (WILLIAMS e LANGRON, 1984). Apresenta como vantagem uma redução de tempo, já que são eliminadas as etapas de treinamento e seleção final dos provadores, além de não haver necessidade de desenvolvimento de uma terminologia consensual (OLIVEIRA e BENASSI, 2003). O número de descritores utilizados pode variar de acordo com a experiência e familiaridade com o produto, e os provadores podem adicionar termos na lista originalmente desenvolvida durante a avaliação dos produtos (DAMÁSIO, 1999). Para a análise dos dados emprega-se a Análise Procrustes Generalizada (GPA), que transforma os resultados de maneira a evitar variação no uso de escala, diferentes intervalos de valores ou interpretações diferenciadas dos atributos, permitindo ainda detectar diferenças na percepção e falta de repetibilidade, e eliminar os provadores problemáticos (BENASSI et al., 1998; MORAND e PAGÈS, 2006). As dimensões do espaço de consenso são interpretadas pelas correlações dos atributos de cada provador (ELMORE e HEYMAN, 1999).

Para recomendar o plantio de um cultivar de café é importante poder avaliar independentemente o impacto de cada fator (genética, solo, clima e processamento) na qualidade da bebida. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar a influência da variabilidade genética sobre as características sensoriais, empregando a técnica de Perfil Livre, das bebidas de cafés cultivados nas mesmas condições edafoclimáticas e com a padronização de colheita, seleção e processamento.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Obtenção e preparo das amostras e condições dos testes

Os cafés da espécie arábica foram coletados em Mandaguari – Paraná – Brasil no Parque Tecnológico da Cooperativa COCARI. Sete cultivares foram empregados: Bourbon vermelho, Catuaí vermelho, Icatu amarelo, Iapar 59, IPR 98, IPR 99 e IPR 103. As amostras foram colhidas de maio a julho de 2009 à latitude 23°32'52" (Sul), altitude de 650m e temperatura média anual de 22 a 23°C. Os grãos no estágio cereja foram manualmente selecionados, lavados e secos ao sol. As amostras foram processadas, padronizadas em peneira 16 (6,5mm) e os defeitos foram eliminados.

Os cafés foram torrados (torrador Rod-Bel, São Paulo, BRASIL) por 8-11 minutos de 200 a 210°C atingindo um grau de torra clara-média (SCHOLZ, 2008). Os parâmetros de cor apresentaram valores de L* (luminosidade) de 28,7±1,8 e H*

(tonalidade cromática) de $54,4 \pm 2,7$. O café torrado foi moído na regulagem média onde 70% das partículas apresentam tamanho superior a 0,6mm.

O preparo foi feito conforme descrito por Anjos et al. (2001). As bebidas foram preparadas com 70 g de café torrado e moído adicionado de 1000 mL de água fervente (96-98°C) e filtradas em papel de filtro após 5 min de extração.

Os testes foram realizados em Laboratório de Análise Sensorial, com cabines individuais sob luz branca. O café foi servido em copos descartáveis (50 mL) codificados com três dígitos e provados à temperatura de 60-65°C sem a adição de açúcar. Os provadores foram orientados a ingerir água e biscoito cream-craker entre as amostras.

4.2.2. Seleção dos provadores e familiarização com a metodologia

Foram recrutados 18 participantes, com base em sua disponibilidade de tempo e interesse. Para caracterização da equipe, foi solicitado aos provadores dados de faixa etária, sexo, escolaridade e hábitos de consumo. Os provadores foram informados sobre o produto e procedimentos dos testes, apresentando-se os objetivos da análise sensorial do café e da técnica de Perfil Livre (CAAE nº 0138.0.268.000-09).

Na pré-seleção, foram aprovados os candidatos que obtiveram pontuação acima de 70% de acertos em teste de reconhecimento de odores (álcool, pimenta, chocolate, limão, acetona, canela, cebola, mel, vinagre, cravo, café, orégano, catchup, erva doce e hortelã) (SCHOLZ, 2008) e 100% de acerto no reconhecimento de gostos básicos empregando-se soluções de ácido cítrico (1g/L), cloreto de sódio (5g/L), sacarose (16 g/L), cafeína (0,5g/L) e ácido tânico (0,5g/L) (MORI et al., 1999).

Como a equipe não tinha experiência com análise sensorial e considerando-se a complexidade do produto, optou-se por realizar um treinamento no levantamento de atributos pelo método de rede. Foram utilizados sucos comerciais de laranja e chocolate em barra, como aplicado por Ratchatachaiyos et al. (2007), afim de promover uma familiarização com a técnica e permitir que os provadores ficassem mais seguros para o levantamento de descritores e na definição dos mesmos. Os provadores foram solicitados a gerar termos que descrevessem a aparência, aroma, sabor e textura.

Posteriormente, foi realizado o levantamento dos atributos com as amostras do estudo. Foram realizadas quatro sessões, apresentando-se um par de amostras

para que os provadores citassem as similaridades e diferenças. Após o levantamento, foi montada em separado para cada provador a ficha e o glossário dos atributos específicos.

4.2.3. Avaliação das amostras e análise estatística

Para a avaliação das amostras empregou-se um delineamento de blocos incompletos balanceados para sete amostras com três amostras por bloco, sendo cada bloco correspondente a uma sessão e obtendo-se três repetições por amostra ($t=7$, $k=3$, $r=3$, $b=7$, $\lambda=1$, $E=78$) (COCHRAN e COX, 1957). Em cada sessão, um mesmo bloco foi avaliado pela equipe, e a ordem de apresentação foi aleatorizada para cada provador. As amostras foram servidas de forma sequencial (BENASSI et al., 1998). Cada provador recebeu a ficha de avaliação e o seu glossário. Empregou-se escala híbrida de 10 cm ancorada nos extremos com expressões de intensidade para o atributo (RUA, 2003).

Os dados foram inseridos na forma de matrizes (uma por provador), com 21 colunas (amostras em triplicata) e o número de linhas variando de 8 a 23, referentes ao número de atributos de cada provador. Os dados foram analisados por Análise Procrustes Generalizada (APG) através do programa XLStat com o módulo XLStat-MX/GPA (ADDINSOFT, 2008) e Senstools Versão 2.3.28 (OP & P PRODUCT RESEARCH, 1998).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Seleção de provadores

Dos 18 provadores avaliados foram selecionados 15 que apresentaram desempenho adequado na pré-seleção. A equipe foi composta por 2 homens e 13 mulheres, na faixa de 25 a 50 anos, em sua maioria com escolaridade de nível superior (60%), sem experiência prévia em análise sensorial, e que consumiam regularmente bebidas de café (filtrado, espresso ou solúvel).

4.3.2. Levantamento de atributos e performance da equipe

O número de atributos levantados variou de 8 a 23, com uma média de 14 atributos por provador. Quatro foram referentes à aparência e seis associados com a textura, destacando-se o maior número de termos relacionados ao aroma e sabor (13 cada). Os atributos mais destacados para aparência foram cor (14 citações),

transparência (12) e brilho (9) e, com relação ao aroma, café (14), doce (11), verde (10) e queimado (10). Para sabor, os atributos mais citados foram doce (13), ácido (9), verde (10), adstringente (11) e amargo (15), sendo este o único citado por todos os provadores. Quanto à textura, o atributo mais freqüente foi o encorpado (8) (Tabela 4.1).

Tabela 4.1. Frequencia de citação dos descritores empregados pela equipe.

Categoria	Descritor	Total citações	Descritor	Total citações
Aparência	Cor café	14	Brilho	9
	Transparente	12	Turvo	7
Aroma	Café	14	Amendoim	2
	Doce	11	Velho	5
	Queimado	10	Fermentado	4
	Verde	10	Mel	1
	Ácido	6	Riado	1
	Chocolate	6	Amargo	1
	Caramelo	5		
Sabor	Amargo	15	Chocolate	3
	Doce	13	Caramelo	3
	Adstringente	11	Residual	1
			amargo	
	Verde	10	Aguado	1
	Ácido	9	Amendoim	1
	Fermentado	4	Café	1
	Queimado	4		
Textura	Encorpado	8	Aguado	4
	Concentrado	5	Denso	1

Os atributos encontrados foram similares aos citados na literatura em trabalhos com técnicas descritivas tradicionais (ADQ). Moura et al. (2007), estudando a influência da torra, citam o uso dos descritores: aroma e sabor característicos, sabor de caramelo, chocolate, pão torrado, frutas cítricas, doçura, acidez, amargor, sabor residual e corpo. Narain et al. (2003) relatam termos como

aroma doce, amargo, sabor ácido, verde, adstringente, caramelo e queimado. Scholz (2008), avaliando cafés das microregiões cafeeiras do Paraná, relata o emprego dos atributos turbidez, aroma de café, verde e doce, sabor doce, ácido, verde, amargo, adstringente e corpo.

Para avaliar a repetibilidade e a capacidade de discriminação da equipe, consideraram-se a distribuição da variância residual e as configurações de amostras de cada provador bem como a configuração geral dos provadores. Não houve diferenças expressivas entre as configurações individuais e de consenso das amostras (Figura 4.2), confirmando-se pela configuração geral dos provadores (Figura 4.1a) e pelos baixos valores de variância residual dos provadores (Figura 4.1b) (máximo de 0,59 para P11) que houve consenso entre os membros da equipe. Na literatura são descritos valores de variância residual para equipes de Perfil Livre avaliando diferentes produtos na faixa de 0,1 a 2,1 % (GONZÁLEZ VINÑS et al. 2001; OLIVEIRA e BENASSI, 2003 e 2010; GONZÁLEZ-TOMÁZ e COSTELL, 2006; FERREIRA et al., 2009).

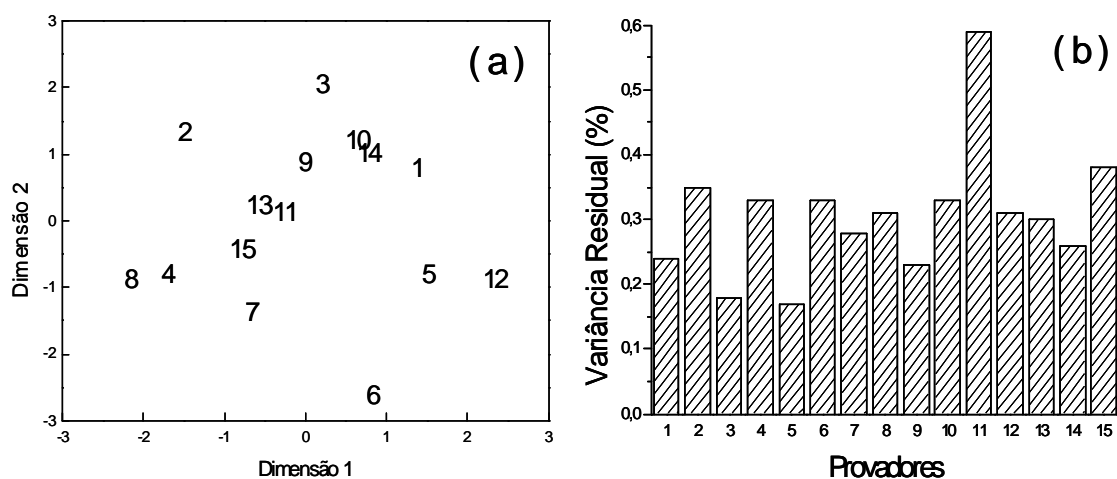


Figura 4.1. Configuração geral (a) e distribuição da variância residual dos provadores (b).

Pela análise de variância da análise Procrustes (PANOVA) observa-se a contribuição das transformações de escalonamento, rotação e translação para a solução (Tabela 4.2). Os maiores efeitos foram devidos à translação, que corrige as variações na avaliação das intensidades dos atributos, e ao escalonamento, que comprime ou expande as configurações individuais corrigindo a variação associada ao uso de diferentes amplitudes da escala. Esse comportamento é justificado pelos

provedores não terem sido submetidos a treinamento de uso da escala. O efeito de rotação (corrige as diferentes interpretações dos termos) não foi significativo, indicando concordância dos provedores a respeito dos estímulos e denominações empregados. O treinamento realizado para o levantamento de atributos provavelmente contribuiu para esse comportamento.

Tabela 4.2. Análise de variância da análise Procrustes para a equipe.

Causa de variação	GL	Soma dos Quadrados		F	Pr > F
		quadrados	médios		
Resíduos após transformação de escala	2884	6294,01	2,18		
Transformação de escala	14	564,81	40,34	18,49	< 0,0001
Resíduos após rotação	2898	6858,82	2,37		
Rotação	3542	6540,25	1,85	0,85	1,00
Resíduos após translação	6440	13399,08	2,08		
Translação	322	26497,62	82,29	37,71	< 0,0001
Total corrigido	6762	39896,70	5,90		

4.3.3. Avaliação das amostras

Observou-se boa resolução numa solução bidimensional (57% de explicação), sendo que a primeira dimensão explicou 43% da variabilidade e, a segunda 14%, e a maioria dos atributos com alto número de citações e alta correlação (>0,40) foram localizados na primeira e segunda dimensões. Thamke et al. (2009) trabalhando com Perfil Livre para descrição de chocolates encontrou alta porcentagem de explicação para solução tridimensional, trabalhando com dois grupos de julgadores (de Viena 83% e de Dresden 85%). Para soluções bidimensionais são descritos valores de 56% de explicação em trabalhos com méis (FERREIRA et al., 2009), 84% para presuntos (GUÀRDIA et al., 2010) e 93,5% para suco de abacaxi concentrado, reconstituído e adoçado com edulcorantes e sacarose (MARCELLINI et al., 2006).

Na dimensão 1, as amostras foram separadas principalmente pelos atributos de cor de café e turvo (aparência), aroma de café, doce, caramelo e chocolate, sabor amargo e encorpado (textura), com correlação positiva. A dimensão 2

correlacionou-se positivamente com os atributos sabor verde e ácido e transparência (Figura 4.2 e Tabela 4.3).

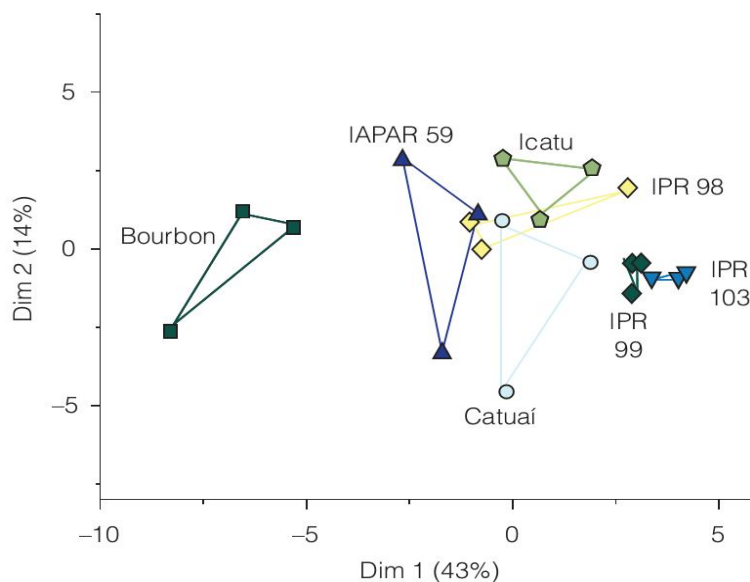


Figura 4.2. Configuração de consenso das amostras.

Para a interpretação da configuração de consenso foram considerados apenas os atributos que apresentaram correlação acima de $|0,40|$ (Tabela 4.3 e Figura 4.2) para vários provadores, mas pode-se observar outros atributos de interesse que contribuem para a discriminação das amostras (Tabelas 4.1 e 4.3). Termos com conotação positiva (aroma e sabor doce, chocolate, caramelo e amendoim) ou negativa (aroma e sabor de fermentado, aroma velho e sabor adstringente) para a qualidade da bebida foram também empregados por diversos provadores na descrição dos cafés. Interessante também observar que, pela liberdade de emprego dos atributos, alguns provadores utilizaram o descritor turbidez enquanto outros empregaram transparência. O mesmo pode ser observado na textura para os termos encorpado/concentrado e aguado.

Tabela 4.3. Atributos com correlação superior a $|0,40|$ para cada provador.

Provador	Correlação positiva ($r > 0,4$)	Correlação negativa ($r < -0,4$)
Dimensão 1		
1	Cor de café (0,76), Aroma café (0,80), Aroma doce (0,66), Aroma mel (0,60), Aroma caramelo (0,75)	Aroma queimado (-0,73), Sabor queimado (-0,61), Sabor amargo (-0,52), Sabor adstringente (-0,46)
2	Cor café (0,75), Transparência (0,68), Aroma chocolate (0,55), Aroma café (0,44), Aroma fermentado (0,42), Sabor doce (0,42), Sabor chocolate (0,47), Sabor caramelo (0,50), Textura concentrado (0,83)	Brilho (-0,66), Turvo (-0,79), Sabor ácido (-0,43), Sabor fermentado (-0,42), Sabor adstringente (-0,48), Textura aguado (-0,83)
3	Cor café (0,79), Aroma doce (0,55), Aroma café (0,66), Aroma caramelo (0,48), Aroma chocolate (0,53), Sabor doce (0,50), Sabor caramelo (0,54)	Transparência (-0,83), Aroma ácido (-0,67), Textura aguado (-0,70)
4	Brilho (0,78), Cor café (0,68), Aroma café (0,71), Sabor queimado (0,53)	Transparência (-0,72), Aroma verde (-0,54), Aroma sacaria (-0,48), Sabor ácido (-0,53)
5	Cor café (0,64), Aroma café (0,58), Aroma ácido (0,52), Aroma chocolate (0,61), Sabor amargo (0,41), Textura encorpado (0,87)	Aroma doce (-0,50), Sabor doce (-0,59)
6	Cor café (0,52), Turvo (0,75), Aroma doce (0,41), Aroma café (0,48), Sabor adstringente (0,47)	
7		Transparência (-0,52), Aroma fermentado (-0,49), Aroma caramelo (-0,53), Sabor fermentado (-0,40)
8	Cor de café (0,61), Aroma café (0,61), Sabor ácido (0,45), Sabor residual amargo (0,57), Textura concentrado (0,59)	Transparência (-0,52), Aroma velho (-0,42)
9	Cor café (0,58), Aroma café (0,66), Aroma chocolate (0,41), Sabor amargo (0,73), Sabor adstringente (0,51), Textura denso (0,65)	Brilho (-0,67), Transparente (-0,57), Sabor verde (-0,50)
10	Cor café (0,84), Turvo (0,79), Aroma café (0,71), Sabor amargo (0,87), Textura encorpado (0,80), Textura concentrado (0,77)	Sabor doce (-0,40), Transparência (-0,77),
11	Cor café (0,64), Aroma riado (0,41), Aroma doce (0,44), Aroma	Transparência (-0,55), Aroma velho (-0,73), Aroma

	café (0,53), Textura encorpado (0,72)	fermentado (-0,58), Aroma verde (-0,54)
12	Sabor amargo (0,46), Textura encorpado (0,53)	Textura aguado (-0,70)
13	Cor café (0,76), Turvo (0,72), Brilho (0,82), Aroma amargo (0,68), Sabor amargo (0,68), Sabor ácido (0,42), Textura concentrado (0,70)	
14	Turvo (0,78), Aroma café (0,72), Textura encorpado (0,79)	Transparência (-0,79), Brilhante (-0,59), Sabor aguado (-0,67)
15	Transparência (0,54), Aroma doce (0,59), Sabor amargo (0,62), Sabor queimado (0,45), Textura corpo (0,45)	Aroma velho (-0,45)
Dimensão 2		
1	Textura aguado (0,56)	Cor de café (-0,44)
2	Turvo (0,45), Aroma fermentado (0,42)	Transparente (-0,45), Aroma amendoim (- 0,54), Aroma café (-0,44), Aroma de caramelo (-0,44)
3	Aroma queimado (0,40), Aroma verde (0,58), Sabor verde (0,57)	Sabor de chocolate (-0,45)
4	Aroma queimado (0,55)	
5	Brilho (0,76), Aroma café (0,59), Aroma ácido (0,66), Sabor ácido (0,72)	Aroma queimado (-0,56), Sabor doce (-0,49)
6	Sabor amargo (0,67), Sabor ácido (0,68)	
7	Transparência (0,59), Aroma caramelo (0,44), Sabor amargo (0,55), Sabor verde (0,55)	Cor café (-0,53), Turvo (-0,73), Aroma café (-0,41), Textura encorpado (-0,50)
8	Transparência (0,50), Aroma doce (0,41), Sabor amendoim (0,44), Sabor café (0,53)	Aroma velho (-0,51), Sabor fermentado (-0,48)
9	Aroma ácido (0,42)	
10	Aroma chocolate (0,46)	
11	Transparência (0,56), Aroma riado (0,75)	
12	Transparência (0,67), Sabor adstringente (0,40), Sabor ácido (0,47), Textura encorpado (0,54)	
15	Sabor adstringente (0,73), Sabor verde (0,48)	Sabor doce (-0,41)

A cultivar Bourbon foi a mais discriminada dos demais cafés, indicando características sensoriais bastante diferenciadas. Apesar dessa cultivar ser reconhecida pela qualidade sensorial, nesse trabalho foi observada uma bebida com menor turbidez e corpo e menor intensidade de cor, aroma (café, chocolate, caramelo e doce) e sabor amargo (Figura 4.2 e Tabela 4.3). Considerando que as condições de colheita e processamento foram padronizadas, esse resultado sugere que a condição de cultivo (local e clima) foi desfavorável para o seu desenvolvimento fisiológico, uma vez que foi descrita como apresentando atributos usualmente associados à imaturidade dos grãos de café.

Em contraposição, as bebidas das cultivares IPR 99 e IPR 103 foram descritas como encorpadas e com maior intensidade de cor de café, turbidez, aroma de café, chocolate, caramelo e doce, e sabor amargo (Tabela 4.3 e Figura 4.2). Apesar da variabilidade genética (IPR 103 originado de cruzamento entre Catuaí e Icatu, e IPR 99 originado de cruzamento com Híbrido do Timor e Villa Sarchi) (SANTOS, 2011), as bebidas dos dois cultivares apresentaram características sensoriais semelhantes. Interessante observar que IPR 103 não foi descrito como similar aos cultivares que o originaram (Icatu e Catuaí). Os resultados evidenciam ainda que as condições edafoclimáticas proporcionaram aos IPRs 103 e 99 a formação de atributos usualmente considerados de importância para a aceitabilidade.

As cultivares Iapar 59, IPR 98, Icatu e Catuaí formaram um grupo de comportamento intermediário. Entre essas bebidas, a da cultivar IAPAR 59 foi descrita como mais similar a da Bourbon, e a da cultivar Catuaí (mais semelhante à IPR 99 e 103) diferenciou-se pela menor intensidade de sabor ácido e verde (Figura 4.2 e Tabela 4.3). Enquanto Catuaí é originada do cruzamento de cafés arábica (Caturra Amarelo e Mundo Novo), as cultivares IAPAR 59 e IPR 98 são originadas de cruzamento com híbrido do Timor e Villa Sarchi, e Icatu amarelo é resultante de cruzamento de um híbrido de robusta e arábica (Icatu vermelho) e cultivares arábica (Mundo Novo e Bourbon Amarelo) (SANTOS, 2011).

Esses dados reforçam a importância da avaliação das características sensoriais em paralelo com o estudo de parâmetros de qualidade agrônômicos, quando do desenvolvimento de cultivares, uma vez que cafés originados de cruzamentos não levam necessariamente a uma bebida com características intermediárias ou similares as das cultivares que lhe deram origem. Não se observou

também interferência de genes de resistência, uma vez que cultivares com genética bastante diferenciada apresentaram bebidas descritas como semelhantes.

Ao fixar as condições edafoclimáticas e de processamento foi possível avaliar de forma independente as diferenças sensoriais devidas à genética, mas cabe ressaltar que essa análise é restrita as condições do estudo. As cultivares podem apresentar diferentes níveis de adaptação a região estudada, bem como não desenvolver todos os atributos desejáveis no processo de torra, que foi igual para todas as amostras. Assim, cultivares tradicionais como Icatu e, principalmente, Bourbon apresentaram características sensoriais que sugerem uma pior adaptação às condições edafoclimáticas da região de Mandaguari/PR. Em contrapartida, cultivares oriundas de cruzamentos, com destaque para os IPRs 103 e 99, demonstraram maior potencial de qualidade de bebida, sugerindo que houve melhor adaptação a esta região. Dessa forma ressalta-se a importância de identificar as características sensoriais de cada cultivar considerando os fatores edafoclimáticos, de maneira a poder direcionar o cultivo para regiões onde cada café possa expressar melhor seu potencial de qualidade.

4.4. CONCLUSÕES

Padronizando-se condições de cultivo, colheita, seleção e processamento foi possível verificar diferenças sensoriais devidas somente a genética. Os cultivares tradicionais (Bourbon, Catuaí e Icatu) e desenvolvidos pelo IAPAR (IAPAR 59, IPR 98, 99 e 103) foram caracterizados e discriminados pelos atributos cor de café, turbidez, aromas de café, chocolate, caramelo e doce, sabores amargo, ácido e verde e textura encorpada. O café Bourbon caracterizou-se como menos encorpado, pela menor intensidade de cor e de sabor amargo. As cultivares tradicionais (Bourbon, Icatu e Catuaí) apresentaram características sensoriais que sugerem pouca adaptação às condições edafoclimáticas. As bebidas dos cultivares IPR 99 e IPR 103 foram caracterizadas como mais encorpadas e pela maior intensidade de cor de café, turbidez, aroma de café, chocolate, caramelo e doce, demonstrando bom potencial para plantio na região estudada.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e Fundação Araucária.

REFERÊNCIAS

- ADDINSOFT **XLStat: software for statistical analysis**. Versão 2007.8. Paris, 2007.
- ALTEIA, M. Z.; SERA, T.; GUERREIRO, A.; AZEVEDO, J. A.; COLOMBO, L. A. Vinte anos de avaliações agronômicas das progênies dos germoplasmas: Catimor, Sarchimor, "Icatu"x'Catuaí'e Catuaí x Sh1, Sh2, Sh3, Sh4 em Londrina-Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Anais...** Brasília: Embrapa Café, 2001. p. 1412-1420. Disponível em: <<http://www.sbicafe.ufv.br/SBICafe/publicacao/frpublicacao.asp>>. Acesso em: 04 jan. 2011.
- ANDROCIOLI FILHO, A.; LIMA FILHO, F. B.; TRENTO, E. J.; CARNEIRO FILHO, F.; CARAMORI, P. H.; SCHOLZ, M. B. S. Caracterização da qualidade de bebida de cafés produzidos em diversas regiões do Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro. **Anais** Brasília: Embrapa Café, 2003, p. 256-257. 1 CD-ROM.
- ANJOS, V. D. A.; COSTA, M.; MORI, E. E. E. Contribution to study of brazilian coffees physical characteristics. In: Colloquium International sur la Chimie du Café, 19., 2001, Trieste. **Proceedings....** Paris: ASIC, 2001. 1 CD ROM.
- ARAÚJO, F. A. **Café (*Coffea arabica*, L.) submetido a diferentes condições de torrefação: caracterização química e avaliação da atividade antioxidante e sensorial**. 2007. 130 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BENASSI, M.T.; DAMÁSIO, M.H.; CECCHI, M. Avaliação sensorial de vinhos Riesling Itálico nacionais utilizando Perfil Livre. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n.3, p. 265-270, 1998.

CARVALHO, V. D.; CHAUFOUN, S. M. Aspectos qualitativos do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.11, n.126, p.79-92, 1985.

COCHRAN, W. G.; COX, G. M. **Experimental Design**. 2a ed. Wiley Inc., New York, 1957.

DAL MOLIN, R. N.; ANDREOTTI, M.; REIS, A. R. R.; FURLANI JÚNIOR, E.; BRAGA, G. C.; SCHOLZ, M. B. S. Caracterização física e sensorial do café produzido nas condições topoclimáticas de Jesuítas, Paraná. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 353-358, 2008.

DAMÁSIO, M.H. Análise descritiva: metodologia do Perfil Livre versus metodologias tradicionais. In: ALMEIDA, T.C.A.; HOUCH, G.; DAMÁSIO, M.H.; SILVA, M.A.A.P. (Eds.). **Avanços em análise sensorial**. São Paulo: Varela, 1999. p.35-48.

EIRA, M. T. S. FAZUOLI, L. C.; GUERREIRO FILHO, O.; SILVAROLLA, M. B. Bancos de germoplasma de café no Brasil: base do melhoramento para produtividade e qualidade. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 5., 2007, Águas de Lindóia. **Anais...** Brasília: Embrapa Café, 2007, 5p. 1 CD-ROM.

ELMORE, J. R.; HEYMANN, H. Perceptual maps of photographs of carbonated beverages created by traditional and free choice profiling. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 10, n. 3, p. 219 - 237, 1999.

FERREIRA, E. L.; LENCIONI, C.; BENASSI, M. T.; BARTH, M. O.; BASTOS, D. H. M. Descriptive sensory analysis and acceptance of stingless bee honey. **Food Science and Technology International**, London, v.15, n. 3, p.251-258, 2009.

GONZÁLEZ-TOMAZ, L.; COSTEL, E. Sensory evaluation of vanilla-dairy desserts by Repertory grid method and free choice profile. **Journal of Sensory Studies**, Trumbull, v.21, n. 1, p. 20-33, 2006.

GONZÁLEZ VINÃS, M. A., GARRIDO, N.; DE PENNA, E. W. Free choice profiling of chilean goat cheese. **Journal of Sensory Studies**, Trumbull, v. 16, n. 3, p. 239-248, 2001.

GUÀRDIA, M.D.; AGUIAR, A.P.S.; CLARET, A.; ARNAU, J.; GUERRERO, L. Sensory characterization of dry-cured ham using free-choice profiling. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 21, n. 1, p. 148-155, 2010.

ITO, D. S.; SERA, T.; SERA, G. H.; DEL GROSSI, L.; K.; KANAYAMA, F. S. Resistance to bacterial blight in arabica coffee cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 8, n. 2, p. 99-103, 2008.

MARCELLINI, P. S.; DELIZA, R.; BOLINI, H. M. A. Caracterização sensorial de suco de abacaxi concentrado, reconstituído e adoçado com diferentes edulcorantes e sacarose, **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 2, p. 143-150, 2006.

MORAND, E.; PAGÈS, J. Procrustes multiple factor analysis to analyse the overall perception of food products. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 17, n. 1-2, p. 36-42, 2006.

MORI, E. E. M.; ANJOS, V. D. A.; BRAGNOLO, N. Monitoramento da qualidade do café torrado e moído no Estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGIA NA INDÚSTRIA CAFEEIRA, 3., 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR/CIRAD, 1999, p.493-497.

MOURA, S. C. S. R.; GERMER, S. P. M.; ANJOS, V. D. A.; MORI, E. M.; MATTOSO, L. H. C.; FIRMINO, A.; NASCIMENTO, C. J. F. Avaliações físicas, químicas e sensoriais de blends de café arábica e *Canephora* (robusta). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.10, n. 4, p. 271-277, 2007.

NARAIN, C.; PATERSON, A.; REID, E. Free choice and conventional profiling of commercial black filter coffees to explore consumer perceptions of character. **Food Quality Preference**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 31-41, 2003.

OLIVEIRA, A. P. V.; BENASSI, M. T. Perfil Livre: uma opção para Análise Sensorial Descritiva. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.37, n. supl., p. 66-72, 2003.

OLIVEIRA, A. P. V.; BENASSI, M. T. Avaliação sensorial de pudins de chocolate com açúcar e dietéticos por Perfil Livre. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 146-154, 2010.

OP & P PRODUCT RESEARCH. **Senstools**. Versão 2.3. Utrecht, 1998. 1 CD-ROM.

PETEK, M. R.; SERA, T.; SERA, G. H.; FONSECA, I. C. B.; ITO, D. S. Seleção de progênies de *Coffea arabica* com resistência simultânea à mancha aureolada e à ferrugem alaranjada. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.1, p. 65-73, 2006.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Efeito do tipo e época de colheita na qualidade do café (*Coffea arabica*, L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 131-136, 2003.

RATCHATACHAIYOS, K.; LEENANON, B. LERTSIRI. S.; MEENUNE, M.; POSRI, W. Linkage between an adapted free choice profiling (FCP) method and instrumental analysis based on a thai chilli paste product. (2007). Disponível em: <<http://www.dch.hcmut.edu.vn/spise2007/fullpapers/Ratchatachaiyos.pdf>>. Acesso em: 25 jul. 2009.

SANTOS, J. C. F. **Origens e características dos cultivares de café**. Disponível em: <<http://www.revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=ler&mat=3696>>. Acesso em: 03 jan. 2011.

- SCHOLZ, M. B. S. **Tipologia dos cafés paranaenses; uma abordagem através da análise fatorial múltipla dos aspectos físico-químicos e sensoriais**. 2008. 143 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- SERA, T. Coffee genetic breeding at IAPAR. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 1, n. 2, p. 179-199, 2001.
- SERA, G. H.; SERA, T.; ITO, D. S.; MATA, J. S.; DOI, D. S.; AZEVEDO, J. A.; RIBEIRO FILHO, C. Progenies de *Coffea Arabica* cv IPR-100 resistentes ao nematóide *Meloidogyne paranaensis*. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 1, p. 43-49, 2007.
- RUA, N. E. R. **Desempenho das escalas híbrida e autoajustavel no Perfil Livre associado a consumidores**. 2003. 173p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas.
- THAMKE, I.; DURRSCHMID, K; ROHM, H. Sensory description of dark chocolates by consumers. **LWT - Food Science Technology**, Oxford, v. 42, n. 2, p. 534-539, 2009.
- WILLIAMS, A. A.; LANGRON, S. P. The use of free-choice profiling for evaluation of commercial port. **Journal of Science and Food Agriculture**, Sussex, v.35, n.5, p.558-568, 1984.

CAPÍTULO 5

**DITERPENES IN GREEN AND ROASTED COFFEE OF *COFFEA ARABICA*
CULTIVARS GROWING IN THE SAME EDAPHO-CLIMATIC CONDITIONS**

(Submetido a revista Journal of Food Composition and Analysis)

Summary

Lipids are important components of the flavor and aroma of coffee brews. The diterpenes cafestol and kahweol have also received attention in recent years due to their physiological effects in human health. However, few studies have been conducted on the impact of the genetic variability in *Coffea arabica* diterpenes. In this work green and roasted coffees of different cultivars of *Coffea arabica*, growing in the same edapho-climatic conditions, were characterized by their cafestol and kahweol contents. Mature coffee fruits from traditional cultivar Catuaí and modern crosses cultivars IPR 100, IPR 102 and IPR 106 of two harvests were studied. The harvesting, post-harvesting and process conditions were standardized for all cultivars. The extraction of diterpenes was carried out in green and roasted coffee by direct saponification with KOH and the quantification was carried out by HPLC. For IPR cultivars, the content of kahweol was higher than the cafestol level. An inverse behavior was observed for cultivar Catuaí. The highest concentration of kahweol was observed in cultivar IPR 106; cultivar IPR 102 showed the highest content of cafestol. Kahweol/caffestol ratio is a characteristic of each cultivar and could be used as a tool to discriminate among them.

Key words: IPRs cultivars, cafestol, kahweol, HPLC.

Highlights

1- There were differences in contents of diterpenes among traditional and modern cultivars crosses.

2 -Traditional cultivars had higher levels of cafestol and lower of kahweol, opposite to modern crosses.

3 - A kahweol/caffestol ratio was characteristic for each cultivar.

4 - The kahweol/caffestol ratio remained stable comparing two harvests and after roasting process.

5 - Kahweol/caffestol ratio allowed the discrimination of traditional and modern cultivars.

5.1. Introduction

Coffee is the most consumed beverage in the world, and its quality and functional properties are associated with compounds of interest, such as caffeine, minerals, amino acids, lipids, phenolic compounds, melanoidins and sugars (Higdon & Frei, 2006; Butt & Sultan, 2011).

Coffee oil is rich in diterpenes from the kauren family, especially cafestol ($C_{20}H_{28}O_3$) and kahweol ($C_{20}H_{26}O_3$). Diterpenes are pentacyclic alcohols that are based on the fusion of isoprene units (C_5) to form the skeleton of 20 kauren carbons. Kahweol differs from cafestol by a double bond between carbons 1 and 2, leading to a spectrum with maximum peak absorption at different wavelengths (220 and 290 nm, cafestol and kahweol, respectively) (Figure 5.1).

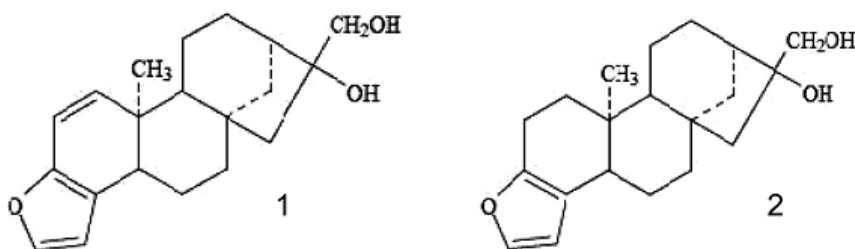


Figura 5.1. Structural formulas of kahweol (1) and cafestol (2).

Several studies have demonstrated the effects of the lipid compounds of coffee, especially cafestol and kahweol, present in the unsaponifiable fraction, on human health. These compounds have desirable effects against cancer (Muriel & Arauz, 2010; Cavin, Holzhäuser, Scharf, Constable, Huber, & Schilter, 2002) and diabetes (Chu, Chen, Black, Brown, Lyle, Liu, & Ouc, 2011), induce the degradation of toxic substances, protect against aflatoxin B1 (Cavin et al., 2002), have antioxidant (Lee, Choi, & Jeong, 2007; Chu et al., 2011) and anti-inflammatory activities (Kim,

Kim, Hwang, Lee, Lee, Kim, Kim, & Jeong, 2006; Chu et al., 2011) and have a hepatoprotective effect (Lee et al., 2007; Muriel & Arauz, 2010). However, cafestol has also been reported as a cholesterol-raising factor for human health (Cruchten, De Haanc, Mulderd, Kunnee, Boekschotena, Katanf, Aartsc, & Witkampa, 2010).

Coffea arabica coffee has higher cafestol content than *Coffea canephora* (Speer & Kölling-Speer, 2006). Kahweol was reported to be specific to arabica coffee (Campanha, Dias, & Benassi, 2010; Dias, Campanha, Vieira, Pereira, Pot, Marraccini, & Benassi, 2010) or was only present in trace amounts in *C. canephora* (Roos, Van Der Weg, Urgert, Van De Bovenkamp, Charrier, & Katan, 1997; Speer & Kölling-Speer, 2006).

The differences in the chemical composition, quality and acceptability of coffee brews are usually related to the agronomic and environmental conditions (genetic factors, altitude, temperature, hydric demand, types and levels of fertilization, maturation of the beans), and harvesting and post harvesting conditions, and process such as roasting and storage (Ky, Louarn, Dussert, Guyot, Hamon, & Noiro, 2001; Leroy, Ribeyre, Bertrand, Charmetant, Dufour, Montagnon, Marraccini, & Pot, 2006; Silva, Mazzafera, Brunini, Sakai, Arruda, Mattoso, Carvalho, & Pires, 2005; Läderach, Collet, Oberthür, & Pohlen, 2006).

From these factors that affect the composition of coffee, genetic variability has been highlighted as directly contributing to the diversity considering the acidity, sugars, fat and caffeine contents (Scholz, Prete, Crudi, & Magri, 2000) and sensory quality (Medina Filho, 2007). Parameters such as altitude and temperature are also known to exert different effects on certain components (cell wall carbohydrates, chlorogenic acids, lipids and caffeine) depending on the cultivar (Jöet, Laffarge, Descroix, Doulebeau, Bertrand, Kochko, & Dussert, 2010).

Considering the lack of information about the influence of genetic variability on diterpene profiles for *C. arabica* cultivars and due to the high number of parameters that may influence the composition of coffees, the aim of the study was to characterize the cafestol and kahweol contents of different coffee cultivars grown in the same edapho-climatic conditions. As the harvesting, post-harvest and roasting processes were standardized, the genetic diversity could be evaluated.

5.2. Material and methods

5.2.1. Raw material

Arabica coffee beans of the different cultivars were collected in Mandaguari – PR – Brazil, at the Agriculture Technologic Park of Coop COCARI located at latitude 23°32'52" (South), with an altitude of 650 m and an average annual temperature of 22-23°C. The traditional cultivar Catuaí (with its well-established production in various regions of Brazil) and new cultivars from the IAPAR coffee breeding program were studied. The genetic backgrounds are described in Table 5.1.

Table 5.1 – Genetic background of the cultivars studied.

Cultivar	Breeding*
Red Catuaí	Yellow Caturra (single mutation of Red) x Mundo Novo (hybridization of Red Bourbon and Sumatra)
IPR 100	Catuaí Sh_2 , Sh_3
IPR 102	Catuaí and Icatu derived
IPR 106	Icatu genetic background

From: Ito, Sera, Sera, Del Grossi, & Kanayama, 2008; Santos, 2011.

The samples were harvested from May to July 2009 and May to July 2010. Cherry fruits were manually selected, washed and sun-dried on a patio. The green

coffee beans were processed and standardized in grade 16–sized sieves (6.5 mm), and all defective beans were removed (Brasil, 2003).

The green coffee beans were frozen (-18°C) and ground (0.5 mm particles) in a disk mill (PERTEN 3600, Kungens Kurva, Sweden), using liquid nitrogen to prevent oxidation of compounds in the matrix, immediately prior to analysis (Dias et al., 2010). For roasted coffee, a roaster (Rod-Bel, São Paulo, Brazil) was used for 8-11 minutes at temperatures of 200-210°C, which reached a medium roasting degree, as described by Kitzberger, Scholz, Pereira, Vieira, Sera, Silva, & Benassi (2010). The samples were ground in a manual disk grinder (FAMA, Indaiatuba, Brazil), stored in plastic bags and kept in a freezer (-18°C) until analysis.

To characterize the roasting process, color parameters were measured using CIE illuminant C, 10° angle and a CIE standard observer. The coffees presented a lightness of 28.2 ± 2 and a hue of 53.8 ± 3 .

The moisture content (oven set at 105°C to constant weight) was also determined to express the results in terms of dry basis (d.b.).

5.2.2. Material and equipments

For sample extraction and preparation of the mobile phase, the following reagents were used: HPLC grade tertbutyl-methyl ether (Acrós Organics, New Jersey, USA), KOH (Quimex, São Paulo, Brazil) and HPLC grade acetonitrile (J.T. Baker, Xalostoc, México). Kahweol and cafestol standards (Axxora, San Diego, USA) with a purity of 98% and certified by Alexis Biochemicals (Lausen, Switzerland) were used.

A Minolta CR-410 Colorimeter (Konica Minolta Sensing INC, Osaka, Japan), FANEM 315 SE oven (Fanem, São Paulo, Brazil) and Sorvall SS-3 centrifuge (Ivan

Sorvall INC, New York, USA) were employed. A high pressure liquid chromatography Surveyor Plus (Thermo Scientific, San Jose, USA) was also used, consisting of an autosampler with Peltier temperature control and oven integration (Surveyor Plus), quaternary pump (Surveyor LC Plus), diode array detector (Surveyor PDA Plus) with automatic injector (25 μL), ChromQuest 5.0 chromatography data system and an SS420 interface.

5.2.3. Diterpenes analysis

The coffee samples (0.2000 g) were saponified at 80°C for 1 h with 2.0 mL of 2.5 M L⁻¹ potassium hydroxide (96% ethanol, v/v). After adding 2.0 mL of ultrapure water, the unsaponifiable extraction was made with 2.0 mL of tertbutyl-methyl ether, and after agitation and centrifugation (3 min at 3000 rpm), the organic phase was collected. This extraction procedure was repeated three times. Distilled water (2 mL, for cleaning up) was added, and the extract was evaporated to dryness in a water bath (70°C). After resuspension in 4.0 mL of the mobile phase, the extract was filtered through a 0.45 μm nylon membrane (Millipore, Billerica, USA) (Dias et al., 2010). The extractions were performed in duplicate (Figure 5.2). The green coffee samples were weighed directly in the centrifuge container with 2 mL of KOH to prevent oxidation of the diterpenes (Dias et al., 2010).

The analysis was conducted as described by Dias et al. (2010) using a reversed-phase Spherisorb ODS 1 column (250 mm x 4.6 mm id 5 mm) (Waters, Milford, USA). Isocratic elution of acetonitrile/water (55/45 v/v) was performed, using a flow rate of 0.9 mL min⁻¹. Detection of cafestol and kahweol was performed at 220 and 290 nm, respectively. An oven temperature of 25°C was applied for 20 minutes. The identification of the compounds was based on retention time comparisons and

co-elution with known standards. All samples were submitted for duplicate extraction and injection.

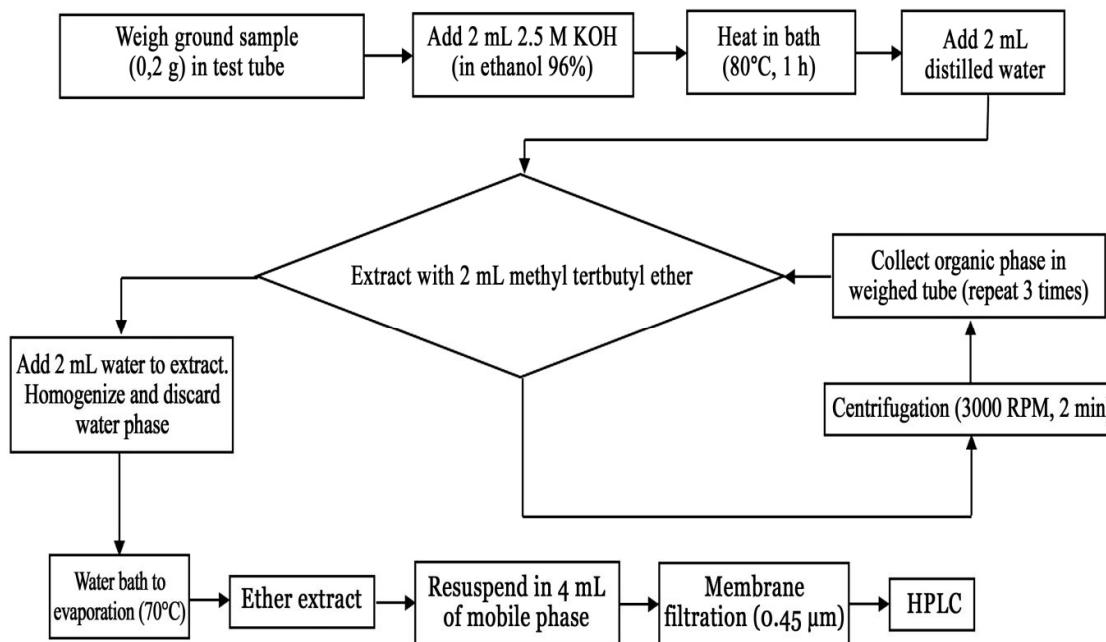


Figure 5.2. Flowchart of unsaponifiable coffee matter extraction (DIAS et al., 2010).

Quantification was carried out by external standardization, generating calibration curves with cafestol and kahweol concentrations between 50 to 1000 mg 100 g⁻¹ (six different concentrations in triplicate).

The data were analyzed by two-way ANOVA, considering the cultivar and harvests as the sources of variation, and Tukey's test ($p < 0.05$) using Statistica 6.1 software (Statsoft, 2006).

5.3. Results and discussion

A high variability in the composition of diterpenes was observed for both green and roasted coffees of different cultivars (Table 5.2 and 5.3).

Table 5.2 - Content of kahweol and cafestol (mg 100 g⁻¹ db) in green coffees of different cultivars considering two harvests (2009 and 2010)*.

Component	Harvest	Cultivars			
		Catuai	IPR 100	IPR 102	IPR 106
Cafestol	2009	604±8 ^{aA}	328±32 ^{bA}	356±34 ^{bB}	325±14 ^{bA}
	2010	422±13 ^{bB}	221±16 ^{cB}	480±2 ^{aA}	259±6 ^{cB}
Kahweol	2009	371±6 ^{cA}	892±59 ^{aA}	605±52 ^{bA}	986±46 ^{aA}
	2010	451±6 ^{cA}	673±43 ^{bB}	539±2 ^{cA}	847±34 ^{aA}
Total Diterpenes	2009	975±13 ^{bA}	1221±91 ^{abA}	960±86 ^{bA}	1312±60 ^{aA}
	2010	873±19 ^{bB}	894±59 ^{bB}	1020±0 ^{a,bA}	1106±40 ^{aB}

*Mean of four analyses.

**Different small letters in the same line indicate significant differences among cultivars ($p>0.05$).

***Different capital letters in the same column indicate significant differences between harvests for the same component ($p>0.05$).

Table 5.3 - Content of kahweol and cafestol (mg 100 g⁻¹ db) in roasted coffees of different cultivars considering two harvests (2009 and 2010)*.

Component	Harvest	Cultivars			
		Catuai	IPR 100	IPR 102	IPR 106
Cafestol	2009	668±52 ^{aA}	339±17 ^{bA}	394±7 ^{bB}	357±5 ^{bA}
	2010	541±2 ^{aB}	270±1 ^{cB}	427±1 ^{bA}	246±9 ^{dB}
Kahweol	2009	439±43 ^{cA}	939±25 ^{aA}	691±4 ^{bA}	1096±83 ^{aA}
	2010	556±9 ^{bA}	812±20 ^{aB}	548±20 ^{bB}	851±41 ^{aB}
Total Diterpenes	2009	1107±96 ^{bA}	1278±42 ^{abA}	1086±3 ^{bA}	1453±88 ^{aA}
	2010	1097±12 ^{aA}	1082±21 ^{abB}	975±21 ^{bB}	1097±51 ^{aB}

*Mean of four analyses.

**Different small letters in the same line indicate significant differences among cultivars ($p>0.05$).

***Different capital letters in the same column indicate significant differences between harvests for the same component ($p>0.05$).

Roos et al. (1997) had already reported large differences in the contents of cafestol and kahweol between coffees from different species grown in the same region. It is important to highlight that, in *Coffea*, variations in diterpenes could possibly be attributed to genetic peculiarities of the bean, and geographic and cultivation conditions (Sridevi, Giridhar, & Ravishankar, 2010). In this study, because of the growing conditions, harvesting and processing were standardized for all the samples, the differences can be mainly attributed to the genetic characteristics of each cultivar.

For green coffee, there was a difference in the cafestol and kahweol contents between the IPR cultivars and Catuaí in the two harvests. The concentration of cafestol ranged from 221 to 604 mg/100 g of green coffee. Kahweol showed an even higher variation, between 371 to 986 mg/100 g of green coffee. IPR 100 and IPR 106 contained a high concentration of kahweol when compared to the other cultivars (Table 5.2).

Kurzock & Speer (2001) reported values of approximately 270 to 670 mg/100 g and 110 to 350 mg/100 g for cafestol and kahweol, respectively. Interestingly, Catuaí have values near this range, but the IPRs have a different profile. Among IPRs, IPR 102, derived from a cross of Icatu and Catuaí, behaved more similarly to traditional cultivars than to cultivar IPR 106 (only an Icatu genetic background) and IPR 100 (Catuaí genetic background). For Icatu, Kitzberger et al. (2010) reported the cafestol, kahweol and total diterpene content to be 501, 433 and 934 mg/100 g, respectively, for green coffee and 683, 635 and 1318 mg/100 g, respectively, for roasted coffee.

In the 2010 harvest (the second year of the biennial cycle of coffee), there was a decrease in the level of each diterpene compared with the previous year. However,

no difference was observed in the total diterpenes levels in green beans between the cultivars, except of IPR 106 (Table 5.2). The total diterpenes content varied from 873 to 1312 mg/100 g in the two harvests, which is comparable with the levels reported in the literature (700 to 1300 mg/100 g) by Speer & Kölling-Speer (2006).

For roasted coffee, the cafestol content ranged from 246 to 683 mg/100 g and kahweol ranged from 439 to 1096 mg/100 g (Table 5.3). For Brazilian arabica coffees, Campanha et al. (2010) observed levels of 360 to 478 mg/100 g and 661 to 866 mg/100 g for cafestol and kahweol, respectively. De Souza et al. (2010) analyzed five brands of Brazilian arabica coffees and reported cafestol and kahweol concentrations of 460 to 470 mg/100 g and 570 to 800 mg/100 g, respectively.

Our results (Table 5.3) were slightly above the range of those reports. However, Campanha (2008) described lower values of cafestol (275 to 282 mg/100 g) and higher values of kahweol (787 to 933 mg/100 g) for *C. arabica* cv IAPAR 59 (derived from Timor Hybrid X Villa Sarchi -Sarchimor) with different degrees of roasting, similar to that observed for IPRs.

The cafestol and kahweol contents of roasted coffees were higher compared to green coffee in all varieties (increase of 3 to 36% for cafestol and 5 to 47% for kahweol) (Table 5.2 and 5.3). The relative increase in concentration can be attributed to the degradation of thermolabile constituents during the roasting process. There is disagreement in the literature over the stability of diterpenes with the roasting process. Some authors have reported that diterpenes could form dehydro derivatives (dehydro cafestol and kahweol) and other degradation products from roasting, thus reducing their levels (Kurzock & Speer, 2001, Speer & Kölling-Speer, 2006). Urgert, Van Der Weg, Kosmeijer-Schuil, Van De Bovenkamp, Hovenier, and Katan (1995) evaluated the behavior of kahweol and cafestol in *C. arabica* of intense roasts

(26.5% weight loss) and concluded that roasting did not reduce the concentration of these compounds. Campanha et al. (2010), working with three degrees of roasting for different coffee blends, reported that increasing the degree of roasting did not lead to a reduction in diterpene content. Dias, Faria, Mercadante, Bragagnolo, and Benassi (2011) evaluated the degradation of cafestol and kahweol (time of 2-10 min, maximum temperature of 230°C) and observed that although dehydro derivatives occurred with more intense processes of roasting, the levels of cafestol and kahweol remained stable due to the increased concentration of lipids during the roasting process.

The kahweol/cafestol relation for the different cultivars remained quite similar in the two coffee harvests studied, regardless of the biennial cycle of coffee (Figure 5.3).

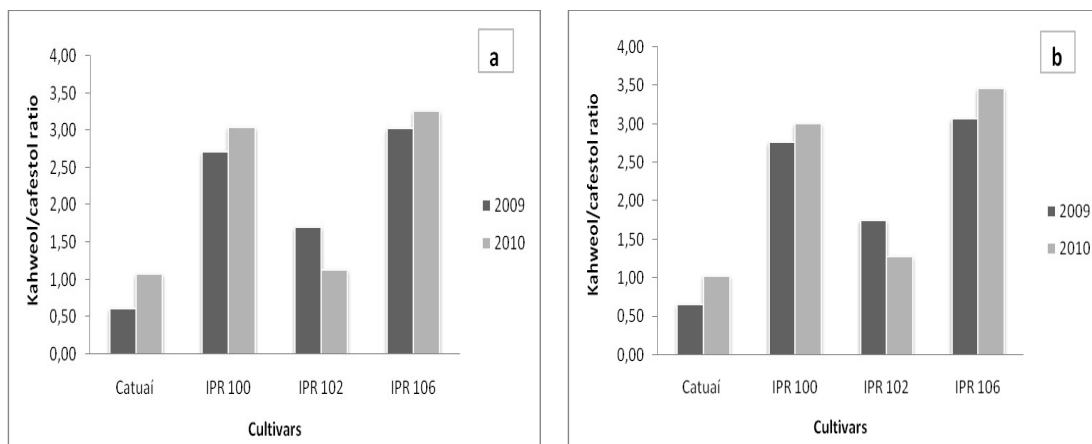


Figure 5.3. Kahweol/cafestol ratio for green (a) and roasted (b) coffees in the harvest 2009 and 2010.

The kahweol/cafestol ratio for the IPR cultivars ranged from approximately 1.1 to 3.5 for both green and roasted coffee, as the amount of kahweol was always

higher than cafestol in those cultivars. A different behavior was observed for the cultivar Catuaí which showed a kahweol/cafestol ratio from 0.6 to 1.1. Similar results (kahweol/cafestol ratio of 0.9) were reported for cultivar Icatu (Kitzberger et al., 2010)

The cultivars IPR 100 (Catuaí genetic background) and IPR 106 (Icatu genetic background) showed a kahweol/cafestol ratio of approximately 3 (both harvests). Meanwhile, Catuaí showed the lowest ratio. The cultivar IPR 102, whose genetic background contains Icatu and Catuaí, showed an intermediate ratio. Considering the health issues, the crosses that generated the IPR cultivars were interesting as they showed higher kahweol content and, conversely, lower cafestol content compared to traditional cultivars. Kahweol has been associated with beneficial health effects, while cafestol has been proven to have a role in cholesterol-raising mechanisms (Higdon & Frei, 2006; Butt & Sultan, 2011). Thus, the balance between cafestol and kahweol in IPR cultivars, without altering the total amount of diterpenes, can positively impact consumers. Therefore, in relation to health and technology aspects, the knowledge of the behavior of diterpenes between different cultivars and growing conditions may be used to assist in the selection of cultivar coffee that is most appropriate for each type of preparation (filtered, express or Italian). According to Urgert et al. (1997), coffee prepared with a filter retains the diterpenes and would be more suitable for coffees with high cafestol content.

Considering the results, it is proposed for the first time in the literature that the kahweol/cafestol ratio was a defining characteristic of each cultivar. It was also interesting that this relation was not affected by the roasting process, indicating that the kahweol/cafestol ratio could be used to characterize the cultivars regardless of the degree of roasting (Figure 5.3 a and b).

Further work characterizing the gene expression of these cultivars and associating them with the diterpenes profiles may be useful for finding genes involved in the metabolism of cafestol and kahweol and to develop molecular markers for diterpenes in coffees.

5.4. Conclusions

The differences in the cafestol and kahweol profiles of traditional and modern crosses of coffee were attributed to their genetics, and little variation was observed due to the harvest and roasting process. In general, the content of diterpenes increased with the roasting process and decreased in the second year of the biennial cycle of the coffees.

The total content of diterpenes was similar for all cultivars, but the content of kahweol and the kahweol/caffestol ratio was higher for modern crosses IPR 100 and IPR 106. This behavior persisted in the two analyzed harvests. The kahweol/caffestol ratio is important to discriminate cultivars of different genetic backgrounds and may be used to assist in the selection of cultivar coffee that is most appropriate for each type of beverage preparation.

Acknowledgments

We acknowledge the financial support of FINEP/GenoCafé and CNPq.

References

BRASIL (2003). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado e do grão verde. *Instrução Normativa* nº8 de 11 de jun. 2003.

BUTT, M.S., & SULTAN, M.T. (2011). Coffee and its consumption: benefits and risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 363 – 373.

CAMPANHA, F. G. (2008). Discriminação de espécies de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) pela composição de diterpenos. Dissertation (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. Disponível em: <http://bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000127750>.

CAMPANHA, F. G.; DIAS, R.C.E.; & BENASSI, .M.T. (2010). Discrimination of coffee species using kahweol and cafestol: effects of roasting and of defects. *Coffee Science*, Lavras, 44, 1, 87-96.

CAVIN, C.; HOLZHÄUSER, D.; SCHARF, G.; CONSTABLE, A.; HUBER, W. W.; & SCHILTER, B. (2002). Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, 40, 8, 1155-1163.

CHU, Y-F; CHEN, Y.; BLACK, R.M.; BROWN; P.H.; LYLE, B.J.; LIU, R.H.& OUC, B. (2011). Type 2 diabetes-related bioactivities of coffee: Assessment of antioxidant activity, NF-kB inhibition, and stimulation of glucose uptake, *Food Chemistry*, 124, 914–920.

CRUCHTEN, S.T.J. VAN; DE HAANC, L.H.J.; MULDERD, P.P.J.; KUNNEE, C.; BOEKSCHOTENA, M.V.; KATANF, M.B.; AARTSC, J.M.M.J.G. & WITKAMPA, R.F. (2010). The role of epoxidation and electrophile-responsive element-regulated gene transcription in the potentially beneficial and harmful effects of the coffee components cafestol and kahweol. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21, 757–763.

DE SOUZA, R.M.N.; CANUTO, G.A.B.; DIAS, R.C.E.; & BENASSI, .M.T. (2010). Teores de compostos bioativos em cafés torrados e moídos comerciais. *Química Nova*, 33, 4, 885-890.

DIAS, R. C. E., CAMPANHA, F. G., VIEIRA, L. G. E., PEREIRA, L. P., POT, D., MARRACCINI, P., & BENASSI, .M. T. (2010). Evaluation of kahweol and cafestol in coffee tissues and roasted coffee by a new High-Performance Liquid Chromatography Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 88–93.

DIAS, R.C.E.; FARIA, A.F.; MERCADANTE, A.Z.; BRAGAGNOLO, N. & BENASSI, M.T. (2011). Diterpenes profile in coffee: Influence of roasting process. ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY **Volume:** 242 **Meeting Abstract:** 156-AGFD **Published:** AUG 28 2011 **Accession Number:** WOS: 000299378300118. Disponível em: http://abstracts.acs.org/chem/242nm/program/view.php?obj_id=91648&terms.

HIGDON, J. V; & FREI, B. (2006). Coffee and health: a review of recent human research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 2, 101-123.

ITO, D.S.; SERA, T.; SERA, G.H.; DEL GROSSI, L.; & KANAYAMA, F.S. (2008). Resistance to bacterial blight in arabica coffee cultivars. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8, 2, 99-103.

JÖET, T.; LAFFARGE, A.; DESCROIX, F.; DOULBEAU, S.; BERTRAND, B.; KOCHKO, A.; & DUSSERT, S. (2010). Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green coffee beans. *Food Chemistry*, 118, 3, 693-701.

KIM, H. G.; KIM, J. Y.; HWANG, Y. P.; LEE, K. J.; LEE, K. Y.; KIM, D H.; KIM, D. H.; & JEONG, H. G. (2006). The coffee diterpenes kahweol inhibits tumor necrosis factor-induced expression of cell adhesion molecules in human endothelial cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 217, 3, 332-341.

KITZBERGER, C. S. G., SCHOLZ, M. B. S., PEREIRA, L.F.P., VIEIRA, L.G.E., SERA, T., SILVA, J. B. G. D., & BENASSI, M. T. (2010). Analysis of diterpenes in green and roasted coffee of *Coffea arabica* cultivars growing in the same edapho-climatic conditions. In: 23 International Conference on Coffee Science, 2010, Bali - Indonesia. Abstracts 23 International Conference on Coffee Science. CD ROM.

KY, C. L., LOUARN, J., DUSSERT, S., GUYOT, B., HAMON, S., & NOIROT, M. (2001). Caffeine, trigonelline, chlorogenic acid and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry*, 75, 223-230.

KURZROCK, T.; & SPEER, K. (2001). Diterpenes and diterpene esters in coffee. *Food Reviews International*, 17, 4, 433-450.

LÄDERACH, P.; COLLET, L.; OBERTHÜR, T.; & POHLAN, J. (2006). Relationships between environmental factors and coffee cup quality in selected growing regions of Cauca, southern Colombia. In: *21st International Conference of Coffee Science, ASIC 2006*, Montpellier.

LEE, K. J.; CHOI, J. H.; & JEONG, H. G. (2007). Hepatoprotective and antioxidant effects of the coffee diterpenes kahweol and cafestol on carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 11, 2118-2125.

LEROY, T., RIBEYRE, F., BERTRAND, B., CHARMETANT, P., DUFOUR, M., MONTAGNON, C., MARRACCINI, P., & POT, D. (2006). Genetics of coffee quality. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 229-242.

MEDINA FILHO, H. P. A qualidade do café e o melhoramento genérico clássico In: Salva, Terezinha de Jesus Garcia. *Cafés de Qualidade: Aspectos Tecnológicos, Científicos e Comerciais*. Campinas: IAC, 2007. 484p.

MURIEL, P. & ARAUZ, J. (2010). Coffee and liver diseases. *Fitoterapia*, 81, 297–305.

ROOS, B.; VAN DER WEG, G.; URGERT, R.; VAN DE BOVENKAMP, P.; CHARRIER, A.; & KATAN, M. B. (1997). Levels of cafestol, kahweol, and related diterpenoids in wild species of the coffee plant *Coffea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 8, 3065-3069.

SANTOS, J. C. F. **Origens e Características dos Cultivares de Café**. Disponível em: <<http://www.revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=ler&mat=3696>>. Acesso em: 03 jan. 2011.

SCHOLZ, M.B.S.; PRETE, C.E.C.; CRUDI, E.; MAGRI, T.B. Composição química de variedades de café (*Coffea arabica*). In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1.: 2000: Poços de Caldas, MG). Resumos expandidos. Brasília, D.F.: Embrapa Café; Belo Horizonte: Minasplan, 2000. 2 v. (1490p.), p. 673-676.

SILVA, E. A, MAZZAFERA, P., BRUNINI, O., SAKAI, E., ARRUDA, F. B., MATTOSO, L. H. C., CARVALHO, C. R. L., & PIRES, R. C. M. (2005). The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition

and beverage quality of coffee beans. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 229-238.

SPEER, K. & KÖLLING-SPEER, I. (2006). The lipid fraction of the coffee bean – Minireview. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 18, 1, 201-216.

SRIDEVI, V.; GIRIDHAR, P.; & RAVISHANKAR, G. A. (2010). Free diterpenes cafestol and kahweol in beans and *in vitro* cultures of *Coffea* species. *Current Science*, 99, 8, 1101-1104.

STATSOFT. **STATISTICA for Windows**: computer program manual. Versão 7.1. Tulsa: Software Inc., 2006.

URGERT, R.; VAN DER WEG, G.; KOSMEIJER-SCHUIL, T. G.; VAN DE BOVENKAMP, P.; HOVENIER, R.; & KATAN, M.B. (1995). Levels of the cholesterol-elevating diterpenes cafestol and kahweol in various coffee brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 8, 2167-2172.

6. CONCLUSÃO GERAL

A diversidade genética contribuiu para a variabilidade de composição nos grãos verdes de café, nos cafés torrados e, conseqüentemente refletiu-se na atividade antioxidante e nas características sensoriais das bebidas de café das diferentes cultivares (modernas e tradicionais).

De forma geral, considerando grãos verdes e torrados, 5-ACQ (entre os compostos sensíveis ao processo de torra) e diterpenos (entre os termoestáveis) foram os que se destacaram na discriminação entre cultivares modernas e tradicionais.

A introgressão de genes de resistência de *C. canephora* aumentou os teores de caveol e os valores da relação caveol/cafestol. A relação caveol/cafestol mostrou-se característica para as cultivares, propondo-se então seu uso como discriminador entre cafés arábica com diferentes *background* genético.

As diferenças na composição química, atividade antioxidante e características sensoriais devido à diversidade genética afetam a qualidade do café arábica, ressaltando-se a importância da avaliação desses parâmetros no desenvolvimento de novas cultivares.

7. CONSIDERAÇÕES SOBRE O TRABALHO E SUGESTÃO DE ESTUDOS FUTUROS

Os dados de composição, análise antioxidante (funcionalidade) e características sensoriais em condições de cultivo fixas, podem ser usados para um direcionamento da implantação de novas lavouras na região de estudo (Mandaguari-PR), aproveitando assim o benefício do melhoramento genético a fim de se ter composição favorável para uma boa qualidade sensorial.

A padronização das condições empregadas no trabalho foi essencial para permitir comparação entre o background genético e uma visão dos efeitos da introgressão de genes de *C. canephora* nos melhoramentos. No entanto, conforme mencionado nas conclusões, quando se estuda cultivares diferentes em mesmo local de cultivo, os efeitos da genética são observados em um ambiente específico.

Apesar das condições edafoclimáticas e de processamento serem padronizadas, verificou-se que, além da variabilidade atribuída à diversidade genética, deve-se considerar que os cultivares podem responder de forma diferenciada ao ambiente de cultivo. Algumas características específicas da matriz do café verde, torrado, e sensoriais observadas no trabalho podem ser devidas a interação entre o genótipo e o ambiente, sendo assim correspondentes ao local de produção dos cafés.

Informações de interesse poderiam ser obtidas realizando-se estudos similares em outras localidades com condições edafoclimáticas diferentes a fim de se avaliar o comportamento destas mesmas cultivares a regiões ou mais quentes ou mais frias. O mesmo se aplica as outras condições edafoclimáticas e de cultivo. A partir dos resultados obtidos nesse trabalho pode-se também estudar uma nutrição da planta específica para cada cultivar para tentar obter uma melhor resposta ao ambiente das cultivares que não tiveram boas características de bebida, de composição ou funcionalidade.

ANEXO A

Estrutura química dos compostos estudados.

Composto	Fórmula Molecular	Estrutura
Ácido quínico (1S, 3R, 4S, 5R)-1, 3, 4, ácido 5-tetrahydroxycyclohexanecarboxylic acid)	$C_7H_{12}O_6$	
Ácido cítrico (Ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico)	$C_6H_8O_7$	
Ácido málico (Ácido hidroxibutanodioico)	$C_4H_6O_5$	
Cafeína (1,3,7-trimetilxantina)	$C_8H_{10}N_4O_2$	
Trigonelina (1-metilpiridinium-3-carboxilato monohidrato)	$C_7H_9NO_2$	
Ácido nicotínico (n-metil nicotinamida)	$C_6H_6NO_2$	
Ácido clorogênico (ácido 1,3,4,5-tetrahidroxiciclohexanocarboxílico) - 5-ACQ	$C_{16}H_{18}O_9$	
Cafestol (3bS,5aS,7R,8R,10aR,10bS)-3b,4,5,6,7,8,9,10,10a,10b,11,12-Dodecahydro-7-hydroxy-10b-methyl-5a,8-methano-5aH-cyclohepta[5,6]naphtho[2,1-b]furan-7-methanol	$C_{20}H_{28}O_3$	
Caveol (3bS,5aS,7R,8R,10aR,10bS)-3b,4,5,6,7,8,9,10,10a,10b-Decahydro-7-hydroxy-10b-methyl-5a,8-Methano-5aH-cyclohepta(5,6)naphtho(2,1-b)furan-7-methanol)	$C_{20}H_{26}O_3$	