



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

FERNANDA GONÇALVES CAMPANHA

**DISCRIMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE CAFÉ (*COFFEA ARABICA* E  
*COFFEA CANEPHORA*) PELA COMPOSIÇÃO DE DITERPENOS**

---

Londrina  
2008

**FERNANDA GONÇALVES CAMPANHA**

**DISCRIMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE CAFÉ (*COFFEA ARABICA* E  
*COFFEA CANEPHORA*) PELA COMPOSIÇÃO DE DITERPENOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Marta de Toledo Benassi

Londrina  
2008

**FERNANDA GONÇALVES CAMPANHA**

**DISCRIMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE CAFÉ (*COFFEA ARABICA* E  
*COFFEA CANEPHORA*) PELA COMPOSIÇÃO DE DITERPENOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Marta de Toledo Benassi  
Universidade Estadual de Londrina

---

Dr. Marcelo Caldeira Viegas  
Companhia Iguaçu de Café Solúvel

---

Prof. Dr. Rui Sérgio dos Santos Ferreira da  
Silva  
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, 27 de fevereiro de 2008.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus, sempre, por não me dar tudo o que pedi, e sim, força para lutar e vencer, família e amigos, para amar, abraçar e fazer meu coração sorrir.

À querida professora, orientadora e admirável fonte de apoio e confiança Dr<sup>a</sup>. Marta de Toledo Benassi, que sempre com muita calma, orientou e foi amiga.

Ao professor Dr. Rui Sérgio dos Santos Ferreira da Silva, pelo apoio ao meu trabalho e vasto conhecimento. Agradeço também, o empréstimo do programa Statistica 7.1.

Ao irmão científico e doutorando Rafael Carlos Eloy Dias, pela dedicação, estímulo e pelo trabalho em equipe. Foi admiravelmente bom trabalhar com você.

À Café Iguaçu, pela doação das amostras utilizadas para desenvolvimento deste trabalho, em especial, à Josi. Agradecimentos também à Maria Brígida dos Santos Scholz, pelo fornecimento das amostras e apoio intelectual.

Ao Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café, pelo apoio financeiro.

Aos professores e funcionários do Depto. de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aos meus amigos, que fazem diferença na minha vida, e que, na ausência me deixarão saudades.

E por fim, mas não menos importante, aos meus pais João e Ivete e meus irmãos Gio e Dú, pela torcida e por fazerem parte da minha vida, rirem e chorarem comigo sempre. Camila, Rita e Cris, vocês também são minha família. Amo vocês!!! Mais importante do que eu tenho na vida, são as pessoas que levo comigo em meu coração.

**Muito obrigada!**

Aos meus pais, que  
sempre foram a  
força, o incentivo e  
o apoio que  
necessitei,  
especialmente nos  
momentos de angústia  
e aflição.

Eu aprendi que para  
crescer como pessoa é  
preciso me cercar de gente  
mais inteligente do que  
eu.

William Shakespeare

CAMPANHA, Fernanda Gonçalves. **Discriminação de espécies de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) pela composição de diterpenos**. 2008, 90f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

## RESUMO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, destacando-se as espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (conilon). O café conilon, de menor valor comercial, é muitas vezes adicionado ao arábica, no entanto apresenta qualidade e aceitabilidade inferior. Após a torra e moagem, não é possível distinguir visualmente as espécies, sendo necessários outros critérios para discriminação. Técnicas cromatográficas têm sido utilizadas, especialmente a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), devido à versatilidade e possibilidade de quantificação de componentes termolábeis. Dentre os compostos estudados, os diterpenos caveol e cafestol são relatados como potenciais indicadores pelo fato de estarem presentes em diferentes proporções nas espécies e terem maior estabilidade à temperatura que a maioria dos componentes hidrossolúveis. A avaliação da estabilidade à torra e da composição de diterpenos em grãos de café defeituosos é importante para verificar a possibilidade de emprego de caveol e cafestol como discriminadores de espécies em amostras de mercado, onde o nível de defeitos e torra não são conhecidos. O trabalho objetivou a discriminação de espécies de café arábica e conilon através dos teores de diterpenos. Utilizou-se amostras de café arábica, conilon e misturas com diferentes torras (clara, média e escura) e proporções de defeitos. Para extração, realizou-se saponificação direta, extração com terc-butil metil éter e limpeza com água. Empregou-se CLAE de fase reversa, eluição isocrática (acetoneitrila 55% em água) e detecção no UV. Os resultados foram utilizados para estudo da estabilidade dos diterpenos (ANAVAR) e para gerar e validar um modelo preditivo da proporção de café conilon adicionado ao arábica (regressão múltipla). O teor de caveol variou de 661 a 933 mg/100 g nos cafés arábica, e não foi observada sua presença nos conilon. O cafestol variou de 275 a 478 no arábica e de 163 a 275 mg/100 g no conilon. A adição de conilon reduziu o teor de diterpenos, mas o efeito foi diferenciado dependendo do grau de torra e defeitos. O aumento na intensidade de torra não implicou em maior degradação dos diterpenos. Entre os modelos estudados, o que utilizou apenas cafestol como parâmetro de discriminação teve baixo poder preditivo. Ao utilizar o teor de caveol para construção do modelo, obteve-se bom ajuste ( $R^2 = 0,91$ ), que foi melhorado ( $R^2 = 0,93$ ) ao considerar os compostos caveol e cafestol em conjunto. Avaliando as amostras de diferentes torras separadamente, observou-se que os modelos para as torras média e escura tiveram melhor ajuste, interessante uma vez que no Brasil os cafés são comercializados com grau de torra mais intenso. Na validação com amostras externas, o modelo proposto não se mostrou satisfatório, necessitando-se a introdução de mais amostras para aumentar a abrangência e obter um modelo com melhor capacidade preditiva. Verificou-se que não houve diferença nos teores de caveol e cafestol comparando-se grãos defeituosos ou não. Os parâmetros caveol e cafestol mostraram-se promissores como discriminadores das espécies na avaliação de amostras com diferentes graus de defeitos e torra.

**Palavras-chave:** Caveol. Cafestol. Defeitos. Grau de torra. Modelo.

CAMPANHA, Fernanda Gonçalves. **Discrimination between coffee species (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) by the content of diterpenes.** 2008. 90f.  
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

## ABSTRACT

Brazil is the major coffee producing and exporting country and the most important species are *Coffea arabica* and *Coffea canephora* (robusta). Because of its lower commercial value the robusta coffee is often blended to arabica, but presents inferior quality and acceptability. Visual indicators are eliminated after roasting and grinding, so an alternative method to identification of the species is required. Chromatographic techniques have been used, particularly High Performance Liquid Chromatography (HPLC), due to the versatility and the ability to quantify thermolabile compounds. The diterpenes kahweol and cafestol are reported as potential indexes because they are present in different contents in species and they have thermal stability greater than the majority of the water-soluble compounds. The evaluation of the roasting effect and the composition of diterpenes in defective beans are important in order to use these compounds to discriminate species in commercial coffees, in which the level of defects and roasting degree are unknown. The aim of the work was to discriminate arabica and robusta coffee species by their contents of diterpenes. Samples of arabica and robusta coffees and blends of these species with different roasting degree (light, medium and dark) and levels of defective beans were used. Direct saponification, extraction with tert-Butyl methyl ether and clean up with water were applied for extraction. Reverse-phase HPLC, isocratic elution (55% acetonitrile in water) and UV detection were used. The results were used to study the stability of diterpenes (ANOVA) and to generate and validate a predictive model to estimate the proportion of robusta added to arabica coffee (multiple regression). The content of kahweol varied between 661 and 933 mg/100 g in arabica coffee, but it was not found in robusta. Cafestol ranged from 275 to 478mg in arabica and from 163 to 275 mg/100 g in robusta coffee. The addition of robusta coffee reduced the diterpenes content. However the effect was differently depending on the roasting degree and level of defects. The degradation of diterpenes did not increase with the increasing severity of roast. The model which used cafestol as a single variable had low predictive power. The used of the content of kahweol in the model allowed a good fit ( $R^2 = 0.91$ ), which was improved ( $R^2 = 0.93$ ) by the combined use of the compounds kahweol and cafestol. Considering samples of each roasting degree independently, it was observed that medium and dark roasting models had better fit. This is interesting because coffees are usually commercialized with darker roast in Brazil. Validation using external samples shows the necessity to add more samples to increase the limits the model and its predictive power. There were no differences between kahweol and cafestol levels comparing defective or regular beans. The parameters kahweol and cafestol showed potential for discrimination of species on samples with different roasting degrees and level of defects.

**Keywords:** kahweol. Cafestol. Defective beans. Roasting degree. Model.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1</b> – Diferentes tipos e quantidades de defeitos em amostras de café .....	23
<b>Figura 2.2</b> – Estrutura química dos compostos cafestol, cafeol e 16-O-metilcafestol .....	27
<b>Figura 4.1</b> – Fluxograma da extração da matéria insaponificável do café .....	38
<b>Figura 5.1</b> – Cromatogramas típicos de café torrado em nível médio .....	45

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 2.1</b> – Quantidade de defeitos permitida em 300 gramas para as diferentes classificações de café segundo tabela oficial para classificação .....	22
<b>TABELA 2.2</b> – Quantificação de diterpenos em amostra de café verde e torrado das espécies arábica e robusta.....	28
<b>TABELA 4.1</b> – Amostras utilizadas para construção do modelo de discriminação das misturas de café conilon ao arábica .....	34
<b>TABELA 4.2</b> – Amostras utilizadas para verificação do modelo .....	35
<b>TABELA 4.3</b> – Porcentagem dos diferentes defeitos presentes em uma amostra (A6) de grãos defeituosos de café arábica.....	36
<b>TABELA 4.4</b> – Parâmetros da regressão linear das curvas de calibração dos diterpenos.....	39
<b>TABELA 5.1</b> – Umidade (g/100 g) de café arábica e conilon .....	42
<b>TABELA 5.2</b> – Luminosidade dos cafés das espécies arábica e conilon submetidos a diferentes torras .....	43
<b>TABELA 5.3</b> – Tonalidade cromática dos cafés das espécies arábica e conilon submetidos a diferentes torras .....	43
<b>TABELA 5.4</b> – Teor de caveol dos cafés das espécies arábica e conilon submetidos a diferentes torras e misturas de conilon em arábica.....	46
<b>TABELA 5.5</b> – Teor de cafeol (mg/100 g de amostra em base seca) dos cafés das espécies arábica e conilon submetidos a diferentes torras (clara, média e escura) e misturas de conilon em arábica (20%, 30% e 50%).....	47
<b>TABELA 5.6</b> – Valores de $R^2$ ajustado, erro e modelos multilíneares para os ajustes feitos dos teores de caveol; cafeol; caveol e cafeol .....	52
<b>TABELA 5.7</b> – Teor de caveol (mg/100 g de amostra em base seca) em misturas de conilon em arábica em diferentes níveis de torra.....	53
<b>TABELA 5.8</b> – Teor de cafeol (mg/100 g de amostra em base seca) em misturas de conilon em arábica em diferentes níveis de torra .....	53
<b>TABELA 5.9</b> – Modelo preditivo ajustado para mistura entre 20 e 50% de conilon ao arábica .....	54

<b>TABELA 5.10</b> – Valores de $R^2$ ajustado, erro e modelos multilíneares para diferentes graus de torra (clara, média e escura) .....	56
<b>TABELA 5.11</b> – Teores de cafeol e de cafeol (mg/100 g de amostra em base seca) em amostras puras e misturas de 20 e 40% de conilon em arábica (A3/C3) em diferentes torras (clara, média e escura) .....	57
<b>TABELA 5.12</b> – Valores previstos para o modelo multilinear nas amostras de café arábica, conilon e misturas .....	58
<b>TABELA 5.13</b> – Valores de $R^2$ ajustado, erro e novo modelo empregando amostras de arábica (A1, A2 e A3), conilon (C1, C2 e C3) e misturas .....	59
<b>TABELA 5.14</b> – Valores previstos para o modelo multilinear nas amostras de café arábica A4 e A5 .....	60
<b>TABELA 5.15</b> – Teores de cafeol e de cafeol (mg/100 g de amostra em base seca) em café arábica (A5) com 0, 10, 20, 30 e 100 % de defeitos .....	62
<b>TABELA 5.16</b> – Teores de cafeol e de cafeol em café arábica (A5 com 10, 20 e 30 % de defeitos) com mistura de 40% de café conilon (C3) .....	62
<b>TABELA 5.17</b> – Valores previstos médios para o modelo multilinear nas amostras de café arábica (10, 20 e 30% de defeitos), conilon e misturas de 40% de café conilon ao arábica, para as torras clara, média e escura .....	63
<b>TABELA 1</b> – Umidade (g/100 g) das misturas de cafés arábica (A1, A2, A3, A4, A5, A6) e conilon (C1, C2 e C3) submetidos a diferentes torras.....	80
<b>TABELA 2</b> – Luminosidade das misturas de cafés arábica (A1, A2, A3, A4, A5, A6) e conilon (C1, C2 e C3) submetidos a diferentes torras.....	81
<b>TABELA 3</b> – Tonalidade cromática das misturas de cafés arábica (A1, A2, A3, A4, A5, A6) e conilon (C1, C2 e C3) submetidos a diferentes torras.....	82
<b>TABELA 4</b> – Valores preditos para as misturas de espécies de café (A1, A2, C1 e C2) com diferentes torras utilizando o modelo para cafeol .....	85
<b>TABELA 5</b> – Valores preditos para as misturas de espécies de café (A1, A2, C1 e C2) com diferentes torras utilizando o modelo para cafeol .....	87
<b>TABELA 6</b> – Valores preditos para as misturas de espécies de café com diferentes torras utilizando o modelo para cafeol e cafeol .....	89

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** – Resíduos para modelo com caveol utilizando amostras A1, A2, C1, C2 e misturas: resíduo x valor previsto (a); resíduo x valor observado (b); valor observado x valor previsto (c).....84
- Gráfico 2** – Resíduos para modelo com cafestol utilizando amostras A1, A2, C1, C2 e misturas: resíduo x valor previsto (a); resíduo x valor observado (b); valor observado x valor previsto (c).....86
- Gráfico 3** – Resíduos para modelo com caveol e cafestol utilizando amostras A1, A2, C1, C2 e misturas: resíduo x valor previsto (a); resíduo x valor observado (b); valor observado x valor previsto (c).....88
- Gráfico 4** – Resíduos x valor observado para modelo multilinear (caveol e cafestol) utilizando amostras A1, A2, A3, C1, C2, C3 e misturas .....90

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**a\*** – Componente vermelho-verde

**ACGs** – Ácido clorogênicos totais

**ANOVA** – Análise de Variância

**b\*** – Componente amarelo-azul

**caf** – cafestol

**cav** – caveol

**cav/caf** – modelo multilinear utilizando caveol e cafestol como parâmetros

**CLAE** – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**H\*** – Tonalidade Cromática

**IV** – Infravermelho

**KI** – Iodeto de Potássio

**KOH** – Hidróxido de potássio

**L\*** – Luminosidade

**LD** – Limite de Detecção

**LQ** – Limite de Quantificação

**ACN** – Acetonitrila

**MI** – Matéria Insaponificável

**t-BME** – Terc-butil metil éter

**UV** – Região do espectro - Ultravioleta

**VIS** – Região do espectro - Visível

**%PP** – Porcentagem de perda de peso das amostras

**16-OMC** – 16-Orto-Metilcafestol

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
2.1 HISTÓRICO, CONSUMO E BENEFÍCIOS .....	18
2.2 COMPOSIÇÃO E QUALIDADE DO CAFÉ .....	20
2.3 CAVEOL E CAFESTOL .....	26
2.4 DISCRIMINAÇÃO ENTRE ESPÉCIES DE CAFÉ .....	29
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	32
3.1 OBJETIVO GERAL .....	32
3.2 OBJETIVO ESPECIFICO .....	32
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33
4.1 MATERIAL .....	33
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	37
4.2.1 Análise de umidade .....	37
4.2.2 Análise de cor .....	37
4.3 REAGENTES .....	37
4.4 EQUIPAMENTOS .....	37
4.5 DETERMINAÇÃO DE CAVEOL E CAFESTOL POR HPLC .....	38
4.5.1 Preparo de amostra .....	38
4.5.2 Condições cromatográficas .....	39
4.6 ANÁLISE DAS VARIEDADES E MISTURAS .....	40
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	42
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	42
5.2 QUANTIFICAÇÃO DE CAVEOL E CAFESTOL NAS ESPÉCIES PURAS E MISTURAS .....	44
5.3 MODELOS PARA AVALIAR OS TEORES DE CAFÉ CONILON EM BLENDS DE CAFÉ ATRAVÉS DOS TEORES DE CAVEOL E CAFESTOL .....	52
5.3.1 Avaliação e Escolha do Modelo .....	52
5.3.2 Verificação e Adaptação do Modelo com Amostras Externas .....	56
5.3.3 Influência dos Defeitos na capacidade Preditiva do Modelo .....	60

<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>76</b>
ANEXO 1 – Esquema empregado para análise de variância para parcela subdividida de caveol em amostra com maior número de defeitos .....	77
ANEXO 2 – Caracterização de umidade e cor das misturas .....	79
ANEXO 3 – Análise de resíduos e estimativa dos preditos dos modelos.....	83

## 1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, conhecida pelo sabor e odor fortes e característicos (ABIC, 2008). O Brasil é o maior produtor e exportador mundial do grão. É também o segundo mercado consumidor do mundo, perdendo apenas para os Estados Unidos (ABIC, 2008). No primeiro semestre de 2007, o consumo interno brasileiro (53% do volume produzido) ultrapassou 17 milhões de sacas (média de 5,52 kg por habitante/ano), com aumento médio de 79 mil sacos (60 kg) por mês (CONAB, 2008; GRUPO CULTIVAR, 2008; RANK BRASIL, 2008).

A bebida do café se caracteriza pelo efeito estimulante, auxiliando no desenvolvimento de concentração e atenção (ABIC, 2008). Atualmente, grande parte das pesquisas desenvolvidas tem destacado a ação dos compostos da bebida na saúde humana (CAVIN *et al.*, 1998; POSTE *et al.*, 2000; KURZROCK & SPEER, 2001a e b; BOEKSCHOTEN *et al.*, 2003). Estudos relacionando a ingestão de café com incidência de doenças coronarianas, prevenção de oxidação do DNA, redução do risco de desenvolvimento da doença de Parkinson, cirrose, diabetes e câncer de fígado, têm sido realizados (FERRARI & TORRES, 2003; MCCARTY, 2005; HIGDON & FREI, 2006; LANG, 2006; PRINCE *et al.*, 2006; LARSSON & WOLK, 2007; SOFI *et al.*, 2007). Na maioria dos casos, há poucos relatos sobre riscos a saúde e diversas evidências de benefícios no consumo moderado de café.

Um grande número de trabalhos tem sido desenvolvido também enfocando aspectos sensoriais da bebida. Estas características são afetadas por fatores como: safra, espécie, colheita, local de cultivo, umidade, fermentação, secagem, tipos de torra, composição química, moagem e armazenamento dos grãos (FERNANDES *et al.*, 2003; RUBAYIZA & MEURENS, 2005).

Quanto às espécies de café, destacam-se pelo maior cultivo *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (conilon), que se distinguem quanto ao preço, qualidade e aceitabilidade (CARVALHO *et al.*, 2001; CONAB, 2008; CEPLAC, 2008). O café arábica produz uma bebida de melhor qualidade, alcançando os maiores preços. O café conilon, de menor valor comercial, é muito empregado em indústrias de café solúvel (MENDES, 1999; CARVALHO *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2004).

Outros fatores de grande influência quanto às características sensoriais do café, são a torra e a composição química dos grãos, que muitas vezes

são estudados em conjunto. O óleo dos grãos, por exemplo, durante a torrefação atua como peneiras seletivas na retenção de substâncias aromáticas do grão, melhorando a qualidade do produto (FERNANDES *et al.*, 2003). Além dos lipídios, o grão apresenta centenas de constituintes voláteis e não-voláteis, de diversas classes de compostos químicos, como ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, compostos fenólicos e cafeína (SILVA, 1997).

A fração lipídica dos grãos de café contém em sua composição um teor significativo de álcoois diterpênicos (20%), que apresentam efeitos conhecidos na saúde humana, como ação hipercolesterolêmica, mas atuando também como anticarcinogênicos e antioxidantes. Dentre os diterpenos, destacam-se caveol e cafestol (URGERT *et al.*, 1995; CAVIN *et al.*, 1998; KURZROCK & SPEER, 2001a; LAGO, 2001; HIGDON & FREI, 2006; SPEER & KÖLLING-SPEER, 2006). O café arábica possui maior teor de diterpenos do que o conilon; o caveol aparece em concentrações mais elevadas nos grãos de arábica enquanto que apenas alguns traços são detectados no conilon. O cafestol é encontrado em ambas as espécies (KURZROCK & SPEER, 2001b; RUBAYIZA & MEURENS, 2005).

A qualidade sensorial da bebida está também relacionada a quantidade e tipo de defeitos presentes nos grãos (MENDES, 1999; FARAH *et al.*, 2006b; CEPLAC, 2008; DELIZA *et al.*, 2007). Os grãos PVA (pretos, verdes e ardidados), cuja presença se deve a problemas na colheita e operações de pré-processamento, podem ser eliminados através de catação eletrônica (FRANÇA *et al.*, 2005a; URAICAFÉ, 2008). A porcentagem de defeitos encontradas em uma amostra de café indica a tipificação do produto comercializado (escala de 2 a 8), sendo o tipo 4, considerado base, já que a maioria dos cafés comercializados está nessa faixa (ABIC, 2008; SECRETARIA DA FAZENDA, 2008).

São poucos os trabalhos sobre a composição dos grãos defeituosos (FRANÇA *et al.*, 2005b). Teor de umidade, lipídios, proteínas, cafeína, sacarose e acidez foram estudados (MAZZAFERA, 1999; FRANÇA *et al.*, 2005a e b; FARAH *et al.*, 2006b; OLIVEIRA *et al.*, 2006; AGRETI *et al.*, 2007; TOCI *et al.*, 2007), mas não se encontrou dados sobre a concentração de diterpenos nesses grãos.

O café conilon é um produto atraente para a adição ao arábica, podendo ser utilizado em *blends* comerciais para padronização de sabor e diminuição dos custos do produto (ROOS *et al.*, 1992; MENDES, 1999; BRAGANÇA *et al.*, 2001; CARVALHO *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2004; CEPLAC, 2008). Em

grãos crus, as espécies podem ser distinguidas visualmente, já que a coloração e forma dos grãos são diferenciadas (KEMSLEY *et al.*, 1995). Depois de torrados e moídos, essa distinção não é mais possível, sendo necessárias então, outras formas de discriminação (KEMSLEY *et al.*, 1995; LAGO, 2001).

Assim, o desenvolvimento de metodologia para discriminação de diferentes espécies de café é importante para detectar adição fraudulenta ou acidental de café conilon ao arábica, e caracterização do teor de cada espécie no produto comercial, que é requerida pela própria legislação nacional.

Os diterpenos poderiam ser utilizados como ferramenta de identificação das espécies *arabica* e *canephora*, por estarem presentes em diferentes teores (NACKUNSTZ & MAIER, 1987; PETTITT, 1987; FREGA *et al.*, 1994; URGERT *et al.*, 1995; KURZROCK & SPEER, 2001a e b; LAGO, 2001; RUBAYIZA & MEURENS, 2005). Além disso, a literatura relata que os diterpenos têm relativa estabilidade à temperatura, o que facilitaria seu uso como potencial discriminador em cafés torrados em diferentes graus (LERCKER *et al.*, 1996; DIAS *et al.*, 2005).

Dentre as muitas metodologias que têm sido desenvolvidas para avaliação de diterpenos em grãos de diferentes origens geográficas, misturas de espécies e ainda em bebidas obtidas por diferentes métodos, têm-se principalmente as técnicas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cromatografia Gasosa (CG). A CLAE destaca-se pela versatilidade e possibilidade de emprego em compostos com certo grau de instabilidade a temperatura (PETTITT, 1987; LERCKER *et al.*, 1995; URGERT *et al.*, 1995; CASTILLO *et al.*, 1999; KURZROCK & SPEER, 2001b).

Considerando-se que existe diferença nas concentrações de diterpenos presentes nas espécies arábica e conilon, e que esses compostos são possivelmente mais estáveis à torra que alguns componentes hidrossolúveis usualmente utilizados como discriminadores, caveol e cafestol poderiam representar uma alternativa na estimativa da porcentagem de café conilon adicionado.

A avaliação da estabilidade de caveol e cafestol à torra e da composição destes em cafés com diferentes níveis de defeitos é de grande importância para analisar a possibilidade de emprego dos teores de diterpenos como indicadores de proporção de café conilon em café arábica em amostras de mercado, onde o nível de defeitos e a torra não são conhecidos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 HISTÓRICO, PRODUÇÃO E BENEFÍCIOS À SAÚDE

O café é uma planta que provém do gênero *Coffea*, da família Rubiaceae, cujo grão é obtido do cafeeiro, uma pequena árvore de folhas verdes, tipo arbusto, de origem tropical. Sabe-se que há mais de 6 mil espécies espalhadas pelo mundo. Destas, há pelo menos 25 de grande importância, originárias da África e de ilhas do Oceano Índico (BASILICO, 2008).

Não há evidência real sobre a descoberta do café, já que as lendas se misturam com a história. A versão mais aceita é a de que um pastor, Kaldi, que viveu na Absínia (hoje Etiópia) há cerca de mil anos, observando suas cabras, notou que seu rebanho conseguia se deslocar por vários quilômetros sempre que mastigavam os frutos de coloração amarelo-avermelhado dos arbustos existentes em alguns dos campos do pastoreio. Essa descoberta se espalhou rapidamente entre os mosteiros, criando uma demanda para o fruto (ABIC, 2008).

O café chegou ao Brasil em 1727 (mais precisamente no norte, em Belém) e naquela época já possuía grande valor comercial. Por quase um século, o café foi a grande riqueza brasileira, acelerando o desenvolvimento e inserindo o país nas relações internacionais de comércio. Além disso, a cultura do café ocupou vales e montanhas, possibilitando o surgimento de cidades e importantes centros urbanos, por todo o interior do estado de São Paulo, sul de Minas Gerais e norte do Paraná. Para substituição do transporte animal, construíram-se ferrovias, promovendo comércio inter-regional de outras mercadorias importantes. Além disso, a vinda do café contribuiu para imigração no país e expansão da classe média, entre outros benefícios (ABIC, 2008).

Atualmente no Brasil, os principais territórios da economia cafeeira estão localizados em regiões do estado de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Espírito Santo, Bahia e Rondônia. O país é o maior produtor e exportador de café no mundo (2,3 milhões de hectares de área cultivada), colhendo aproximadamente 40,62 milhões de sacas por safra, sendo responsável por 30% do mercado

internacional, equivalente à soma da produção dos outros seis maiores países produtores (CONAB, 2008; RANK BRASIL, 2008).

No estado do Paraná, a previsão de produção na safra deste ano é entre 2,12 e 2,34 milhões de sacas (representando 5,2% da produção e 4,7% da área total nacional), sendo que 105,6 mil hectares de terras são dedicados ao cultivo de café, porém esse número já foi bem mais elevado. Este cultivo está presente em aproximadamente 210 municípios, sendo responsável por 3,2% da renda agrícola do estado (CEPLAC, 2008; CONAB, 2008).

O café é uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo. Apresenta sabor e odor fortes e característicos, e conta na composição com substâncias que proporcionam ação estimulante sobre o sistema nervoso, auxiliando no desenvolvimento de concentração e atenção para realização de atividades intelectuais (ABIC, 2008).

O interesse pelo produto e seu consumo hoje também estão associados com a discussão e divulgação dos efeitos na saúde, atribuídos à bebida. Essas implicações têm sido em grande parte, verificadas através de estudos epidemiológicos (HIGDON & FREI, 2006).

Durante os últimos 30 anos, foram desenvolvidos diversos trabalhos com resultados conflitantes avaliando o consumo de café com incidência de doenças coronarianas. SOFI *et al.* (2007) em análise desses estudos, não verificaram correlação entre o consumo da bebida e aumento de risco a essas patologias.

Há relatos de que o consumo de café pode ter efeito preventivo contra oxidação do DNA e redução do risco de desenvolvimento da doença de Parkinson (FERRARI *et al.*, 2003), o último associado a um maior consumo de cafeína (HIGDON & FREI, 2006).

LARSSON & WOLK (2007) descreveram em um estudo de meta-análise, que foi observada correlação entre o consumo de café e a redução do risco de câncer de fígado. É também relatada a relação entre o consumo da bebida e a redução no risco de cirrose (LANG, 2006).

MCCARTY (2005) relata que o consumo de café diminui o risco de diabetes, sendo que os prováveis responsáveis por esse efeito são os ácidos clorogênicos, principal composto fenólico presente. Muitos estudos abordam o potencial antioxidante dessa classe de compostos (PRINCE *et al.*, 2006) e das melanoidinas (DELGADO-ANDRADE & MORALES, 2005).

Outros autores observaram para os diterpenos caveol e cafestol, presentes no café, propriedades antioxidantes e antiinflamatórias (KIM *et al.*, 2006; LEE & JEONG, 2007), efeitos hepatoprotetor (LEE *et al.*, 2007) e anticarcinogênico em humanos (CAVIN *et al.*, 2002). URGERT & KATAN (1997) relataram, no entanto, que esses diterpenos também podem ter efeitos indesejáveis, como a elevação da taxa de colesterol sanguíneo no organismo humano, que é atribuída principalmente ao cafestol. O consumo dos diterpenos é dependente do preparo: bebida preparada no estilo escandinavo e turco contém os maiores teores de caveol e cafestol, enquanto que café espresso contém quantidades intermediárias e, café filtrado, valores desprezíveis (GROSS *et al.*, 1997).

Além das avaliações citadas acima, HIGDON & FREI (2006), em sua revisão, descreveram que é ideal que gestantes limitem a ingestão da bebida de café (máximo 3 xícaras diárias) para evitar aborto espontâneo ou prejudicar o crescimento fetal e recomendam mais estudos sobre o efeito do consumo de cafeína em crianças e adolescentes. No geral, os autores relatam que existem poucas evidências de risco a saúde e consideráveis evidências de benefícios para adultos no consumo moderado de café.

## **2.2 COMPOSIÇÃO E QUALIDADE DO CAFÉ**

A composição do café depende de muitos fatores, destacando-se a espécie empregada. Somente 10 das 100 espécies conhecidas do gênero *Coffea*, são cultivadas mundialmente. As de maior interesse econômico são o *Coffea arabica* e o *Coffea canephora* (robusta), que constituiu 76% e 24%, respectivamente, do total da produção brasileira, no ano de 2007 e se distinguem quanto ao preço, qualidade e aceitabilidade (CONAB, 2008 e CEPLAC, 2008, CARVALHO *et al.*, 2001).

O café arábica produz uma bebida de melhor qualidade, mais fina, com aroma intenso e sabores diversificados e inúmeras variações de corpo e acidez, alcançando os maiores preços no mercado. Os cultivares mais indicados para plantio são: Mundo Novo, Catuaí Amarelo, Catuaí Vermelho, Acaiá e Icatu, adaptadas a regiões de temperatura entre 18 e 22 °C e altitude elevada (450 – 800 m), sendo que as maiores produções brasileiras desta espécie se destacam em

quatro estados: Minas Gerais, Bahia, parte do Espírito Santo, São Paulo e Paraná (MENDES, 1999; CEPLAC, 2008).

Já o café robusta é altamente resistente à ferrugem, produz uma matéria-prima de qualidade inferior ao arábica, mas tem grande aceitação no mercado, por ter menor preço e ser de grande interesse em indústrias de café solúvel, por apresentar elevado teor de sólidos solúveis (MENDES, 1999; CARVALHO *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2004).

No Brasil, o cultivar mais difundido do café robusta, é o conilon (BRAGANÇA *et al.*, 2001). Esse café é descrito por provadores treinados por produzir bebida de “sabor único”. O conilon é adaptado a regiões de menores altitudes (até 450 m) e temperaturas na faixa de 22 a 26 °C. Os grãos são de grande rusticidade, vigor e resistência às deficiências hídricas prolongadas (600-1500 mm de precipitação anual bem distribuída são suficientes). A produção de conilon ocorre principalmente nos estados de Rondônia e Espírito Santo (CEPLAC, 2008).

Em estudo da composição química de diferentes safras de cafés arábica e conilon, FERNANDES *et al.* (2003) verificaram que o café arábica possui teores de proteína bruta, fibra bruta e pH mais elevados.

O teor de lipídios é de aproximadamente 11 e 6%, para grãos de cafés arábica e conilon, respectivamente (LERCKER *et al.*, 1996a). FERNANDES *et al.* (2003) também relataram que o café arábica apresentou maiores teores de extratos etéreos que o conilon.

Os cafés arábica e conilon podem ser caracterizados pelo conteúdo de minerais, substâncias voláteis, ácidos clorogênicos, cafeína e lipídios (ácidos graxos, esteróis, tocoferóis, diterpenos) (GONZÁLEZ, 2001; MARTÍN, 1998; RUBAYIZA & MEURENS, 2005; SPEER, 2006). RUBAYIZA & MEURENS (2005) observaram que o café arábica possui teor de lipídios, em base seca, mais elevado ( $13,9 \pm 1\%$ ) do que o conilon ( $9,3 \pm 1\%$ ).

KY *et al.* (2001) estudaram as diferenças de composição e relataram variações nos teores de cafeína, ácidos clorogênicos totais (ACGs) e ácidos 3-cafeoilquínico, 4,5-dicafeoilquínico e 5-feruoilquínico entre as diferentes espécies.

No geral, o café conilon apresenta maiores teores de compostos fenólicos e sólidos solúveis, enquanto que o café arábica possui maiores concentrações de cafeína, carboidratos, lipídios e proteínas (LOPES, 2000; EMBRAPA, 2008).

Além das variações observadas com as espécies de café empregadas, a quantidade de defeitos é de grande importância e é um dos critérios utilizados para avaliar a qualidade da bebida (MENDES, 1999; CEPLAC, 2008; DELIZA *et al.*, 2007). No processo de seleção dos grãos crus do café brasileiro, cerca de 20% da produção é considerada imprópria e sem qualidade técnica para exportação (TOCI *et al.*, 2007).

Os tipos de café variam com o número de defeitos por peso de amostra (Tabela 2.1; Figura 2.1). A classificação prevê ainda uma equivalência de defeitos segundo a sua gravidade, por exemplo, 5 grãos quebrados ou 1 grão preto equivalem a 1 defeito (SECRETARIA DA FAZENDA, 2008).

**TABELA 2.1** – Quantidade de defeitos permitida em 300 gramas para as diferentes classificações de café segundo tabela oficial para classificação.

<b>Tabela oficial para classificação*</b>	
<b>Tipos</b>	<b>Defeitos</b>
2	4
3	12
4 (base)	26
5	46
6	86
7	160
8	360

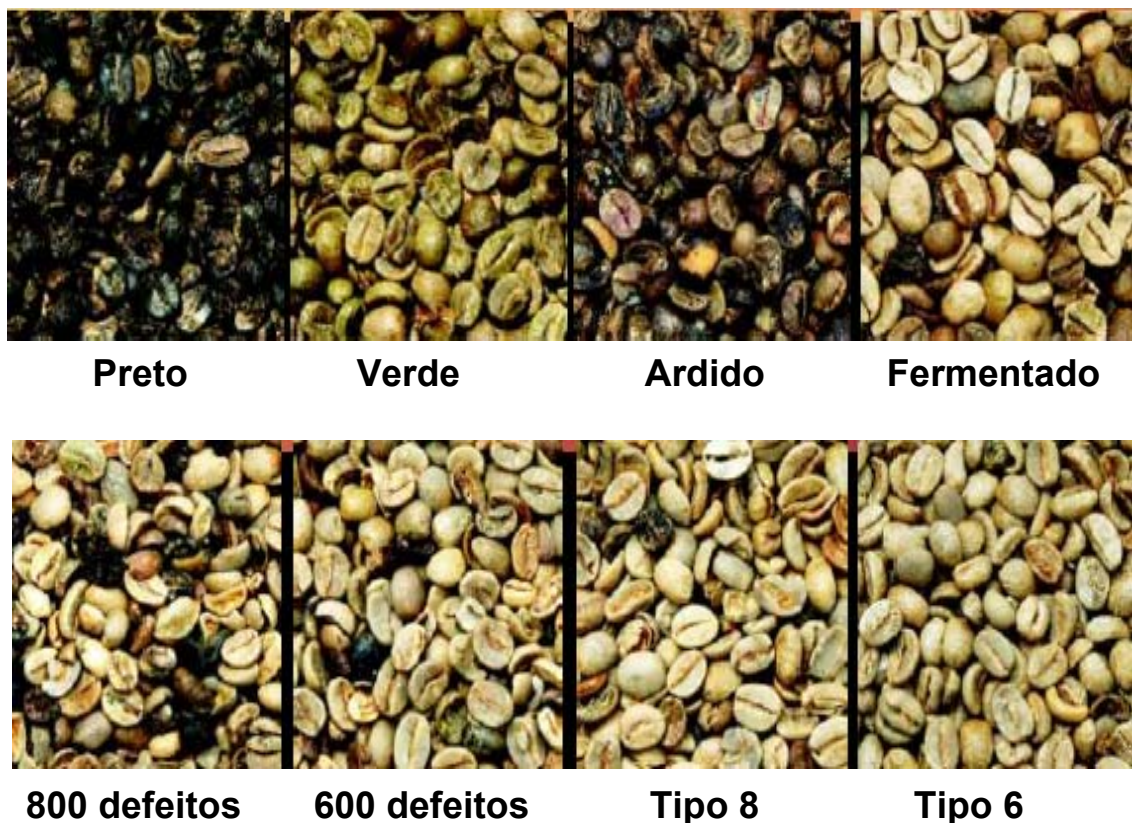
\*SECRETARIA DA FAZENDA (2008)

Segundo a ABIC (2008), cafés com qualidade recomendável são constituídos por grãos de café tipo 8 ou melhores, segundo a COB (Classificação Oficial Brasileira), com um máximo de 20% em peso de grãos com defeitos pretos, verdes e ardidos (PVA). A presença de PVA está associada à problemas específicos da colheita e operações de pré-processamento e podem ser eliminados através de catação eletrônica (FRANÇA *et al.*, 2005a; URAICAFÉ, 2008).

Tanto os grãos pretos quanto os ardidos (Figura 2.1) ocorrem devido à ação de processos indesejáveis (fermentativos) e resultam em produtos com perda das características aromáticas. Os grãos pretos são resultados de frutos que caíram

no chão pela ação da chuva ou por ultrapassar o estágio de maturação durante a colheita, entrando em contato com o solo e sendo submetidos à fermentação microbiana, enquanto que os grãos ardidos sofrem fermentação devido ao processamento impróprio durante a secagem ou colheita de grãos pós-maturação (MAZZAFERA, 1999; FRANÇA *et al.*, 2005a; FARAH *et al.*, 2006a; OLIVEIRA *et al.*, 2006; AGRESTI *et al.*, 2007; TANIWAKI *et al.*, 2007; TOCI *et al.*, 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

Quanto aos grãos verdes (Figura II.1), estes provêm de colheitas realizadas em estágio precoce de maturação (devido aos diversos tempos de maturação dos grãos) e contribui negativamente com o efeito adstringente da bebida (MAZZAFERA, 1999; FRANÇA *et al.*, 2005a; FARAH *et al.*, 2006a; OLIVEIRA *et al.*, 2006; AGRESTI *et al.*, 2007; TOCI *et al.*, 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2007).



Fonte: ABIC, 2008

**FIGURA 2.1** – Diferentes tipos e quantidades de defeitos em amostras de café

Apesar da importância desses defeitos na qualidade da bebida, é limitado o número de trabalhos realizados a respeito da composição físico-química dos grãos defeituosos (FRANÇA *et al.*, 2005b).

RAMALAKSHMI *et al.* (2007) estudaram a composição físico-química de grãos defeituosos de café e a compararam com os grãos não defeituosos. Em seu estudo, eles relataram que os grãos defeituosos possuem maior teor ACGs que os não defeituosos, além de menores quantidades de cafeína, polifenóis, proteínas e lipídios. FARAH & DONANGELO (2006) também relacionaram a presença de grãos defeituosos a maior concentração de ACGs.

Outros trabalhos na literatura descrevem que os grãos não defeituosos de café verde e torrado apresentaram maior teor de umidade, lipídios, proteínas, cafeína, sacarose e menor acidez (MAZZAFERA, 1999; FRANÇA *et al.*, 2005b; OLIVEIRA *et al.*, 2006; VASCONCELOS *et al.*, 2007). MAZZAFERA (1999) justificou o maior teor de açúcar pelo maior grau de maturação dos grãos não defeituosos (ausência de grãos verdes), e a maior acidez dos defeituosos, à ocorrência de fermentação. Não foi encontrada na literatura informação sobre a composição da fração lipídica dos grãos PVA.

A quantidade e o tipo de defeitos presentes na bebida de café podem alterar significativamente as suas características sensoriais pela diferença no perfil de composição dos voláteis (DELIZA *et al.*, 2007; FARAH *et al.*, 2006b). TOCI *et al.* (2007) relataram que amostras com PVA apresentaram maiores quantidades de compostos voláteis (47 compostos) do que amostras de bebida estritamente mole de melhor qualidade (41 compostos).

O processo de torra é a etapa determinante para o desenvolvimento do sabor e aroma do café, que depende de compostos voláteis presentes nos grãos (antes e principalmente os formados durante a torra) (TRUGO, 2001). É também a etapa mais importante na definição da composição do produto. Durante a torra (pirólise) são observadas transformações físicas e químicas nos grãos, ocorrendo reações de desidratação, hidrólise, fracionamento e catálise, que liberam gases e formam princípios aromáticos.

Em uma torra convencional, a faixa de temperatura utilizada varia entre 200 e 230 °C, com tempo variando entre 12 e 20 minutos, e pode ser classificada como leve, média e escura. A primeira produz um café de maior acidez, aroma e sabor suaves, com menos amargor e maior preservação de lipídios

aromáticos e açúcares. A torra média acentua o sabor e aroma. A torra escura diminui a acidez e dá maior evidência ao amargor, produzindo grãos com aspecto oleoso devido à perda de lipídeos aromáticos, quebra e interação de aminoácidos, decréscimo de açúcares totais e formação de açúcares redutores (FRANÇA *et al.*, 2001).

Há diversas formas de se monitorar o grau de torra. Entre elas, através do aspecto visual da amostra, de medida de cor, tempo e temperatura de torra, porcentagem de perda de peso dos grãos (%PP), desenvolvimento de aroma e sabor e mudanças químicas de alguns componentes (URGERT *et al.*, 1995; CLARKE & VITZTHUM, 2001; MENDES *et al.*, 2001; MORAES & TRUGO, 2001; MONTEIRO *et al.*, 2002; OOSTERVELD *et al.*, 2003; MINAMISAWA *et al.*, 2004; DIAS, 2005). Além dos sistemas internacionais utilizados para medida de cor (Hunter, CIELAB) existem medidas mais tradicionalmente utilizadas pelas indústrias da área. A Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC, 2008) recomenda, para classificar os graus de torra, utilizar os discos Agtron considerando para torra clara, o disco nº 65; média, o nº 55; e escura, o nº 45.

Dependendo das condições de torra utilizadas em grãos de café, teores entre 12 e 40% de polissacarídeos são degradados, sendo que a estabilidade térmica é afetada pelo diferentes tipos de açúcares. Monossacarídeos e oligossacarídeos são os primeiros a serem degradados pelo fato de serem convertidos rapidamente em produtos de reação de pirólise e Maillard. A celulose é o polissacarídeo mais estável (REDGWELL *et al.*, 2002; OOSTERVELD *et al.*, 2003).

Pode-se observar durante o processo de torra, que a cafeína (principal alcalóide presente no café) é relativamente estável às temperaturas do processo (MOREIRA *et al.*, 2000). Já o teor de ACGs, principais compostos fenólicos não voláteis presentes no café, trigonelina e compostos voláteis diminuem devido degradação no processo (MOREIRA *et al.*, 1999; MOREIRA *et al.*, 2000; FARAH *et al.*, 2006a; FARAH *et al.*, 2006b). Além disso, há um aumento proporcional nos teores de lipídios após a torra (LAGO, 2001). LERCKER *et al.* (1996a) reportaram que isso ocorre pela destruição dos carboidratos durante o processo: teores de 11,4 e 6,1% de lipídios de café arábica e conilon, respectivamente, aumentaram para 15,4 e 9,6%. GONZÁLEZ *et al.* (2001) relataram também o aumento do teor de tocoferóis com aumento da intensidade da torra.

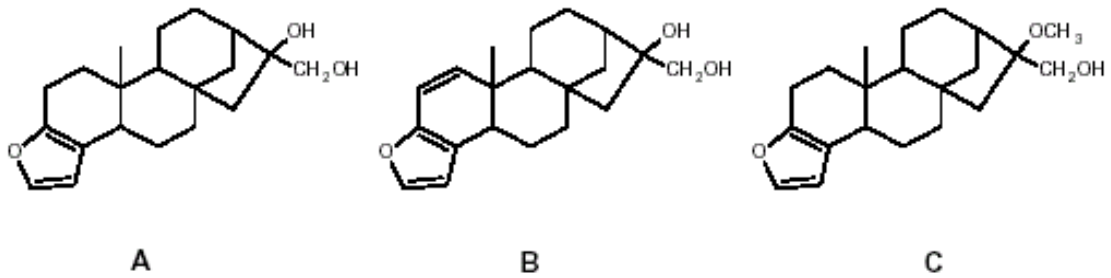
### 2.3 CAVEOL E CAFESTOL

Os grãos de café contêm uma concentração média de lipídios entre 7 e 20%, sendo que café arábica usualmente apresenta teores em torno de 15%, enquanto que o conilon possui cerca de 10%. O principal componente dos lipídios são os triacilgliceróis (75%) seguido dos diterpenos (aproximadamente 20%) (LAGO, 2001; SPEER & KÖLLING-SPEER, 2006).

O teor de matéria insaponificável (MI) no óleo de café é muito superior (entre 9 e 13,4%) ao teor da maioria dos óleos vegetais (cerca de 1%), sendo que os principais constituintes são dois álcoois diterpênicos: cafestol e caveol (LAGO, 2001), que não são detectados em outros alimentos. Esses compostos estão recebendo maior atenção nos últimos anos devido às suas propriedades sensoriais e fisiológicas (RUBAYIZA & MEURENS, 2005; HIGDON & FREI, 2006; SPEER & KÖLLING-SPEER, 2006).

Os diterpenos são normalmente esterificados com diferentes ácidos graxos e apenas pequena quantidade destes está presente na forma livre (KURZROCK & SPEER, 2001b; SPEER & KÖLLING-SPEER, 2006). Geralmente, as concentrações dos diterpenos nos grãos (verdes e torrados) e bebidas são reportadas como teores totais, sem diferenciá-los na forma livre ou esterificada (KÖLLING-SPEER *et al.*, 1999).

O caveol é encontrado no café arábica e apenas alguns traços estão presentes no café conilon. O cafestol é encontrado em ambas as espécies (KURZROCK & SPEER, 2001b; RUBAYIZA & MEURENS, 2005). Um terceiro diterpeno, o 16-O-Metilcafestol (16-OMC), é detectado apenas no café conilon (PETTITT, 1987), numa faixa de 1 a 3 g/kg em base seca (KURZROCK & SPEER, 2001a), mas a sua quantificação é dificultada pelo fato de não existir padrão comercial para esse composto (Figura 2.2).



**FIGURA 2.2** – Estrutura química dos compostos Cafestol (A), Caveol (B) e 16-O-Metilcafestol (C)

Para o café arábica, estudos reportaram uma faixa entre 100 e 736 mg de caveol e entre 100 a 700 mg de cafestol em 100 gramas de café torrado. Já para o café conilon, que possui menor teor de lipídios, encontrou-se uma faixa de cafestol entre 76 e 370 mg em 100 gramas do café. Quanto ao teor de caveol no café conilon, alguns autores descreveram a ausência deste diterpeno, enquanto outros encontraram apenas traços (concentrações inferiores a 13 mg por 100 g de café torrado) (NACKUNSTZ & MAIER, 1987; PETTITT, 1987; FREGA *et al.*, 1994; URGERT *et al.*, 1995; KURZROCK & SPEER, 2001a; LAGO, 2001; RUBAYIZA & MEURENS, 2005).

As variações dos diterpenos podem ocorrer não apenas entre diferentes espécies de café, mas em cafés de mesma espécie e diferentes origens geográficas (KURZROCK & SPEER, 2001b). LERCKER *et al.* (1995), estudando as espécies arábica e conilon de diferentes origens geográficas, detectaram uma faixa de 414,8 a 672,7 mg e 3,6 a 12,5 mg de caveol em 100 g destes cafés, respectivamente. Para esses mesmos cafés, a faixa encontrada para cafestol foi de 299,4 a 583,6 e 76,4 a 190,1 mg/100 gramas.

A estabilidade do caveol e cafestol durante a torra ainda é discutível. LERCKER *et al.* (1996b) estudaram a composição diterpênica em lipídios de café, comparando valores das espécies arábica e robusta antes e após a torra (Tabela 2.2).

**TABELA 2.2** – Quantificação de diterpenos em amostra de café verde e torrado das espécies arábica e robusta.

Componente	Café arábica		Café robusta	
	Verde	Torrado	Verde	Torrado
Dehidrocafestol	n.q.	30,0 – 79,2	n.d.	n.q.-0,5
Dehidrocaveol	2,6-3,4	46,9-83,3	n.d.	14,8-32,4
Caveol	431,2-663,6	371,1-672,7	14,2	3,6-12,5
Cafestol	414,2-533,7	299,4-583,6	113,0	76,4-190,1
Não identificado	0,8-1,7	0,9-3,2	n.d.	n.q.-0,4
16-O-metilcafestol	24-3,0	1,8-14,5	70,7	45,3-138,9

Fonte: LERCKER *et al.* (1996b)

n.q. = valores não quantificados nas condições de análise

n.d. = compostos não detectados nas condições de análise

Para diterpenos na forma livre, KÖLLING-SPEER *et al.* (1999) relataram que o aumento da temperatura diminuiu o teor de caveol, cafestol e 16-O-metilcafestol em até 80% da quantidade inicial. No entanto, somente uma pequena fração dos diterpenos (menos de 3,5%) encontra-se livre no grão antes da torra (SPEER & KÖLLING-SPEER, 2006).

Em estudos com a fração esterificada, há relatos de que caveol e cafestol foram degradados durante o processo de torra enquanto que 16-O-metilcafestol aparentou ser relativamente estável (KURZROCK & SPEER, 2001a e b; RUBAYIZA & MEURENS, 2005). Alguns autores justificam que caveol e cafestol têm boa estabilidade a altas temperaturas, mas podem formar dehidroderivados (dehidrocafestol e dehidrocaveol) em pequenas quantidades no final do processo de torra (CLARKE & VITZTHUM, 2001; LAGO 2001; SPEER & KÖLLING-SPEER, 2006). SPEER & KÖLLING-SPEER (2006) citaram a presença de outros produtos de decomposição como caveol, cafestol, isocaveol e dehidroisocaveol.

URGERT *et al.* (1995) avaliaram o comportamento de caveol e cafestol em espécie arábica com até 26,5 de %PP e concluíram que a torra não reduz a concentração destes compostos. DIAS (2005) utilizou técnica espectrofotométrica para avaliação da concentração de caveol, e estudou a estabilidade deste diterpeno em diferentes graus de torra (190 a 230 °C por tempo de 5 a 10 minutos). Não foram observadas alterações significativas no teor do

composto com aumento do grau de torra, relatando uma estabilidade ao processo de torra.

#### 2.4 DISCRIMINAÇÃO ENTRE ESPÉCIES DE CAFÉ

A Portaria nº. 377, item 9, do Ministério da Saúde (26 de abril de 1999) que aprova o “Regulamento Técnico para Fixação de Identificação e Qualidade de Café Torrado em Grão e Café Torrado e Moído”, menciona que no rótulo pode constar a variedade, origem e/ou denominação específica do café (ANVISA, 2008).

Considerando-se qualidade, sabor, preço, defeitos e espécies, o café pode ser classificado em diferentes tipos. Em ordem crescente de qualidade: cafés Tradicionais, Superiores, Gourmet (ou Premium) e Especiais. Para essa classificação, são sugeridas diferentes concentrações de café conilon nos *blends* do produto, porcentagem máxima de defeitos e pontuação mínima na análise sensorial (ABIC, 2008; EMBRAPA, 2008).

Apesar de tradicionalmente serem utilizadas misturas de café arábica e conilon em produtos de mercado, uma das dificuldades para a classificação adequada dos produtos está relacionada à discriminação das diferentes espécies. Em grãos crus, as espécies arábica e conilon podem ser distinguidas, já que os grãos do café arábica possui coloração verde clara, de forma oval, enquanto que os do conilon são mais arredondados e castanhos (KEMSLEY *et al.*, 1995). Depois de torrados e moídos, não é mais possível distinguir os grãos, nem pela coloração, nem pela forma, sendo necessárias então, outras formas de discriminação (KEMSLEY *et al.*, 1995; LAGO, 2001).

Para obter-se a discriminação entre *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, diferentes técnicas analíticas vêm sendo estudadas.

Métodos que utilizam espectroscopia no infravermelho (IV) para discriminação entre espécies têm sido citados (KEMSLEY *et al.*, 1995; ESTEBAN-DIEZ *et al.*, 2007; PIZZARO *et al.*, 2007). Existe ainda um trabalho propondo o uso de Espectroscopia Raman (RUBAYIZA & MEURENS, 2005), baseado na diferença de espectros pelos diferentes teores de caveol. Esses equipamentos, porém, não

são usualmente utilizados na área de análise de alimentos e necessitam calibração complexa, exigindo um grande número de análises (BRIANDET *et al.*, 1996; DOWNEY & BOUSSION, 1996).

SPANIOLAS *et al.* (2006) fizeram um estudo com abordagem genética utilizando a técnica de PCR, mas trabalharam apenas com a discriminação das espécies em amostras de café verde.

No geral, um maior número de trabalhos tem se concentrado na determinação de componentes químicos que possam funcionar como indicadores ou discriminadores, de forma isolada ou em conjunto. Técnicas cromatográficas, que permitem a quantificação simultânea de vários compostos, com destaque para a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, são as mais utilizadas.

Entre os compostos já estudados como diferenciadores dos cafés do tipo arábica e conilon, pode-se relatar o teor de minerais, metais, aminoácidos totais, compostos voláteis, ACGs, cafeína, trigonelina, cafeoil tirosina, ácidos hidroxicinâmicos, sacarose e composição de lipídios (esteróis, ácidos graxos, álcoois diterpênicos, tocoferóis, triglicerídios) (BICCHI *et al.*, 1995; ANDRADE *et al.*, 1998; MARTIN *et al.*, 1998; CASAL *et al.*, 2000; GONZALES *et al.*, 2001; KURZROCK & SPEER, 2001a; KY *et al.*, 2001; LAGO, 2001; MAETZU *et al.*, 2001; CAMPA *et al.*, 2004; DIAS, 2005; RUBAYIZA & MEURENS, 2005; SPEER & KÖLLING-SPEER, 2006).

Comparando a eficiência de diferentes compostos hidrossolúveis na capacidade de discriminação das espécies arábica e conilon em café torrado, DIAS (2005) verificou dificuldades no emprego de variáveis que apresentavam instabilidade a temperatura e variação com a torra, como ACG, nicotínico e trigonelina, e o melhor desempenho de um parâmetro estável ao processo, como a cafeína.

Com relação ao emprego de diterpenos na discriminação da porcentagem de café robusta adicionada em *blends* comerciais, através de cromatografia gasosa, FREGA *et al.* (1994) encontraram faixas de 414,8 a 672,7 mg de caveol e 299,4 a 583,6 mg de cafestol para café arábica e 3,6 a 12,5 mg de caveol e 76,4 a 190,1 mg de cafestol para café robusta, todos verdes e moídos. Além disso, eles concluíram no estudo, que os álcoois diterpênicos permitiram medir a quantidade de café robusta (5 a 10%) adicionada aos *blends* de café arábica.

DIAS (2005) estudou a utilização do caveol para discriminação das espécies de conilon e arábica, adaptando uma metodologia espectrofotométrica desenvolvida por ALVES (2004). Após extração da MI com terc-butil metil éter (t-BME), foi utilizado iodeto de potássio (KI) como reagente colorimétrico. A intensidade de absorvância foi determinada a 620 nm e relacionada com o teor de caveol. Verificou-se que as respostas não se alteraram significativamente para uma mesma espécie em diferentes graus de torra, sugerindo a estabilidade do caveol ao tratamento térmico e sua viabilidade como um parâmetro de discriminação.

Uma vez que existe diferença nos teores de caveol e cafestol encontrados na espécie arábica e conilon e que esses compostos são possivelmente mais estáveis à torra que alguns componentes hidrossolúveis usualmente estudados como discriminadores, os diterpenos poderiam representar uma alternativa como indicadores da porcentagem de café conilon adicionado em amostras de mercado, onde o nível de torra e defeitos não são conhecidos.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Discriminação das espécies de café *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (variedade conilon) através da composição de diterpenos.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinação quantitativa de caveol e cafestol presentes nas misturas de diferentes proporções das espécies *Coffea arábica* e *Coffea canephora* em diferentes graus de torra e quantidades de defeitos;
- Avaliação da estabilidade do caveol e cafestol ao processo de torra;
- Avaliação da importância de caveol e cafestol na discriminação das misturas aplicando-se Análise de Variância (ANOVA) e Regressão Multilinear;
- Verificação do modelo proposto para discriminação;
- Avaliação do efeito da presença de defeitos na eficiência do modelo.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

Em uma primeira etapa, para construção dos modelos matemáticos, foram utilizadas amostras de café torrado e moído das espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (variedade conilon) fornecidas da Companhia Iguazu de Café Solúvel (Cornélio Procópio – PR).

Foram empregados dois tipos de grãos comerciais de cada espécie, aqui denominados arábica 1 e 2 e conilon 1 e 2. Os grãos utilizados têm diferentes níveis de qualidade (com relação ao conteúdo de defeitos) e distintas origens geográficas, com o objetivo de apresentar uma maior heterogeneidade entre as amostras e gerar um modelo mais abrangente. O café arábica 1 (A1) é composto por grãos de café arábica oriundos do estado de Minas Gerais, com menor número de defeitos; o arábica 2 (A2) é composto por grãos de café do estado do Paraná e apresenta maior número de defeitos, portanto, qualidade de bebida inferior ao arábica 1. As amostras de café conilon 1 e 2 são *blends* de grãos provenientes dos estados de Rondônia e Espírito Santo. A nomenclatura 1 e 2 também se refere à quantidade de defeitos: conilon 1 (C1) apresenta menor número de defeitos do que o conilon 2 (C2). Cada um desses quatro tipos de amostras foi submetido às torras clara, média e escura, gerando assim, doze amostras. Os parâmetros de classificação do número de defeitos e torra são específicos da empresa.

A partir dessas 12 amostras puras (sem mistura de espécies), foram realizadas as misturas de 20, 30 e 50% de café conilon (C) ao café arábica (A), para as diferentes torras (clara, média e escura) e quantidades de defeitos nos grãos de café (1 e 2).

Assim, as amostras obtidas são correspondentes as misturas de 0, 20, 30, 50 e 100% de conilon 1 ao arábica 1 (A1/C1) para as três torras e o mesmo número de amostras para as misturas arábica 2 e conilon 2 (A2/C2). As amostras originais e as misturas (A1/C1, A2/C2) foram utilizadas para desenvolvimento do modelo. Foram também feitas misturas A1/C2 e A2/C1, nas mesmas proporções citadas anteriormente, utilizadas para uma primeira verificação dos valores previstos

e do ajuste do modelo. Todas as amostras (Tabela 4.1) permaneceram acondicionadas em câmara fria, à temperatura de, no máximo, 0 °C, até a realização do experimento.

**TABELA 4.1** – Amostras utilizadas para construção do modelo de discriminação das misturas de café conilon ao arábica.

Espécies Puras	Misturas
A1c, A1m, A1e A2c, A2m, A2e	A1C1c20, A1C1c30, A1C1c50, A1C1m20, A1C1m30, A1C1m50, A1C1e20, A1C1e30, A1C1e50, A2C2c20, A2C2c30, A2C2c50, A2C2m20, A2C2m30, A2C2m50, A2C2e20, A2C2e30, A2C2e50
C1c, C1m, C1e C2c, C2m, C2e	A1C2c20, A1C2c30, A1C2c50, A1C2m20, A1C2m30, A1C2m50, A1C2e20, A1C2e30, A1C2e50, A2C1c20, A2C1c30, A2C1c50, A2C1m20*, A2C1m30, A2C1m50, A2C1e20, A2C1e30, A2C1e50.

\*Exemplo legenda: A2C1m20 – mistura de arábica mais defeitos (80%) com conilon menos defeitos (20%), torra média.

Na segunda etapa, após a construção do modelo foram utilizadas outras amostras para verificação do mesmo. Os grãos de café arábica da variedade IAPAR – 59 e café conilon comercial, tipo 4, cedidos pelo Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), foram denominados A3 e C3, respectivamente.

Os grãos de café foram torrados em um torrador (Rod-Bel, São Paulo) com aquecimento a gás e capacidade para 300 g, com o tempo de processo variando de 5 a 10 minutos, e temperatura de 190 a 230 °C de acordo com a variedade de café a ser analisada e o tipo de torra desejada (clara, média ou escura). A definição de cada nível de torra foi definida considerando-se a porcentagem de perda de peso (%PP): 13% - torra clara; 17% - torra média e 20% - torra escura. Logo após a torra, realizou-se moagem das amostras a uma granulometria de 0,84 mm (peneira ABNT 20) e, em seguida, preparou-se misturas de 20 e 40% de conilon adicionado ao café arábica, para quantificação dos diterpenos, além da análise das amostras puras (Tabela 4.2).

Na terceira etapa, para verificar a eficiência do modelo de predição, amostras com diferentes proporções de defeitos, também cedidas pelo IAPAR, foram utilizadas. Obteve-se uma quarta amostra de café arábica (A4), com classificação conhecida com relação ao número de defeitos (tipo 8) A partir dessa amostra, os grãos defeituosos foram retirados gerando as amostras A5 (amostra de café arábica A4 sem defeitos) e A6 (defeitos da amostra de café arábica A4) (Tabela 4.2).

**TABELA 4.2** – Amostras utilizadas para verificação do modelo.

Espécies Puras	Misturas
A3c, A3m, A3e A4c, A4m, A4e A5c, A5m, A5e A51m, A52m*, A53m A6	A3C3c20, A3C3m20, A3C3e20, A3C3c40, A3C3m40, A3C3e40, A51C3m40**, A52C3m40, A53C3m40, A6m
C3c, C3m, C3e	

\*Exemplo legenda: A52m – mistura de café arábica sem defeitos (A5) com 20% de defeitos (A6), torra média.

\*\*Exemplo legenda: A51C3m40 – mistura de 60% de café arábica sem defeitos (A5) com 10% de defeitos (A6) e 40% de café conilon, torra média.

Com as amostras de café arábica sem defeitos (A5) e grãos defeituosos de café arábica (A6), pôde-se realizar misturas de defeitos no café arábica, nas proporções de 10, 20 e 30% (amostras A51, A52 e A53, respectivamente). Em seguida, utilizando a amostra de café conilon (C3) e as amostras com porcentagens conhecidas de defeitos (A51, A52 e A53), produziu-se misturas com 40% de café conilon (C3) (A51C3m40, A52C3m40, A53C3m40) (Tabela 4.2). Em seguida, os defeitos da amostra A6 foram classificados conforme descrito na tabela 4.3.

**TABELA 4.3** – Porcentagem dos diferentes defeitos presentes em uma amostra (A6) de grãos defeituosos de café arábica.

<b>Tipo de defeito</b>	<b>% defeitos (amostra A6)</b>
Ardido	37
Preto	16
Verde	15
Brocado	22
Quebrado	10

Um ponto importante, a ser considerado nesta etapa do estudo é que a amostra A6 foi submetida somente ao processo de torra média. Optou-se por trabalhar apenas com um parâmetro de torra pelo fato do modelo já ter sido construído com outras amostras sob diferentes condições de torra e a influência deste processamento na composição diterpênica ter sido avaliado previamente.

Assim, o objetivo desta etapa do trabalho foi verificar a influência dos defeitos, independentemente do grau de torra utilizado, minimizando a interferência deste fator. Considerando-se que, usualmente no Brasil, as amostras comercializadas são de torra média à escura, optou-se por trabalhar com a torra média.

## **4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS**

### **4.2.1 Análise de Umidade**

Para caracterização das amostras e cálculo da concentração dos diterpenos, em base seca, quantificou-se o teor de umidade dos cafés torrados e moídos. Através do equipamento de infravermelho (OHAUS-MB200, EUA), foi determinada a umidade utilizando-se programação de modo normal a 105 °C, por 7 minutos, considerando-se 0,01 g como diferença de perda de peso (DIAS, 2005).

#### 4.2.2 Análise de cor

A determinação de cor foi realizada empregando-se um colorímetro Byk Gardner GmbH, com iluminante D65 (luz natural do dia) e geometria 45/0. A leitura das amostras de café foi realizada em triplicata (BYK GARDNER, 2008). O colorímetro fornece diretamente os valores de  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (componente vermelho-verde) e  $b^*$  (componente amarelo-azul). A partir destes dados calculou-se o valor da tonalidade cromática ( $H^*$ ) (equação 1) (BERBERICH, 2002).

$$H^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \text{equação (1)}$$

#### 4.3 REAGENTES

Como solventes para as etapas de extração e preparo da fase móvel, foram utilizados: hidróxido de potássio (Synth), terc-butil metil éter (Vetec) de grau analítico e acetonitrila (Carlo Erba) de grau cromatográfico. A água empregada no preparo de padrões e soluções foi obtida por sistema de purificação e filtração Milli-Q (Millipore). As fases móveis utilizadas foram filtradas em sistema Millipore de filtração a vácuo, utilizando-se membranas de 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore) e degaseificados, por 2 minutos antes de sua utilização em degaseificador (Shimadzu, modelo DGU-14 Avp).

Nas análises foram empregados padrões (de grau analítico) de caveol e cafestol (Axxora, San Diego).

#### 4.4 EQUIPAMENTOS

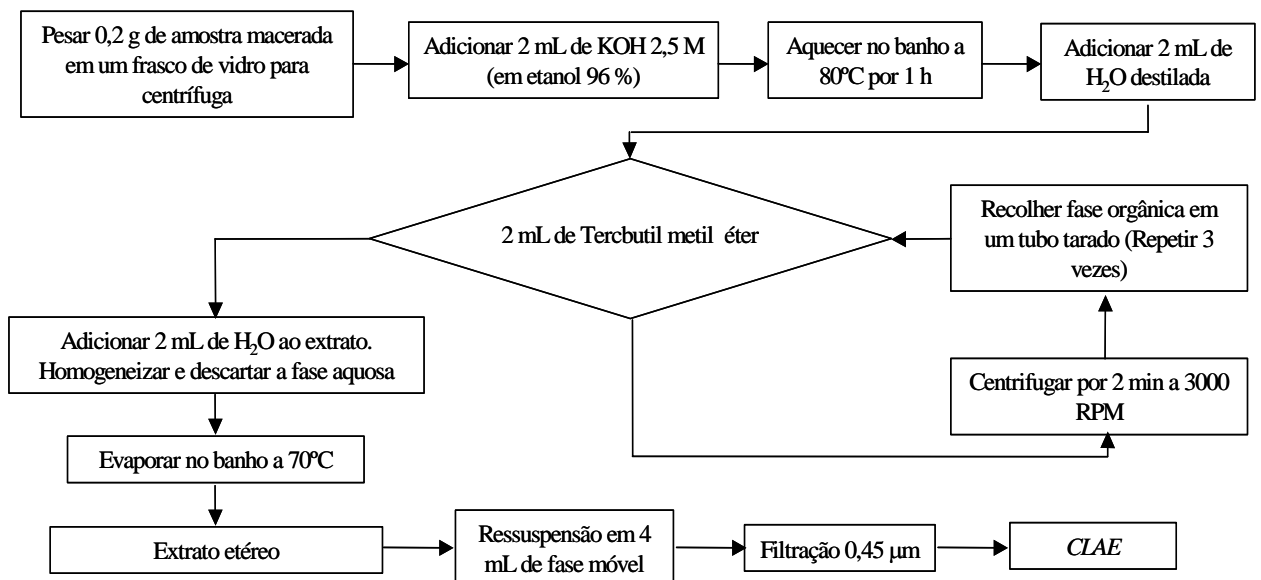
Para a análise cromatográfica, utilizou-se um cromatógrafo a líquido (Shimadzu), constituído de um sistema de bombeamento de solvente (quatro bombas modelo LC10ATvp), degaseificador DGU-14 Avp, válvula injetora Rheodyne,

com alça de amostragem de 20  $\mu\text{L}$  e forno para coluna cromatográfica modelo CTO-10 ASvp. O sistema está acoplado a um detector espectrofotométrico UV/VIS (Shimadzu modelo SPD-M10 Avp), de arranjo de diodo (varredura de 190 a 800 nm) e sensibilidade de  $0,8 \times 10^{-5}$  UA, conectado por uma interface (SCL-10Avp) a um microcomputador (Samsung) para processamento de dados.

#### 4.5 DETERMINAÇÃO DE CAVEOL E CAFESTOL POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

##### 4.5.1 Preparo de Amostra

As amostras sofreram saponificação direta com KOH e, em seguida, ocorreu extração da MI com t-BME, em duplicata. Após extração, realizou-se limpeza com água conforme trabalho prévio desenvolvido por ALVES *et al.* (2003), por uso de análise espectrofotométrica e posteriormente, adaptado por DIAS *et al.* (2006). O fluxograma do preparo das amostras está representado na Figura IV.1.



**FIGURA 4.1** – Fluxograma da extração da matéria insaponificável do café (DIAS *et al.*, 2006).

#### 4.5.2 Condições cromatográficas

Em trabalho preliminar (DIAS *et al.*, 2006), as condições cromatográficas utilizadas para análise das amostras foram estudadas e adaptadas às amostras em estudo. Empregou-se fase reversa (coluna Spherisorb ODS1, 250 x 4,6 mm, 5 micra) com eluição isocrática de ACN/água (55:45) na vazão de 0,9 mL/min. A detecção foi feita a 230 e 290 nm, para cafestol e caveol, respectivamente, com tempo de corrida de 20 minutos. A temperatura do forno empregada foi de 25 °C.

A identificação dos compostos foi feita no próprio cromatógrafo a líquido, baseando-se nos tempos de retenção dos solutos eluídos da coluna e comparados com o tempo de retenção do padrão, através de co-cromatografia.

O método utilizado foi validado em trabalho prévio (DIAS *et al.*, 2007) apresentando linearidade na faixa estudada (Tabela 4.4) e boa precisão (repetibilidade de 5 extrações de uma mesma amostra sob mesmas condições de extração e análise), com valores de coeficiente de variação (CV) para caveol e cafestol inferiores a 5,4%. Para exatidão, foi obtida recuperação adequada: 109% e 106%, para caveol e cafestol, respectivamente. Quanto à sensibilidade, observaram-se limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de 2,3 e 7,1 mg/100g para caveol e de 3,0 e 9,1 mg/100g para cafestol.

A quantificação foi feita por padronização externa, construindo-se curvas de calibração para os compostos a serem estudados (caveol e cafestol), com 6 diferentes concentrações de padrões (em triplicata), na faixa de 50 a 1000 mg/100 g de café. Essa faixa de concentração foi determinada baseada em análises prévias e dados da literatura (Item 2.3 e 5.2) e observou-se linearidade (Tabela 4.4).

**TABELA 4.4** – Parâmetros da regressão linear das curvas de calibração dos diterpenos.

Parâmetros	Caveol**	Cafestol**
Equação*	$y = 0,00051991x + 79,5875$	$y = 0,000477975x + 12,3132$
R <sup>2</sup> ; p	0,977; <0,001	0,995; <0,001

\*y = quantidade da substância em mg/100 g amostra; x = área do pico cromatográfico; n=18 amostras (6 concentrações em triplicata).

\*\* Faixa de linearidade: 50 a 1000 mg/100 g de amostra

#### 4.6 ANÁLISE DAS VARIEDADES E MISTURAS

Para análise das amostras, em cada etapa do estudo, empregou-se um delineamento inteiramente ao acaso.

Para avaliação do efeito da torra e da espécie nos teores de diterpenos das amostras arábica e conilon (1 e 2) e misturas (A1/C1 e A2/C2), os resultados foram submetidos à análise variância e teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) através do programa SISVAR (Sistema de Análise de Variância de Dados Balanceados) (SISVAR, 2007). Considerou-se como tratamentos, a espécie de café (principal/parcela) e a torra (secundária/sub-parcela) em um esquema de parcelas subdivididas (exemplo no Anexo 1).

Quando os teores de diterpenos nas espécies sofreram influência em relação ao grau de torra, pode-se dizer que houve interação ( $p \leq 0,05$ ) entre as causas de variações, espécie (pura ou mistura) e torra. Assim, o efeito da torra em cada espécie foi estudado separadamente. Para interações não significativas ( $p > 0,05$ ), as espécies não sofreram alterações com relação à torra, comparando-se as médias globais das espécies em cada torra e das médias globais das torras em cada espécie.

A partir dos resultados das amostras de arábica e conilon (1 e 2) e misturas (A1/C1 e A2/C2) foram construídos modelos que correlacionaram a espécie em função dos teores de cafeol e cafestol, com as torras tratadas separadamente ou em conjunto, empregando-se regressões multilíneas pelo procedimento "Multiple regression" do programa Statistica 7.1 (STATSOFT, 2006). A espécie de café foi expressa pela porcentagem de café conilon (0, 20, 30, 50 e 100%). Foram comparados modelos considerando-se os parâmetros individualmente ou em conjunto.

Para verificar a eficiência, foram também avaliados os valores previstos pelo modelo para misturas diferentes das empregadas inicialmente: A1/C2 e A2/C1, nas proporções de 20, 30 e 50% de café conilon ao café arábica. Ao fornecer o teor dos diterpenos de uma amostra, com utilização do modelo construído, o programa estima a porcentagem da mistura, permitindo avaliar sua eficiência.

O melhor ajuste foi escolhido baseado na análise dos resíduos (gráfico de resíduo x valor previsto e resíduo x valor observado; Gráficos 1 a 4), coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e nível de significância ( $p$ ) da correlação, bem como na resposta observada para os valores previstos.

Para o modelo escolhido, foi então verificada a eficiência com amostras de cafés arábica e conilon de outra procedência. As amostras A3 e C3 em diferentes graus de torra, bem como suas misturas (adição de 20 e 40% de conilon C3 ao arábica A3) foram utilizadas para nessa etapa.

Para a terceira etapa do trabalho, utilizou-se o mesmo procedimento para verificar se o modelo seria eficiente para previsão trabalhando-se com amostras com diferentes porcentagens de defeitos (A51, A52 e A53 com 0 e 40% de conilon C3). Utilizou-se também ANOVA e teste de médias (Tukey,  $p \leq 0,05$ ) (Statistica 7.1), para comparação dos teores de diterpenos em amostras de café arábica (A5 e A6) e misturas com diferentes porcentagens de defeitos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de café arábica (A1, A2, A3, A4, A5 e A6) e conilon (C1, C2 e C3) em diferentes graus de torra foram caracterizadas por medidas de umidade e cor (Tabelas 5.1, 5.2 e 5.3). Encontram-se, ainda, no Anexo 2 os valores de umidade, luminosidade ( $L^*$ ) e tonalidade cromática ( $H^*$ ) para todas as misturas empregadas no estudo.

Os cafés apresentaram umidade variando de 1,2 a 4,0 g/100 g de produto, considerando-se as diferentes espécies (arábica e conilon) e graus de torra (Tabela 5.1).

**TABELA 5.1** – Umidade\* (g/100 g) do café arábica (A1, A2, A3, A4 e A5) e conilon (C1, C2 e C3) submetidos a diferentes torras.

<b>Espécie / Torra</b>	<b>Clara</b>	<b>Média</b>	<b>Escura</b>
<b>A1</b>	3,2 ± 0,0	1,6 ± 0,1	2,4 ± 0,1
<b>A2</b>	2,0 ± 0,1	1,4 ± 0,0	2,0 ± 0,1
<b>A3</b>	3,0 ± 0,0	2,2 ± 0,0	2,0 ± 0,1
<b>A4</b>	3,0 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,0
<b>A5</b>	2,9 ± 0,0	2,6 ± 0,1	2,3 ± 0,0
<b>A6</b>	-	2,4 ± 0,0	-
<b>C1</b>	4,0 ± 0,0	3,0 ± 0,1	1,5 ± 0,0
<b>C2</b>	1,5 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,0
<b>C3</b>	2,5 ± 0,0	2,2 ± 0,0	2,6 ± 0,1

\*Média ± desvio padrão das amostras realizadas em duplicata.

Ao caracterizar a cor, observou-se que para todas as amostras, os valores de  $L^*$  diminuíram com o aumento do grau de torra. Foi possível notar também que, para cada tipo de torra,  $L^*$  esteve dentro de uma faixa característica, tanto para as amostras puras quanto para as misturas. Na torra clara, esta faixa

variou entre 29 e 40, enquanto que para as torras média e escura, as luminosidades estiveram na faixa de 20 a 30 e 14 a 21, respectivamente (Tabela 5.2 e Anexo 2).

**TABELA 5.2** – Luminosidade\* dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) submetidos a diferentes torras.

<b>Espécie / Torra</b>	<b>Clara</b>	<b>Média</b>	<b>Escura</b>
<b>A1</b>	29,0 ± 0,5	20,1 ± 0,1	14,7 ± 0,5
<b>A2</b>	31,9 ± 0,4	21,1 ± 0,2	16,6 ± 1,0
<b>A3</b>	30,0 ± 0,3	27,6 ± 0,2	20,8 ± 0,1
<b>A4</b>	32,1 ± 0,5	26,8 ± 0,7	19,1 ± 0,4
<b>A5</b>	31,5 ± 0,6	26,8 ± 0,4	19,7 ± 0,2
<b>A6</b>	-	27,7 ± 0,8	-
<b>C1</b>	39,3 ± 1,2	28,9 ± 0,5	19,9 ± 0,1
<b>C2</b>	32,7 ± 0,4	21,7 ± 0,3	13,6 ± 0,7
<b>C3</b>	39,7 ± 0,2	29,7 ± 0,6	20,4 ± 0,1

\*Média ± desvio padrão dos valores de luminosidade das amostras obtidas em triplicata.

Os valores de tonalidade cromática (H\*) descrevem uma relação entre os componentes amarelo e vermelho. As amostras que sofreram processos térmicos mais brandos mostraram-se mais amareladas (maiores valores de H\*) enquanto que tratamentos mais severos tornaram as amostras mais vermelhas (redução nos valores de H\*) (Tabela V.3).

**TABELA 5.3** – Tonalidade cromática\* dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) submetidos a diferentes torras.

<b>Espécie / Torra</b>	<b>Clara</b>	<b>Média</b>	<b>Escura</b>
<b>A1</b>	63,8 ± 0,8	58,7 ± 0,3	50,8 ± 0,4
<b>A2</b>	63,0 ± 0,4	62,7 ± 0,8	50,0 ± 0,8
<b>A3</b>	63,1 ± 0,3	59,8 ± 0,5	55,4 ± 0,4
<b>A4</b>	65,8 ± 0,7	60,8 ± 0,5	53,6 ± 0,2
<b>A5</b>	65,2 ± 0,2	61,8 ± 0,4	52,0 ± 0,3
<b>A6</b>	-	61,4 ± 0,8	-
<b>C1</b>	66,9 ± 0,9	64,4 ± 0,5	57,7 ± 3,1
<b>C2</b>	67,6 ± 0,4	62,1 ± 0,1	55,2 ± 2,0
<b>C3</b>	69,6 ± 0,2	65,3 ± 0,4	58,9 ± 0,5

\*Média ± desvio padrão dos valores de tonalidade cromática das amostras obtidas em triplicata.

Para  $H^*$ , também se observou uma faixa de valores para cada um dos diferentes graus de torra, porém menos definida do que o constatado para  $L^*$ . Para as torras claras, obteve-se valores de  $H^*$  superiores a 63 enquanto que para a torra escura estes foram inferiores a 59, chegando até 50. Valores entre 59 e 65 foram encontrados para  $H^*$  nas amostras de torra média (Tabela V.3 e Anexo 2).

No geral, os valores de  $L^*$  e  $H^*$  observados (Tabelas 5.2 e 5.3) foram próximos aos dados descritos na maior parte dos trabalhos encontrados na literatura. A maior dificuldade de comparação deve-se aos diferentes critérios empregados para caracterizar o nível de torra.

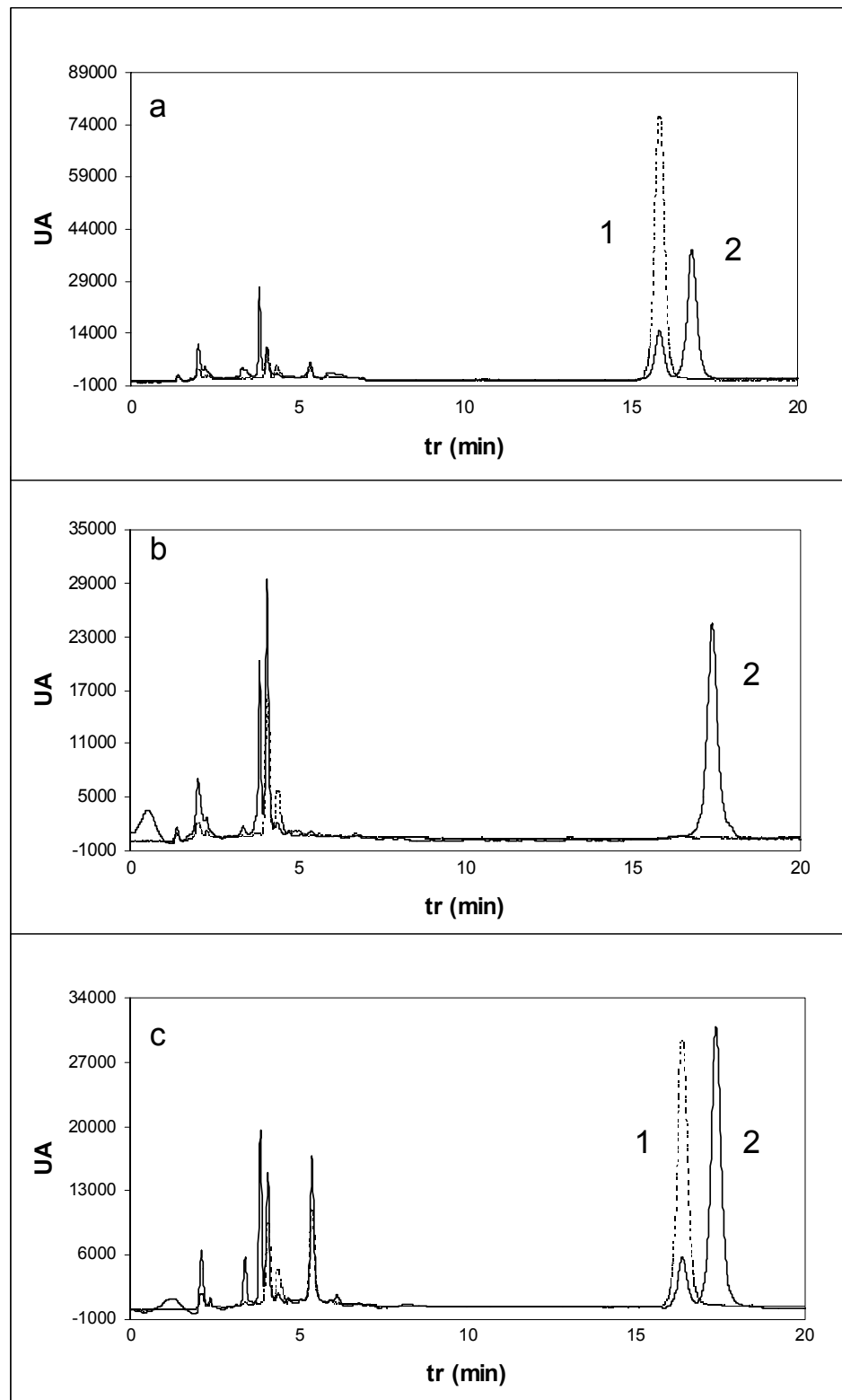
MONTEIRO *et al.* (2002), para amostras de café arábica com %PP de 14 a 17%, relataram valores de  $L^*$  de 6,5 a 11, inferiores aos obtidos neste trabalho. DUARTE *et al.* (2005) descrevem valores de  $L^*$  na torra clara entre 35 e 37, enquanto que para as torras médias e escuras estiveram na faixa de 32 a 34 e 29 a 30, respectivamente.

DIAS (2005), caracterizando os graus de torra por diferentes perdas de peso (13, 17 e 20%), para as torras, clara, média e escura, relatou faixas de  $L^*$  variando entre 28 e 38; 15 e 25; 13 e 18, para as respectivas torras. Os valores de  $H^*$  reportados neste mesmo trabalho, estiveram na faixa de 57 a 63, para torra clara; 45 a 56, para torra média; e 41 a 49, para torra escura.

BORGES *et al.* (2002) trabalhando com uma torra de aquecimento alto, por tempos de 5 a 10 minutos, descreveram variação de  $L^*$  de 20 a 37 e de  $H^*$  de 35 a 55 para café arábica. Para café conilon, MENDES *et al.* (2001) relata valores de 37 a 41 para  $L^*$  e 50 a 57 para  $H^*$  para um processo de torra de 225 a 330°C por 22 a 28 minutos.

## **5.2 QUANTIFICAÇÃO DE CAVEOL E CAFESTOL NAS ESPÉCIES PURAS E MISTURAS**

Cromatogramas típicos de café arábica, conilon e mistura de 50% de café conilon em arábica, torrados em nível médio, podem ser observados na Figura 5.1.



**FIGURA 5.1** – Cromatogramas típicos de café torrado em nível médio: café arábica (a), café conilon (b) e mistura de 50% de café conilon ao arábica (c). Detecção a 230 (—) e 290 nm (---). Picos de caveol (1) e cafestol (2).

A quantificação foi feita a 230 e 290 nm, valores de máxima absorvância para os compostos cafestol e caveol, respectivamente. Os tempos de

retenção dos diterpenos foram próximos a 16 (caveol) e 17 minutos (cafestol). Para as condições cromatográficas utilizadas, observou-se que os interferentes foram eluídos em até 8 minutos, ou seja, afastados do tempo de retenção dos compostos em estudo. Além disso, verificou-se um perfil cromatográfico com resolução e eficiência satisfatórias.

O teor total de diterpenos (mg/100 g de amostra em base seca) variou de 1021 a 1344 nos cafés da espécie arábica, e de 163 a 275 nos conilon, considerando-se os diferentes graus de torra (clara, média e escura) (Tabelas 5.4 e 5.5). Esses valores são coincidentes com a literatura que menciona que os diterpenos corresponderiam de 10 até 20% da fração lipídica do café torrado (GROSS *et al.*, 1997; SPEER & KÖLLING-SPEER, 2006). São relatados teores totais de diterpenos de 1,3% para café arábica e 0,2% para conilon (URGERT *et al.*, 1995; LAGO, 2001).

**TABELA 5.4** – Teor\* de caveol (mg/100 g de amostra em base seca) dos cafés das espécies arábica (A1 e A2) e conilon (C1 e C2) submetidos a diferentes torras (clara, média e escura) e misturas de conilon em arábica (20%, 30% e 50%).

A1 / C1 p = 0,13	Espécie/Torra**	Clara	Média	Escura
	0 %	829 <sup>Aa</sup> ± 16	744 <sup>Ba</sup> ± 8	800 <sup>Aba</sup> ± 28
	20 %	530 <sup>Ab</sup> ± 2	507 <sup>Ab</sup> ± 59	516 <sup>Ab</sup> ± 18
	30 %	410 <sup>Ac</sup> ± 12	428 <sup>Ab</sup> ± 1	478 <sup>Ab</sup> ± 26
	50 %	327 <sup>Ac</sup> ± 33	308 <sup>Ac</sup> ± 18	294 <sup>Ac</sup> ± 20
	100 %	0 <sup>Ad</sup> ± 0	0 <sup>Ad</sup> ± 0	0 <sup>Ad</sup> ± 0
A2 / C2 p ≤ 0,05	Espécie/Torra**	Clara	Média	Escura
	0 %	699 <sup>Ba</sup> ± 8	866 <sup>Aa</sup> ± 21	661 <sup>Ba</sup> ± 16
	20 %	622 <sup>Bab</sup> ± 34	744 <sup>Ab</sup> ± 17	544 <sup>Cb</sup> ± 45
	30 %	557 <sup>Bb</sup> ± 28	717 <sup>Ab</sup> ± 3	391 <sup>Cc</sup> ± 29
	50 %	462 <sup>Ac</sup> ± 56	393 <sup>Ac</sup> ± 3	267 <sup>Bd</sup> ± 34
	100 %	0 <sup>Ad</sup> ± 0	0 <sup>Ad</sup> ± 0	0 <sup>Ae</sup> ± 0

\*Média ± desvio padrão dos valores das amostras quantificadas em duplicata.

\*\*Letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, indicam diferença significativa (p ≤ 0,05).

O teor de caveol no café arábica variou entre 661 a 866 mg/100g na amostras submetidas aos diferentes tratamentos térmicos, enquanto que no café

conilon não foi observada a presença desse composto (Tabela 5.4). No geral, observou-se que a adição de café conilon ao arábica reduziu significativamente os teores de caveol nas torras clara, média e escura, mas o comportamento foi diferenciado dependendo da torra e do tipo de amostra de café (1 ou 2) utilizados.

Comparando-se o teor de cafestol encontrado nas diferentes amostras (Tabela V.5), constatou-se que para o café arábica esteve em uma faixa entre 360 e 478 mg/100 g, enquanto que para o conilon a faixa variou de 163 a 275 mg/100 g para os diferentes graus de torra. Também para o cafestol observou-se que, no geral, a adição de conilon ao café arábica reduziu significativamente o teor deste diterpeno.

**TABELA 5.5** – Teor\* de cafestol (mg/100 g de amostra em base seca) dos cafés das espécies arábica (A1 e A2) e conilon (C1 e C2) submetidos a diferentes torras (clara, média e escura) e misturas de conilon em arábica (20%, 30% e 50%).

A1 / C1 p ≤ 0,05	Espécie/Torra**	Clara	Média	Escura
	0 %	463 <sup>Aa</sup> ± 4	398 <sup>Ba</sup> ± 46	420 <sup>ABa</sup> ± 4
	20 %	368 <sup>Ab</sup> ± 10	340 <sup>Aab</sup> ± 0	314 <sup>Abc</sup> ± 8
	30 %	336 <sup>Abc</sup> ± 1	307 <sup>Abc</sup> ± 6	315 <sup>Ab</sup> ± 16
	50 %	295 <sup>Ac</sup> ± 38	286 <sup>Abc</sup> ± 4	281 <sup>Abc</sup> ± 30
	100 %	163 <sup>Bd</sup> ± 24	250 <sup>Ac</sup> ± 8	242 <sup>Ac</sup> ± 6
A2 / C2 p = 0,12	Espécie/Torra**	Clara	Média	Escura
	0 %	455 <sup>Aa</sup> ± 1	478 <sup>Aa</sup> ± 6	360 <sup>Ba</sup> ± 3
	20 %	369 <sup>Ab</sup> ± 28	346 <sup>ABb</sup> ± 11	309 <sup>Bab</sup> ± 32
	30 %	351 <sup>Ab</sup> ± 5	327 <sup>ABb</sup> ± 17	283 <sup>Bb</sup> ± 31
	50 %	304 <sup>Abc</sup> ± 32	259 <sup>Abc</sup> ± 1	247 <sup>Bbc</sup> ± 17
	100 %	275 <sup>Ac</sup> ± 10	235 <sup>ABc</sup> ± 31	188 <sup>Bc</sup> ± 6

\*Média ± desvio padrão dos valores das amostras quantificadas em duplicata.

\*\*Letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, indicam diferença significativa (p ≤ 0,05).

Na literatura encontrou-se grande variabilidade nos valores descritos para concentração dos compostos estudados, além de controvérsias com relação à presença ou ausência do composto caveol no café conilon.

Em café da espécie arábica, foram descritos teores de caveol em uma ampla faixa, desde 100 mg até quantidades superiores a 736 mg/100 g de café

(FREGA *et al.*, 1994; URGERT *et al.*, 1995; KURZROCK & SPEER, 2001a; LAGO, 2001; RUBAYIZA & MEURENS, 2005).

URGERT *et al.* (1995) utilizaram uma amostra de café arábica torrado e moído, contendo 573 mg de cafestol e 736 mg de caveol em 100 g de café torrado, para estudar o impacto nos níveis de colesterol sanguíneo após o preparo de bebidas de café de diferentes formas. Os mesmos autores relatam que a média dos diterpenos (caveol e cafestol) no café consumido nos EUA e Europa variam entre 400 e 500 mg/ 100g de grãos torrados.

Enquanto alguns autores mencionam a ausência de caveol em café conilon (NACKUNSTZ & MAIER, 1987; DIAS, 2005), outros relatam ter encontrado, mesmo que em pequena quantidade. Foram detectadas quantidades de caveol menores que 13 mg/100 g de café (FREGA *et al.*, 1994) e alguns autores detectaram apenas traços (KURZROCK & SPEER, 2001a; RUBAYIZA & MEURENS, 2005).

Considerando-se o limite de detecção e quantificação do método empregado (2,3 e 7,1 mg/100 g de café, respectivamente), é justificado o fato de não ter sido observada a presença de caveol nas amostras de café conilon utilizadas no presente estudo.

Quanto aos teores de cafestol, na literatura encontraram-se valores entre 76 e 300 mg/100 g de café conilon e 100 a 700 mg/100 g de café arábica (FREGA *et al.*, 1994; KURZROCK & SPEER, 2001a; RUBAYIZA & MEURENS, 2005).

FREGA *et al.* (1994) utilizaram diferentes tipos de café para produzir *blends* de café arábica e robusta. Os autores relataram que, em um *blend* em que foi adicionado 20% de café robusta ao arábica, foi encontrado teores de 357 e 405,4 mg de caveol e cafestol, respectivamente, em 100 gramas da mistura. Para mesma proporção de adição de conilon ao arábica, no presente estudo observou-se para as diversas torras, em 100 gramas da mistura, valores de caveol na faixa de 507 a 744 mg e cafestol entre 309 e 369 mg (Tabelas 5.4 e 5.5).

No geral, os valores determinados para os diterpenos foram próximos aos descritos na maioria dos trabalhos encontrados na literatura. Observaram-se concentrações elevadas de caveol em café arábica, coincidentes com os maiores valores relatados na literatura. No entanto, para cafestol, os valores encontrados foram coincidentes com os valores intermediários descritos.

Essa variação de valores pode ser justificada por alguns fatores. Deve-se considerar que existe muita divergência quanto aos procedimentos de extração adotados nos diferentes métodos empregados na quantificação dos diterpenos. Vários trabalhos descrevem o emprego de extração preliminar (com solventes a frio ou Soxlet) para posterior saponificação, havendo maior possibilidade de oxidação dos componentes (LERCKER *et al.*, 1995; RUBAYIZA & MEURENS, 2005; KÖLLING-SPEER & SPEER, 2006). A saponificação direta tem sido descrita como uma alternativa eficiente na extração de outros compostos insaponificáveis, como colesterol e óxidos de colesterol, evitando a formação de produtos de oxidação (SALDANHA *et al.*, 2006). A metodologia analítica empregada no trabalho utiliza saponificação direta seguida de extração (Figura 4.1). Considerando-se que o caveol apresenta uma dupla ligação a mais que o cafestol, em sua estrutura (Figura 2.2), sendo portanto, mais sensível à oxidação, é provável que alterações no método de análise afetem mais os valores de caveol.

Mesmo sem considerar as possíveis diferenças na eficiência das metodologias analíticas, existe a variabilidade da matéria-prima empregada. A princípio, estima-se que a origem geográfica e as variedades do café utilizadas por cada autor são os fatores que gerariam as maiores variações dos teores dos diterpenos.

A grande variabilidade relacionada ao teor total de lipídios no grão de café já implica em provável variação na concentração dos componentes lipossolúveis. AGUIAR *et al.* (2005) estudaram a variação do teor de lipídios em grãos de 47 plantas pertencentes às variedades: Robusta, Conilon 6, Apoatã, Guarini, Laurentii e Bukobensis. Como resultado do estudo, eles observaram diferenças significativas no teor médio entre as plantas de mesma variedade e entre variedades distintas, sendo que os grãos de variedade robusta apresentaram os maiores teores de lipídios (média de 11%) enquanto que a média do conilon foi de 7%.

KURZROCK & SPEER (2001a), em sua revisão, relataram variações significativas nas concentrações de ésteres dos diterpenos caveol e cafestol, em cafés verdes de diferentes origens (diversos países da Ásia, África e América do Sul).

FREGA *et al.* (1994) avaliaram as concentrações de diversos álcoois diterpênicos das espécies arábica (12 origens distintas) e conilon (8 origens) em

grãos verdes e torrados, além dos *blends* das duas espécies. Neste estudo, os autores relataram variações entre 414,8 a 672,7 mg de caveol e 299,4 a 583,6 mg de cafestol por 100g de lipídios, em diferentes amostras de café arábica torrado de distintas origens. Para as variedades do café robusta, os teores estiveram entre 3,6 a 12,5 mg de caveol e 76,4 a 190,1 mg de cafestol em 100 g de lipídios.

Outro fator que poderia ser responsável pelas variações detectadas nos diterpenos estudados é o processo de torra do café, uma vez que existe na literatura divergência quanto à estabilidade desses compostos quando submetidos a tratamentos térmicos. Alguns autores relatam que os diterpenos têm boa estabilidade a altas temperaturas, mas podem formar dehidroderivados (dehidrocafestol e dehidrocaveol) em pequenas quantidades no final do processo de torra (CLARKE & VITZTHUM, 2001; LAGO 2001; SPEER & KÖLLING-SPEER, 2006). SPEER & KÖLLIG-SPEER (2006) citam ainda a presença de outros produtos de decomposição como caveal, cafestal, isocaveol e dehidroisocaveol e reportam mudanças nos teores de ésteres de cafestol e caveol com o aumento do grau de torra.

URGERT *et al.* (1995) avaliaram o comportamento de caveol e cafestol em espécie arábica de torras intensas, com até 26,5 de %PP, e concluíram que a torra não reduziu a concentração destes compostos.

DIAS (2005), utilizando uma metodologia espectrofotométrica para detecção de caveol (reação com KI e leitura a 620 nm), também avaliou a estabilidade do composto em amostras da espécie arábica e conilon em diferentes graus de torra (190 a 230 °C por tempo de 5 a 10 minutos). Não foi observada interação entre as variáveis espécies de café e intensidade de torra, e constatou-se que o diterpeno apresentou estabilidade do caveol ao tratamento térmico.

Nas Tabelas 5.4 e 5.5 e exemplo no Anexo 1 podem-se observar que ocorreu interação significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre espécie e torra para a concentração de caveol na amostras 2 (espécies puras e misturas) e para os valores de cafestol na amostra 1 (espécies puras e misturas).

Para os teores de caveol nas amostras 1 (A1, C1 e misturas A1/C1) e cafestol nas amostras 2 (A2, C2 e misturas A2/C2) (exemplificado no Anexo 1) não ocorreram interações significativas ( $p=0,13$  e  $p=0,12$  para as amostras 1 de caveol e 2 de cafestol respectivamente), indicando que sua concentração depende apenas da proporção das espécies de café, ou seja, não sofreram alterações com diferentes

parâmetros de torra. Assim, as comparações foram feitas com as médias gerais das espécies em cada torra e com as médias gerais das torras em cada espécie. As amostras de torra escura apresentaram menor teor de cafestol do que as de torra clara e média. Verificando-se assim que essas amostras sofreram efeitos diferentes em relação à torra.

Dessa forma, apesar de em todos os casos a adição de café conilon ter reduzido o conteúdo dos diterpenos, o efeito foi diferenciado dependendo da torra e da amostra. Não se observou, no entanto nenhuma evidência de que a torra implicou necessariamente em degradação significativa dos diterpenos: os teores encontrados nas torras média e escura não foram sistematicamente menores do que os observados na torra clara, e em alguns casos foram superiores.

É interessante considerar que o teor total de lipídios também é influenciado pela torra, mesmo que se utilizem dados em base seca. O conteúdo de lipídios pode aumentar proporcionalmente no decorrer deste processo devido principalmente, à destruição de carboidratos. Essa destruição ocorre porque o processo de torra rompe a matriz da parede celular resultando na solubilização dos polissacarídeos acarretando diminuição do peso molecular destes (LAGO, 2001; OOSTERVELD, 2003). REDWELL *et al.* (2002) em seu estudo, relataram que, dependendo do processamento empregado, entre 12 e 40% dos polissacarídeos dos grãos de café foram degradados. Foi descrita para o café arábica, uma elevação de 11,4% para 15,4% no teor de lipídios totais, e, para o conilon, alteração de 6,1 até 9,6% (LAGO, 2001).

Nessa etapa do trabalho as amostras foram obtidas por um processamento em bateladas, em que o critério para determinação do grau de torra foi a cor, como ocorre no produto, industrialmente (EMBRAPA, 2008). No entanto, o processo para obter amostras com torra clara, por exemplo, não ocorreu necessariamente, exatamente nas mesmas condições de operação. Assim, mesmo entre amostras caracterizadas como sendo de mesmo grau de torra, pode ter ocorrido alguma diferença na severidade do tratamento térmico aplicado, o que poderia implicar em diferença na degradação de carboidratos. Dessa forma, a variabilidade no teor de lipídios, poderia justificar as variações dos diterpenos em alguns dos resultados relatados nas Tabelas 5.4 e 5.5.

Tendo em vista essas considerações, optou-se por fazer inicialmente as estimativas para avaliação dos teores de café conilon utilizando-se em conjunto

os resultados para as duas espécies de café arábica e conilon e suas misturas nos diferentes graus de torra.

### 5.3 MODELOS PARA AVALIAR OS TEORES DE CAFÉ CONILON EM *BLENDS* DE CAFÉ ATRAVÉS DOS TEORES DE CAVEOL E CAFESTOL

#### 5.3.1 Avaliação e Escolha do Melhor Modelo

A partir das concentrações dos diterpenos caveol e cafestol nas amostras (Tabelas 5.4 e 5.5), foram construídos modelos matemáticos para estimar a porcentagem de café conilon (%C) adicionado ao café arábica. Optou-se pelo estudo de três modelos: utilizando apenas caveol como parâmetro de discriminação (cav); apenas cafestol (caf); e, caveol e cafestol, em conjunto (cav/caf) (Tabela 5.6).

Para comparação dos modelos, avaliou-se análise de resíduos (Anexo 3), coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e nível de significância das correlações (p).

**TABELA 5.6** – Valores de  $R^2$  ajustado, erro e modelos multilíneares para os ajustes feitos dos teores de caveol (cav), cafestol (caf), e caveol e cafestol (cav/caf).

Modelo*	$R^2$ ajustado	CV (%)**	Regressão Multilinear
<b>Cav</b>	0,91	0,02	% C = 92,7310 - 0,1208*cav
<b>Caf</b>	0,55	0,07	% C = 138,0529 - 0,3019*caf
<b>Cav/Caf</b>	0,93	0,03	% C = 96,7130 - 0,1162*cav + 0,0188*caf

\*  $p < 0,001$ ; N=60.

\*\* Coeficiente de Variação

Para uma verificação inicial da eficiência dos três modelos propostos, foram utilizadas as mesmas amostras base (A1, A2, C1 e C2), mas com misturas diferentes das empregadas inicialmente para obtenção das equações.

Foram feitas adições de 20, 30 e 50 % de café conilon ao café arábica, mas utilizando-se misturas de A1 com C2 e de A2 com C1 e quantificados os teores de cafeol e cafestol (Tabelas 5.7 e 5.8).

**TABELA 5.7** – Teor\* de cafeol (mg/100 g de amostra em base seca) em misturas de conilon em arábica (A1/C2, A2/C1) em diferentes torras (clara, média e escura).

A1 / C2	Espécie/Torra	Clara	Média	Escura
	20 %	505 ± 20	517 ± 77	490 ± 26
	30 %	470 ± 10	480 ± 1	498 ± 7
	50 %	373 ± 6	319 ± 5	334 ± 26
A2 / C1	Espécie/Torra	Clara	Média	Escura
	20 %	604 ± 27	617 ± 21	518 ± 12
	30 %	528 ± 6	586 ± 69	465 ± 18
	50 %	384 ± 2	346 ± 23	314 ± 45

\*Média ± desvio padrão dos valores analisados em duplicata.

**TABELA 5.8** – Teor\* de cafestol (mg/100 g de amostra em base seca) em misturas de conilon em arábica (A1/C2, A2/C1) em diferentes torras (clara, média e escura).

A1 / C2	Espécie/Torra	Clara	Média	Escura
	20 %	272 ± 9	349 ± 27	299 ± 5
	30 %	317 ± 5	304 ± 21	317 ± 21
	50 %	284 ± 11	157 ± 6	264 ± 39
A2 / C1	Espécie/Torra	Clara	Média	Escura
	20 %	393 ± 17	402 ± 23	346 ± 2
	30 %	385 ± 1	388 ± 7	333 ± 14
	50 %	356 ± 42	332 ± 22	334 ± 4

\*Média ± desvio padrão dos valores analisados em duplicata.

Os valores previstos médios (% de conilon) para as misturas de 20%, 30% e 50% dos cafés conilon nos arábica (Tabela 5.9) foram obtidos através das médias das três torras nas duas misturas (A1/C2 e A2/C1), gerando um total de

seis dados para cada previsão. Encontram-se, ainda, no Anexo 3 os valores previstos para cada torra e mistura, bem como os valores com limite de confiança ao nível de 95%.

**TABELA 5.9** – Modelo preditivo ajustado para mistura entre 20 e 50% de conilon ao arábicaValores previstos\*.

Modelo	Porcentagem de conilon		Desvio do modelo**
	Valor observado	Valor previsto*	
Cav	20	27,3 ± 6,6	5,16
	30	31,8 ± 5,6	1,27
	50	51,1 ± 3,4	0,78
Caf	20	34,4 ± 15,4	10,18
	30	35,2 ± 11,1	3,68
	50	51,2 ± 21,9	0,85
Cav/Caf	20	27,3 ± 4,2	5,16
	30	31,7 ± 4,2	1,20
	50	51,2 ± 6,6	0,85

\*média ± desvio padrão de 6 valores (3 torras, 2 misturas).

\*\*Desvio entre valor observado e previsto.

As piores estimativas, em todos os casos, foram na faixa de 20% de adição de conilon ao arábica, onde os valores previstos superestimaram a porcentagem de conilon adicionada na mistura. Para misturas com 30 e 50%, os modelos estimaram melhor os resultados (Tabela 5.9 e Anexo 3).

Utilizando-se apenas os dados do composto cafestol para a estimativa da variável dependente (% de conilon), obteve-se o pior ajuste ( $R^2=0,55$ ) (Tabela 5.6), provavelmente pelo fato deste composto ser encontrado em menores variações nas diferentes espécies de café utilizadas. Enquanto que, para o composto cafeol, foram encontrados valores desde não detectáveis para conilon até 866 mg/100 g café arábica, para o composto cafestol, a faixa de variação ocorreu entre 163 e 478 mg/ 100 g para as duas espécies. Verifica-se que esse modelo (caf) foi o que apresentou, no geral, maior variabilidade nas respostas e maior diferença comparando-se os valores observados e previstos (Tabela 5.9).

Para o modelo utilizando somente o diterpeno caveol (cav), foi obtido um bom ajuste ( $R^2 = 0,91$ ) (Tabela 5.6). O modelo foi ainda adequado na estimativa dos valores previstos (Tabela V.9). Interessante observar que Dias (2005), utilizando uma metodologia colorimétrica semi-quantitativa para estimativa de caveol, já havia reportado que com os valores dos dados espectrofotométricos obteve-se uma equação com bom ajuste ( $R^2 = 0,91$  e  $p \leq 0,001$ , para  $N=15$ ) para avaliar a proporção de conilon em cafés arábica com diferentes graus de torra.

O melhor modelo foi ajustado utilizando-se os teores de caveol e cafestol ( $R^2 = 0,93$ ) (Tabela 5.6). O modelo estimou adequadamente os valores previstos e apresentou a menor variabilidade nas respostas (Tabela 5.9).

Mesmo obtendo-se bom resultado ao empregarmos apenas o teor de caveol, verificamos que o melhor resultado foi conseguido no modelo multilinear com os dois compostos (cav/caf), demonstrando a importância do estudo dos parâmetros, em conjunto, para obter melhor eficiência na discriminação e prever a porcentagem de café conilon obtida em uma mistura com café arábica com maior precisão.

Como a metodologia cromatográfica empregada já estima simultaneamente os dois diterpenos, não implicando em nenhum tempo ou etapa analítica adicional para determinação do teor de cafestol, a obtenção de dados para qualquer um dos modelos empregados (Tabela 5.6) apresenta o mesmo nível de dificuldade.

Uma vez que o modelo com as duas variáveis independentes, caveol e cafestol, apresentou o melhor ajuste, avaliou-se também a eficiência desse tipo de modelo estudando-se em separado as amostras em cada grau de torra (clara, média e escura) (Tabela 5.10). Observou-se que houve ajuste adequado nos três modelos, mostrando que a escolha dos parâmetros caveol e cafestol para uma equação de previsão do teor de café conilon adicionado ao arábica independe do grau de torra das amostras estudadas.

**TABELA 5.10** – Valores de  $R^2$  ajustado, erro e modelos multilíneares utilizando como parâmetros cafeol e cafeol (cav/caf) para diferentes graus de torra (clara, média e escura).

Torra	$R^2$ ajustado*	CV (%)**	Regressão Multilinear
Clara	0,93	0,02	% C = 99,0553 – 0,1227*cav + 0,0139*caf
Média	0,95	0,02	% C = 32,2032 – 0,1636*cav + 0,2364*caf
Escura	0,96	0,02	% C = 73,8106 – 0,1638*cav + 0,1092*caf

\*  $p < 0,001$ ; N=20.

\*\* Coeficiente de Variação

Observou-se para as torras média e escura maior valor de  $R^2$  ajustado e menor erro (Tabela 5.10), indicando que a probabilidade de se prever valores precisos poderia melhorar para amostras com maior grau de torra. Essa constatação é interessante, considerando-se que no Brasil, usualmente, os cafés comerciais de mercado, onde o modelo será aplicado posteriormente, apresentam torra mais intensa (MOURA *et al.*, 2007).

Para continuar o estudo, será empregado o modelo (Tabela 5.6) que utiliza todas as torras e os dois diterpenos em conjunto. Uma vantagem é a maior abrangência pelo maior número de dados utilizados, trabalhando-se com diferentes tipos de café dentro de uma mesma espécie. Deve-se considerar ainda a dificuldade de definir um parâmetro adequado para caracterização do grau de torra das amostras, o que seria necessário para aplicação de modelos distintos. Assim, como se pretende aplicar posteriormente a metodologia em amostras comerciais, de diferentes origens geográficas e graus de torra, é mais seguro trabalhar com um modelo geral e abrangente.

### 5.3.2 Verificação e Adaptação do Modelo com Amostras Externas

Após obtenção e escolha do melhor modelo para discriminação das espécies de café, verificou-se a eficiência deste modelo através da quantificação dos

diterpenos em amostras externas (A3, C3 e misturas de 20 e 40 % de C3 ao A3) (Tabela 5.11).

Para isso, a partir do modelo gerado anteriormente e dos dados dos diterpenos obtidos para amostras externas (que não fazem parte do modelo), foi estimada a porcentagem de café conilon misturada ao arábica (valor previsto), além de seus limites de confiança ao nível de 95% (Tabela 5.12). Verificou-se que o modelo não conseguiu estimar, adequadamente, a porcentagem de conilon adicionada ao café arábica, prevendo inclusive valor negativo.

**TABELA 5.11** – Teores\* de caveol e de cafestol (mg/100 g de amostra em base seca) em amostras puras (A3 e C3), misturas de 20 e 40% de conilon em arábica (A3/C3) em diferentes torras (clara, média e escura).

	<b>Espécie/Torra</b>	<b>Clara</b>	<b>Média</b>	<b>Escura</b>
	<b>Caveol</b>	<b>A3</b>	787 ± 9	850 ± 43
<b>Mistura 20% (A3/C3)</b>		681 ± 1	682 ± 34	761 ± 1
<b>Mistura 40% (A3/C3)</b>		564 ± 22	630 ± 6	584 ± 50
<b>C3</b>		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
<b>Espécie/Torra</b>		<b>Clara</b>	<b>Média</b>	<b>Escura</b>
<b>Cafestol</b>	<b>A3</b>	282 ± 6	280 ± 11	275 ± 11
	<b>Mistura 20% (A3/C3)</b>	277 ± 10	267 ± 2	270 ± 1
	<b>Mistura 40% (A3/C3)</b>	258 ± 10	255 ± 1	249 ± 15
	<b>C3</b>	225 ± 4	221 ± 10	211 ± 8

\*Média ± desvio padrão dos valores analisados em duplicata.

**TABELA 5.12** – Valores previstos para o modelo multilinear nas amostras de café arábica, conilon e misturas de café conilon ao arábica (20% e 40%), para as torras clara, média e escura.

Amostras	Torra	Valor observado	Valor previsto	L.C.*(± 95%)	Desvio do modelo**
<b>A3</b>	Clara	0	0	0 / 0	0,0
	Média	0	-7	-8 / -7	5,2
	Escura	0	-17	-18 / -16	11,9
<b>Mistura 20% (A3/C3)</b>	Clara	20	12	12 / 13	5,4
	Média	20	12	12 / 13	5,3
	Escura	20	3	3 / 3	11,9
<b>Mistura 40% (A3/C3)</b>	Clara	40	26	25 / 28	9,7
	Média	40	19	18 / 20	15,1
	Escura	40	24	23 / 25	11,2
<b>C3</b>	Clara	100	92	88 / 97	5,3
	Média	100	93	88 / 97	5,3
	Escura	100	93	88 / 97	5,1

\*Limite de confiança de  $\pm 95\%$ .

\*\*Desvio entre valor observado e previsto.

No desenvolvimento do modelo empregou-se *blends* comerciais das duas espécies, com diferentes níveis de qualidade e origens geográficas em três graus de torra, com o objetivo de apresentar grande heterogeneidade entre as amostras. No entanto, esse cuidado não bastou para gerar um modelo suficientemente abrangente. Nessa etapa de verificação, trabalhou-se com amostras que apresentaram valores de diterpenos em cada espécie fora das faixas de concentração do modelo original (Tabelas 5.4 e 5.5). Para café arábica, os valores de cafestol quantificados (275 a 282 mg/100 g de amostra) foram inferiores ao menor valor reportado na primeira fase do experimento (360 mg/100 g) (Tabela 5.11).

Além disso, para a amostra externa pura (A3), torra escura, o valor extrapolou o limite extremo superior do modelo. O teor máximo de cafeol no café arábica atingiu valor de 933 mg/100 g de café, acima do teor máximo encontrado (866 mg/100 g) na primeira etapa do trabalho (Tabela 5.4).

Para não extrapolar os limites do modelo definido anteriormente, optou-se por incorporar ao modelo, as amostras da segunda etapa, previamente definidas para serem usadas na verificação do modelo, com o intuito de obter uma equação multilinear com maior amplitude.

As amostras A3, C3 e misturas de 20 e 40% de C3 ao A3, para as torras clara, média e escura (12 amostras em duplicata) foram adicionadas ao melhor modelo (cav/caf, Tabela 5.6) e com isso, obteve-se um modelo mais abrangente, mas com menores valores de coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,90$ ) (Tabela 5.13, Anexo 3). A redução dos valores do  $R^2$  ajustado pode ser também atribuída ao aumento no número de amostras (de 60 para 84).

**TABELA 5.13** – Valores de  $R^2$  ajustado, erro e novo modelo empregando amostras de arábica (A1, A2 e A3), conilon (C1, C2 e C3) e misturas.

Modelo novo*	$R^2$ ajustado	CV (%)**	Regressão Multilinear
<b>Cav/Caf</b>	0,92	0,03	% C = 91,5348 – 0,0930*cav - 0,0233*caf

\*  $p < 0,001$ ; N=84.

\*\* Coeficiente de Variação

Para verificação deste novo modelo, utilizaram-se duas novas amostras de café arábica pura (A4 e A5), da mesma variedade estudada anteriormente (A3), mas com diferentes níveis de defeitos (item 4.1).

Na Tabela V.14 pode-se confirmar que essas amostras apresentaram teor de diterpenos similares aos das amostras estudadas anteriormente: média de  $859 \pm 53$  mg de caveol e  $453 \pm 31$  mg de cafestol, em 100g de amostra de café arábica (A4 e A5) para as três torras. Todos os valores obtidos estão dentro da faixa utilizada para construção da equação (Tabela 5.13) e o modelo forneceu valores previstos numa faixa adequada (Tabela 5.14, Anexo 3).

**TABELA 5.14** – Valores previstos\* para o modelo multilinear nas amostras de café arábica (A4 e A5) para as torras clara, média e escura.

Amostra	Torra	Caveol	Cafestol	Valor observado	Valor previsto	LC $\pm$ 95%**	Desvio do modelo***
A4	Clara	817 $\pm$ 5	453 $\pm$ 15	0	5	5/5	3,5
	Média	855 $\pm$ 8	473 $\pm$ 17	0	1	1/1	0,7
	Escura	780 $\pm$ 56	472 $\pm$ 8	0	8	8/8	5,7
A5	Clara	878 $\pm$ 33	427 $\pm$ 20	0	0	0/0	1,4
	Média	923 $\pm$ 12	459 $\pm$ 3	0	-5	-5/-5	1,4
	Escura	901 $\pm$ 21	432 $\pm$ 19	0	-2	-2/-2	1,4

\*Teor em mg/100g, média de duplicata  $\pm$  desvio padrão.

\*\*Limite de confiança de  $\pm$  95%.

\*\*\*Desvio entre valor observado e previsto.

Comparando-se os resultados das Tabelas 5.12 e 5.14 para as amostras de café arábica puro, observa-se diferença entre os valores previstos e os observados, especialmente, se compararmos os valores de desvio (de 0,0 a 15,1% para 0,7 a 5,7%), justificando o uso do novo modelo (Tabela 5.13), mesmo apresentando menor coeficiente de determinação. Os resultados mostram que a introdução das amostras A3, C3 e misturas, contribuiu para aumentar o poder discriminatório do modelo.

Uma vez que os parâmetros caveol e cafestol mostraram-se promissores como discriminadores das espécies, destaca-se a importância de continuar o estudo da caracterização da composição diterpênica do café. Um banco de dados mais amplo, cobrindo um maior número de variedades nacionais dos cafés arábica e conilon, permitiria a criação de um modelo mais abrangente e com maior capacidade preditiva.

### 5.3.3 Influência dos Defeitos na Capacidade Preditiva do Modelo

Um outro ponto de interesse no trabalho é estimar se a quantidade de defeitos pode interferir no modelo construído, uma vez que é limitada a informação a respeito da composição química nos grãos de café defeituosos.

A legislação nacional admite a presença de defeitos no café, uma vez que delibera sobre limites para quantidade e tipos de defeitos permitidos (SECRETARIA DA FAZENDA, 2008). A ABIC (2008) recomenda que os cafés sejam constituídos por grãos de café tipo 8 ou melhores, com um máximo de 20% em peso de grãos PVA. Considerando-se que os cafés comercializados no mercado vão apresentar certo grau de defeitos e que essa porcentagem pode ser bastante variada, é importante verificar se a presença de defeitos afeta significativamente o teor dos diterpenos além de avaliar se isso reflete numa alteração na capacidade preditiva do modelo proposto.

Indiretamente, ao longo do trabalho, a presença de defeitos já vinha sendo considerada no desenvolvimento e validação do modelo. Os cafés arábica (A1 e A2) e conilon (C1 e C2) utilizados para construção do modelo original, apresentavam, além de diferentes procedências e variedades, diversidade com relação à presença de defeitos. Os cafés A3 e C3, incluídos posteriormente na equação, apresentavam classificação conhecida com relação ao número de defeitos (tipo 4), bem como as amostras A4 (tipo 8) e A5 (sem defeitos) usadas para avaliar o modelo. Assim, ao longo do trabalho, o modelo foi desenvolvido e validado com produtos que apresentavam diferenciação com relação aos defeitos, de maneira a se aproximar do que poderia ser depois, encontrado em cafés comerciais de mercado.

Para avaliar mais detalhadamente a influência dos defeitos, empregou-se uma amostra de café arábica sem defeitos (A5) e uma amostra composta apenas por defeitos de arábica (A6) (item 4.1). Foram adicionadas à amostra A5, diferentes porcentagens de defeitos (10, 20 e 30%), e, em seguida, quantificados os diterpenos caveol e cafestol (Tabela 5.15). Essas amostras também foram caracterizadas quanto ao teor de diterpenos após mistura com 40% de café conilon (C3) (Tabela 5.16). Para minimizar a interferência de outros efeitos, nessa etapa do trabalho empregaram-se apenas amostras com grau de torra média.

**TABELA 5.15** – Teores\* de caveol e de cafestol (mg/100 g de amostra em base seca) em café arábica (A5) com 0, 10, 20, 30 e 100 % de defeitos (A6).

Amostra**		% A6***	Caveol	Cafestol
A5		0	923 <sup>a</sup> ± 12	459 <sup>a</sup> ± 3
Mistura A5/A6	A51	10	895 <sup>a</sup> ± 3	449 <sup>a</sup> ± 7
	A52	20	913 <sup>a</sup> ± 24	462 <sup>a</sup> ± 10
	A53	30	863 <sup>a</sup> ± 17	430 <sup>a</sup> ± 6
A6		100	932 <sup>a</sup> ± 55	434 <sup>a</sup> ± 15

\*Média ± desvio padrão dos valores analisados em duplicata.

\*\*Letras distintas, em uma mesma coluna, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

\*\*\*Amostra A6 (defeitos) de café arábica.

**TABELA 5.16** – Teores\* de caveol e de cafestol (mg/100 g de amostra em base seca) em café arábica (A5 com 10, 20 e 30 % de defeitos) com mistura de 40% de café conilon (C3).

Amostra**		% A6***	Caveol	Cafestol
A5/A6 com 40% C3	A51	10	525 <sup>a</sup> ± 35	394 <sup>a</sup> ± 13
	A52	20	543 <sup>a</sup> ± 1	402 <sup>a</sup> ± 10
	A53	30	529 <sup>a</sup> ± 23	408 <sup>a</sup> ± 3

\*Média ± desvio padrão dos valores analisados em duplicata.

\*\*Letras distintas, em uma mesma coluna, indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

\*\*\*Amostra A6 (defeitos) de café arábica.

Com os resultados obtidos na ANOVA (Tabelas 5.15 e 5.16), verificou-se que não houve diferença significativa entre as amostras com diferentes quantidades de defeitos (com e sem a mistura de 40% de café conilon), ou seja, diferentes quantidades de defeitos nas amostra de café não influenciaram o teor dos diterpenos analisados.

Considerando que, podemos verificar no mercado, a comercialização de cafés desde tipo 2 até tipo 8, devido as diferentes proporções de defeitos, a opção de construir um modelo genérico com amostras diversificadas quanto ao teor destes foi interessante. Com isso, o modelo gerado tem grande possibilidade de ser adequado para avaliação de amostras diferenciadas no teor de defeitos.

Para confirmarmos essa hipótese, a tabela 5.17 mostra os valores previstos e observados para cada amostra com as diferentes proporções de defeitos, bem como os limites de confiança (ao nível de 95%) e os desvios do modelo para as amostras.

**TABELA 5.17** – Valores previstos\* para o modelo multilinear nas amostras de café arábica (10, 20 e 30% de defeitos), conilon e misturas de 40% de café conilon ao arábica, para as torras clara, média e escura.

Amostra	% (A6) defeitos	Valor observado	Valor previsto	L.C.± 95%**	Desvio do modelo***
A5	0	0	-5	-5/-5	3,5
Mistura A5/A6	A51	10	0	-2/-2	1,4
	A52	20	0	-4/-4	2,8
	A53	30	0	1/1	0,7
A6	100	0	-5	-6/-5	3,5
A5/A6 com 40% C3	A51	10	40	32/35	4,2
	A52	20	40	30/33	5,7
	A53	30	40	32/34	4,9

\*Média ± desvio padrão dos valores analisados em duplicata.

\*\*Limite de confiança de ± 95%.

\*\*\*Desvio entre valor observado e previsto.

Verificou-se que a maioria dos valores previstos para as amostras (com ou sem adição de café conilon) foram subestimados. No entanto, esses desvios foram independentes da porcentagem de defeitos das amostras, podendo ser atribuídos a variações experimentais ou a necessidade de um modelo melhor ajustado. Dessa forma, observou-se que o teor de diterpenos parece ser um parâmetro para discriminação independentemente do grau de defeitos da amostra.

Os resultados obtidos na discriminação das misturas, bem como a constatação que a presença de grãos defeituosos não afeta as concentrações de diterpenos no produto e a informação de que esses compostos apresentam estabilidade ao processo de torra, demonstram que cafeol e cafestol têm um potencial como discriminadores das espécies. Assim, o modelo proposto, baseado na concentração de diterpenos, apesar de não apresentar ainda uma capacidade preditiva adequada, destaca-se por ser robusto podendo-se prever sua aplicação a produtos com diferentes graus de torra e de defeitos.

## 6 CONCLUSÃO

A quantificação dos diterpenos das amostras (puras e misturas de café conilon ao arábica de diferentes torras, origens e quantidades de defeitos) permitiu a construção de modelos matemáticos para estimativa dos teores de conilon.

Os diterpenos caveol e cafestol apresentam potencial para serem utilizados como compostos discriminadores das espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* em *blends* comerciais de café. O caveol apresentou um poder discriminatório maior do que o cafestol, já que este diterpeno possui uma faixa mais ampla de variação entre as espécies. No entanto, quando os diterpenos foram avaliados em conjunto, a eficiência do modelo foi aprimorada, estimando-se melhor o teor de conilon adicionado. Pelo fato da metodologia cromatográfica utilizada quantificar simultaneamente os dois diterpenos, é interessante trabalhar com os dois compostos aumentando a eficiência da previsão.

Estudando-se as torras separadamente, pôde-se verificar que os modelos mais eficientes foram obtidos para as torras média e escura, indicando que a discriminação poderá eventualmente ser mais eficiente do que o descrito, já que no Brasil, as torras usuais de café estão entre os parâmetros de torra média e escura.

Uma vez que se observou a relativa estabilidade ao processo de torra que os diterpenos apresentam, e que a presença de grãos defeituosos não afeta as concentrações de caveol e cafestol, pode-se afirmar que um modelo baseado nos diterpenos possui certa robustez podendo ser aplicado a amostras com diferentes graus de torra e de defeitos.

Na validação e estudo da capacidade preditiva do modelo, observou-se que, devido a grande variabilidade das concentrações diterpênicas nos cafés de diferentes origens geográficas e variedades, a inclusão de mais amostras foi necessária para um melhor ajuste. Dessa forma destaca-se a importância de continuar o estudo da caracterização da composição diterpênica do café, uma vez que, com banco de dados amplo, cobrindo um maior número de variedades nacionais dos cafés arábica e conilon, permitiria a criação de um modelo mais abrangente e com maior capacidade preditiva.

## REFERÊNCIAS

ABIC. Disponível em <<http://www.abic.com.br>>. Acesso 21 jan. 2008.

AGRESTI, P. D. C. M.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; AUGUSTI, R. Discrimination between defective and non-defective Brazilian coffee beans by their volatile profile. **Food Chemistry**, Oxford, Article in Press, 2007.

AGUIAR, A. T. E.; SALVA, T. J. G.; FAZUOLI, L. C.; FAVARIN, J. L. Variação no teor de lipídios em grãos de variedades de *Coffea canephora*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.40, n.12, p. 1251-1254, 2005.

ALVES, S. T.; SCHOLZ, M. B. S.; BENASSI, M. T. Desenvolvimento de metodologia espectrofotométrica para diferenciação de café torrado, *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. In: VIII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2003, Curitiba. **Anais...** Curitiba, 2003. p.343-348.

ALVES, S. T. **Desenvolvimento de metodologia analítica para diferenciação de café torrado arábica (*Coffea arabica*) e conilon (*Coffea canephora*) e misturas**. 2004. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

ANDRADE, P. B.; LEITAO, R.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. 3,4-Dimethoxycinnamic acid levels as a tool for differentiation of *Coffea canephora* var. *robusta* and *Coffea arabica*. **Food Chemistry**, Oxford, v. 61, n. 4, p. 511-514, 1998.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://www.e-legis.anvisa.gov.br>. Acesso 21 jan. 2008.

BASILICO. Disponível em <[http://basilico.uol.com.br/beber/especial\\_cafe\\_00.html](http://basilico.uol.com.br/beber/especial_cafe_00.html)>. Acesso 21 jan. 2008.

BERBERICH, J.; DEE, K. -H.; HAYAUCHI, Y.; PÖRTNER, C. A new method to determine discoloration kinetics of uncoated white tablets occurring during stability testing – an application of instrumental color measurement in the development pharmaceuticals. **International Journal of Pharmaceutics**, [S.l.], v.234, p.55-66, 2002.

BICCHI, C. P.; BINELLO, A. E.; PELLEGRINO, G. M.; VANNI, A. C. Characterization of green and roasted coffees through the chlorogenic acid fraction by HPLC-UV and principal component analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 43, n. 6, p. 1549-1555, 1995.

BOEKSCHOTEN, M. V.; ENGBERINK, M. F.; KATAN, M. B.; SCHOUTEN, E. G. Reproducibility of the serum lipid response to coffee oil in healthy volunteers. **Nutrition Journal**, [S.I.], v.2, p. 1-8, 2003.

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

BRASIL, Secretaria da Fazenda. Disponível em: [http://www.fazenda.mg.gov.br/empresas/conselho\\_contribuintes/acordaos/2001/3/14973013.htm](http://www.fazenda.mg.gov.br/empresas/conselho_contribuintes/acordaos/2001/3/14973013.htm). Acesso em: 21 jan. 2008.

BRIANDET, R.; KEMSLEY, E. K.; WILSON, R. H. Discrimination of Arábica and Robusta in instant coffee by Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.44, n.1, p. 170-174, 1996.

BYK GARDNER. Disponível em: [www.byk.com/instruments](http://www.byk.com/instruments). Acesso em: 28 fev. 2008.

CAMPA, C.; BALLESTER, J. F.; DOULBEAU, S.; DUSSERT, S.; HAMON, S.; NAIROT, M. Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. **Food Chemistry**, Oxford, v.88, n.2, p.39-43, 2004.

CARVALHO, L. M.; SILVA, E. A. M.; AZEVEDO, A., A.; MOSQUIM, P. R.; CECON, P. R. Aspectos morfofisiológicos das cultivares de cafeeiro Catuaí-Vermelho e Conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n. 3, p.411-416, 2001.

CASAL, S.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; ALVES, M. R.; FERREIRA, M. A. Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid, and caffeine content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 48, n. 8, p. 3420-3424, 2000.

CASTILLO, M. L. R.; HERRAIZ, M.; BLANCH, G. P. Rapid analysis of Colesterol-elevating compounds in coffee brews by off-line High-Performance Liquid Chromatography / High Resolution Gas Chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 47, n. 4, p. 1525-1529, 1999.

CAVIN, C.; HOLZHÄUSER, D.; CONSTABLE, A.; HUGGETT, A. C. ; SCHILTER, B. The coffee-specific diterpenes cafestol and kahweol protect against aflatoxin B1-induced genotoxicity through a dual mechanism. **Carcinogenesis**, v.19, n.8, p.1369-1375, 1998.

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**, n. 40, p.1155-1163, 2002.

CEPLAC. Disponível em <<http://www.ceplac.gov.br/radar/cafe.htm>>. Acesso 21 jan. 2008.

CLARKE, R. J.; VITZTHUM, O. G. **Coffee: Recent Developments**, 1<sup>a</sup> ed. EUA, 256p., 2001.

CONAB. Disponível em <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso 21 jan. 2008.

DELGADO-ANDRADE, C.; MORALES, F. J. Unraveling the contribution of melanoidins to the antioxidant activity of coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 53, p.1403-1407, 2005.

DELIZA, R; MARQUES, R. L.; SANTOS, J. G.; FARAH, A. A influência dos defeitos dos grãos de café na preferência da bebida. In: 5<sup>o</sup> SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2007, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, 2007.

DIAS, R. C. E. **Discriminação de espécies de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) em diferentes graus de torra**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

DIAS, R. C. E.; SCHOLZ, M. B. S.; YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T. Determinação da importância de parâmetros físico-químicos para discriminação de café arábica e conilon por regressão multilinear. In: VI SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2005, Campinas. **Anais...** Campinas, 2005.

DIAS, R. C. E.; SCHOLZ, M. B. S.; BENASSI, M. T. Metodologia para análise de diterpenos em café torrado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2006, Curitiba. **Anais...** Curitiba, 2006.

DIAS, R. C. E.; CAMPANHA, F. G.; POT, D.; FERREIRA, L. P.; BENASSI, M. T. Validação de metodologia cromatográfica para determinação de cafeol e cafestol em café torrado e tecidos de *Coffea*. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2007, Campinas. **Anais...** Campinas, 2007.

DOWNEY, G.; BOUSSION, J. Authentication of coffee bean variety by near-infrared reflectance spectroscopy of dried extract. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New Jersey, v. 71, n. 1, p. 41-49, 1996.

DUARTE, S. M. S.; ABREU, C. M. P.; MENEZES, H. C.; SANTOS, M. H.; GOUVÊA, C. M. C. P. Effect of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee brews. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 387-393, 2005.

EMBRAPA. Disponível em <[http://www.cnpdia.embrapa.br/publicacoes/CT58\\_2004.pdf](http://www.cnpdia.embrapa.br/publicacoes/CT58_2004.pdf)>. Acesso em 21 de jan. de 2008.

ESTEBAN-DÍEZ, I.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M.; SÁENZ-GONZÁLEZ; PIZARRO, C. Coffee varietal differentiation based on near infrared spectroscopy. **Talanta**, [S.l.], n. 71, p. 221-229, 2007.

FARAH, A.; DE PAULIS, T.; MOREIRA, D. P.; MARTIN, P. R.; TRUGO, L. C. Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffees. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 54, n. 2, p.374-381, 2006a.

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, n. 98, p.373-380, 2006b.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 23-26, 2006.

FERNANDES, S. M.; PEREIRA, R. G. F. A.; PINTO, N. A. V. D.; NERY, M. C.; PÁDUA, F. R. M. Constituintes químicos e teor de extrato aquoso de cafés arábica (*Coffea arábica* L.) e conilon (*Coffea canephora* Pierre) torrados. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p.1076-1081, 2003.

FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F. S. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.I.], v. 57, p.251-260, 2003.

FRANÇA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; BORGES, M. L.; VITORINO, M. D. Evolução da composição do extrato aquoso de café durante o processo de torrefação. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. Especial Café, n. 2, p. 37-47, 2001.

FRANÇA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; MENDONÇA, J. C. F.; SILVA, X. A. Physical and chemical attributes of detective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, Oxford, n. 90, p. 89-94, 2005a.

FRANÇA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; OLIVEIRA, S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **LWT**, [S.I.], v. 7, n. 38, p. 709-715, 2005b.

FREGA, N.; BOCCI, F.; LERCKER, G. High Resolution Gas Chromatographic method of Robusta coffee in commercial *blends*. **Journal of High Resolution Chromatography**, New York, n. 17, p. 303-307, 1994.

GONZÁLEZ, A. G.; PABLOS, F.; MARTÍN, M. J.; LEÓN-CAMACHO, M.; VALDENEbro, M. S. HPLC analysis of tocopherols and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters. **Food Chemistry**, Oxford, v.73, n.1, p.93-101, 2001.

GROSS, G.; JACCAUD, E.; HUGGETT, A. C. Analysis of the content of the diterpenes Cafestol and Kahweol in coffee brews. **Food and Chemical Toxicology**, [S.I.], v. 35., p. 547-554. 1997.

GRUPO CULTIVAR. Disponível em: <<http://www.grupocultivar.com.br>>. Acesso em: 21 jan. 2007.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Coffee and Health: A review of recent human research. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S.I.], v. 46, p. 101-123, 2006.

KEMSLEY, E. K.; RUAULT S.; WILSON R.H. Discrimination between *Coffea arabica* and *Coffea canephora* variant *robusta* beans using infrared spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, n. 54, p.321-326, 1995.

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- $\alpha$ -induced expression of cell adhesion molecules in human endothelial cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S.l.], n. 217, p. 332-341, 2006.

KÖLLING-SPEER, I.; STROHSCHNEIDER, S.; SPEER, K. Determination of free diterpenes in green and roasted coffees. **Journal of High Resolution Chromatography**, New York, v. 22, n. 1, p. 43-46, 1999.

KURZROCK, T.; SPEER, K. Diterpenes and Diterpene Esters in Coffee. **Food Reviews International**, New York, v. 17, n. 4, p. 433-450, 2001a.

KURZROCK, T.; SPEER, K. Identification of kahweol fatty acid esters in Arabica coffee by means of LC / MS. **Journal of Separation Science**, Weinheim, v. 24, p. 843-848, 2001b.

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. **Boletim do CEPA**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 319-340, 2001.

LANG, L. Coffee associated with reduced cirrhosis risk. **Gastroenterology**, Orlando, v. 131, n. 3, p. 694-696, 2006.

LARSSON, S. C.; WOLK, A. Coffee consumption and risk of liver cancer: a meta-analysis. **Gastroenterology**, Orlando, n. 132, p. 1740-1745, 2007.

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

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**, article in press, 2007.

LERCKER, G.; FREGA, N.; BOCCI, F.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T. High Resolution Gas Chromatographic determination of diterpenic alcohols and sterols in coffee lipids. **Chromatographia**, Wiesbaden, v. 41, n. 1/2, p. 29-33, 1995.

LERCKER, G.; CABONI, M. F.; BERTACCO, G.; TURCHETTO, E.; LUCCI, A.; BORTOLOMEAZZI, R.; PAGANI, E.; FREGA, N.; BOCCI, F. La frazione lipidica Del caffè. 1: Influenza della torrefazione e della decaffeinizzazione. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v. 35, n. 10, p.1057-1065, 1996a.

LERCKER, G.; CABONI, M. F.; BERTACCO, G.; TURCHETTO, E.; LUCCI, A.; BORTOLOMEAZZI, R.; PAGANI, E.; FREGA, N.; BOCCI, F. La frazione lipidica Del caffè. 2: Su alcuni parametri di qualificazione. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v. 35, n. 11, p.1186-1193, 1996b.

LOPES, L. M. V. **Avaliação da qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MAEZTU, L.; ANDREZA, S.; IBANÊZ, C.; PEÑA, M. P.; BELLO, J.; CID, C. Multivariate methods for characterization and classification of espresso coffees from different botanical varieties and types of roast by foam, taste, and mouthfeel. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.49, n. 10, p. 4743-4747. 2001.

MARTÍN, M. J; GONZÁLEZ, A. G.; PABLOS, F. Discrimination between arabica and robusta green coffee varieties according to their chemical composition. **Talanta**, London, v.46, n.6, p. 1259-1264, 1998.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of detective coffee beans. **Food Chemistry**, Oxford, n. 64, p. 547-554, 1999.

MCCARTY, M. F. Nutraceutical resources for diabetes prevention – an update. **Medical Hypotheses**, San Diego, v.64, p.151-158, 2005.

MENDES, L. C. **Otimização do Processo de Torrefação do Café Robusta (*Coffea canephora* Conillon) para Formulação de *Blends* com Café Arábica (*Coffea arabica*)**. 1999. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MENDES, L.C.; MENEZES, H.C.; DA SILVA, M.A. Optimization of the roasting of robusta coffee (*C. canephora conilon*) using acceptability tests and RSM. **Food Quality and Preference**, New York, v. 12, n. 2, p. 153-162, 2001.

MINAMISAWA, M.; YOSHIDA, S.; TAKAI, N. Determination of biologically active substances in roasted coffees using a diode-array HPLC system. **The Japan Society for Analytical Chemistry**, Tokyo, v. 20, n.2 , p. 325-328, 2004.

MONTEIRO, M. A. A; MININ, V. P. R.; CHAVES, J. B. P.; STRINGHETA, P.C.; SILVA, P. H. A. Efeito do tipo de torra sobre o teor de compostos fenólicos e a cor dos grãos de café. **Revista Brasileira de Armazenamento**. Viçosa, n. 5, p. 55-59, 2002.

MORAES, R. C. P.; TRUGO, L. C. Efeito da torrefação e da granulometria na composição química do café. In: II SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2001, Vitória, **Anais...** Vitória, p.1511-1517, 2001.

MOREIRA, R. F. A.; DE MARCIA, C. A. B.; TRUGO, L. C. Componentes voláteis do café torrado. Parte I: Compostos heterocíclicos. **Química Nova**, São Paulo, v.22, n.2, p.255-263, 1999.

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

MOURA, S. C. S. R.; GERMER, S. P. M.; ANJOS, V. D. A.; MORI, E. E. M.; MATTOSO, L. H. C.; FIRMINO, A.; NASCIMENTO, C. J. F. Influência dos parâmetros de torração nas características físicas, químicas e sensoriais do café arábica puro. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 10, n. 1, p. 17-25, 2007.

NACKUNSTZ, B.; MAIER, H. G. Diterpenoide im kaffee. III. Cafestol und kahweol. **Zetschrift für Lebensmitteluntershchung und Forschung**, Berlim, v. 184, n. 6, p. 494-499, 1987.

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**, [S.l.], n. 39, p. 235-239, 2006.

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

PETTITT, Jr. B. C. Identification of the Diterpene Esters in Arabica and Canephora Coffees. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 35, n. 4, p. 549-551, 1987.

PIZARRO, C.; ESTEBAN-DÍEZ, I.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M. Mixture resolution according to the percentage of robusta variety in order to detect adulteration in roasted coffee by near infrared spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, [S.I.], n. 585, p. 266-276, 2007.

POSTE, S. M.; ROOS, B.; VERMEULEN, M.; AFMAN, L.; JONG, M. C. ; DAHLMANS, V. E. H. ; HAVEKES, L. M. STELLAARD, F.; KATAN, M. B.; PRINCEN, H. M. G. Cafestol increases serum cholesterol levels in apolipoprotein E\*3-Leiden transgenic mice by suppression of bile acid synthesis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, Baltimore, n.20, p.1551-1556, 2000.

PRINCE, C. E.; RENFROE, M. H.; BREVARD, P. B.; LEE, R. E.; WAGER, L. R. Antioxidan content of mild, medium, and dark home roasted coffee beans compared with commercial brand coffees. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 106, n. 8, p. A43, 2006.

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

RANK BRASIL. Disponível em <<http://www.rankbrasil.com.br/maismais/agricultura/default.asp>>. Acesso 21 jan. 2008.

REDGWELL, R. J.; TROVATO, V.; CURTI, D.; FISCHER, M. Effect of roasting on degradation and structural features of polyssaccharides in *Arabica coffee* beans. **Carbohydrate Research**, London, n. 337, p. 421-431, 2002.

ROOS, B., WEG, G. V. D.; URGERT, R.; BOVENKAMP, A. C.; KATAN, M. B. Levels of cafestol, kahwel, and related diterpenoids in wild species of the coffee plant *coffea*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 45, p. 3065-3069, 1997.

RUBAYIZA, A. B.; MEURENS, M. Chemical discrimination of arabica and robusta coffees by Fourier Transform Raman Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, n. 53, p. 4654-4659, 2005.

SALDANHA, T.; SAWAYA, A. C. H. F.; EBERLIN, M. N.; BRAGAGNOLO, N. HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: comparative study of RI, UV, and APCI-MS detectors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, n. 54, p. 4107-4113, 2006.

SILVA, C. G. **Qualidade da bebida do café (*Coffea arabica* L.) avaliada por análise sensorial e espectrofotometria**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 44p, 1997.

SISVAR. **Sistema de análise de variância de dados balanceados - Versão 4.6** Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/danielff>>. Acesso em: 21 julho 2007.

SOFI, F.; CONTI, A. A.; GORI, A. M.; LUISI, M. L. E.; CASINI, A.; ABBATE, R.; GENSINI, G. F. Coffee consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, Napoli, n. 17, p. 209-223, 2007.

SOUZA, V. F.; MODESTA, R. C. D.; GONÇALVES, E. B.; FERREIRA, J. C. S.; MATOS, P. B. Influência dos fatores demográficos e geográfico na preferência da bebida de café no estado do Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2004.

SPANIOLAS, S. MAY, S.T.; BENNETT M. J.; TUKER, G. A. Authentication of coffee by means of PC-RFLP analysis and lab-on-a-chip capilar electrophoresis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, n. 54, p. 7466-7470, 2006.

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

STATSOFT. **STATISTICA for Windows – Computer program manual**. Versão 7.1 Tulsa: Statsoft Inc. 2006.

TANIWAKI, M. H.; TEIXEIRA, A. A.; TEIXEIRA, A. R. R.; FERRAZ, M. B. M.; VITALI, A. A.; IAMANAKA, B. T.; COPETTI, M. V.; PATERNO, L. Ocratoxina A em defeitos de cafés, cinética de destruição da toxina e avaliação das bebidas pelo uso da língua eletrônica. In: 5º SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2007, ÁGUAS DE LINDÓIA. **Anais...** Águas de Lindóia, 2007.

TOCI, A. T.; FARAH, A.; DELIZA, R. Investigação da composição volátil dos defeitos intrínsecos do café em relação aos grãos de boa qualidade. In: 5º SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2007, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, 2007.

TRUGO, L. C. Café: Composição Química e Potencial Nutracêutico. In: MERCADANTE, A. Z.; BOBBIO, F. O. BOOBIO, P. A.; PEREIRA, J. L.; PASTORE, G. M.. In: **Ciência de Alimentos: Avanços e Perspectivas**, Campinas, n. 2, p. 206-208, 2001.

URAICAFÉ. **Uraicafé importação e exportação de café Ltda.** Disponível em: <<http://www.uraicafe.com.br>>. Acesso em: 21 jan. 2008.

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. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 43, n. 8, p. 2167-2172, 1995.

URGERT, R.; M. B. KATAN. The cholesterol-raising factor from coffee beans. **Annual Reviews Nutrition**, [S.l.], n. 17, p. 305-324, 1997.

VASCONCELOS, A. L. S.; FRANCA, A. S.; GLÓRIA, M. B. A.; MENDONÇA, J. C. F. A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, Oxford, n. 101, p. 26-32, 2007.

## **ANEXOS**

## **ANEXO 1**

**Esquema empregado para análise de variância para parcela subdividida de caveol em amostra com maior número de defeitos**

**ANEXO 1** – Esquema empregado para análise de variância para parcela subdividida de caveol em amostra com maior número de defeitos.

<b>Causa de variação</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Soma de quadrados</b>	<b>Quadrado médio</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Repetição	1	1748,03	1748,03	3,39	0,1393
Espécie (parcela)	4	2033039,13	508259,78	986,37	0,0000
Resíduo 1	4	2061,13	515,28		
Torra (sub-parcela)	2	146984,07	73942,03	115,13	0,0000
Interação espécie x torra	8	85779,27	10722,41	16,80	0,0001
Resíduo 2	10	6383,33	638,33		
Total	29	2275994,97			
CV 1 (%) (parcelas) = 4,92					
CV 2 (%) (sub-parcelas) = 5,47					
Média geral = 461,63			Número de observações = 30		

## **ANEXO 2**

### **Caracterização de umidade e cor das misturas**

**ANEXO 2 – Caracterização de umidade e cor das misturas.**

**TABELA 1 – Umidade\* (g/100 g) das misturas de cafés arábica (A1, A2, A3, A4, A5, A6) e conilon (C1, C2 e C3) submetidos a diferentes torras.**

<b>Mistura</b>	<b>A1 / C1</b>			<b>A2/C2</b>		
<b>Espécie / Torra</b>	Clara	Média	Escura	Clara	Média	Escura
20%	3,4 ± 0,0	1,8 ± 0,1	2,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,8 ± 0,1
30%	3,4 ± 0,0	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1
50%	3,6 ± 0,0	2,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,1

<b>Mistura</b>	<b>A1 / C2</b>			<b>A2 / C1</b>		
<b>Espécie / Torra</b>	Clara	Média	Escura	Clara	Média	Escura
20%	2,9 ± 0,0	1,5 ± 0,1	2,1 ± 0,0	2,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,1
30%	2,7 ± 0,0	1,5 ± 0,1	2,0 ± 0,0	2,6 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1
50%	2,4 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,8 ± 0,0	3,0 ± 0,1	2,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1

<b>Mistura A3/C3</b>	<b>20%</b>			<b>40%</b>		
<b>Torra</b>	Clara	Média	Escura	Clara	Média	Escura
	2,9 ± 0,0	2,2 ± 0,0	2,1 ± 0,1	2,8 ± 0,0	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1

<b>Mistura A5/A6 com C3</b>	<b>0% C3</b>			<b>40% C3</b>		
<b>% de A6</b>	10%	20%	30%	10%	20%	30%
	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,0	2,5 ± 0,0	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,0

\*Média ± desvio padrão de duplicata.

**TABELA 2** – Luminosidade\* das misturas de cafés arábica (A1, A2, A3, A4, A5, A6) e conilon (C1, C2 e C3) submetidos a diferentes torras.

<b>Mistura</b>	<b>A1 / C1</b>			<b>A2 / C2</b>		
<b>Espécie / Torra</b>	Clara	Média	Escura	Clara	Média	Escura
20%	29,4 ± 0,4	23,0 ± 0,5	16,1 ± 0,5	32,1 ± 0,3	22,8 ± 0,2	16,8 ± 0,1
30%	29,6 ± 0,3	24,7 ± 0,2	15,9 ± 0,4	31,4 ± 0,4	24,5 ± 0,4	15,0 ± 0,4
50%	30,8 ± 0,5	24,7 ± 0,4	17,2 ± 0,8	32,0 ± 0,4	23,1 ± 0,1	15,0 ± 0,1
<b>Mistura</b>	<b>A1 / C2</b>			<b>A2 / C1</b>		
<b>Espécie / Torra</b>	Clara	Média	Escura	Clara	Média	Escura
20%	31,6 ± 0,4	21,3 ± 0,2	16,0 ± 0,5	30,9 ± 0,5	25,9 ± 0,5	17,1 ± 0,3
30%	31,4 ± 0,3	21,2 ± 0,2	15,3 ± 0,3	31,8 ± 0,1	26,6 ± 0,3	16,7 ± 0,1
50%	30,3 ± 0,7	22,5 ± 0,2	15,4 ± 0,5	33,6 ± 0,3	28,9 ± 0,4	16,6 ± 0,2
<b>Mistura A3/C3</b>	<b>20%</b>			<b>40%</b>		
<b>Torra</b>	Clara	Média	Escura	Clara	Média	Escura
	30,3 ±	23,2 ±	17,8 ±	28,7 ±	28,6 ±	21,0 ±
<b>Mistura A5/A6 com C3</b>	<b>0% C3</b>			<b>40% C3</b>		
<b>% de A6</b>	10%	20%	30%	10%	20%	30%
	26,5 ±	25,2 ±	25,0 ±	26,5 ±	25,2 ±	28,5 ±

\*Média ± desvio padrão de duplicata.

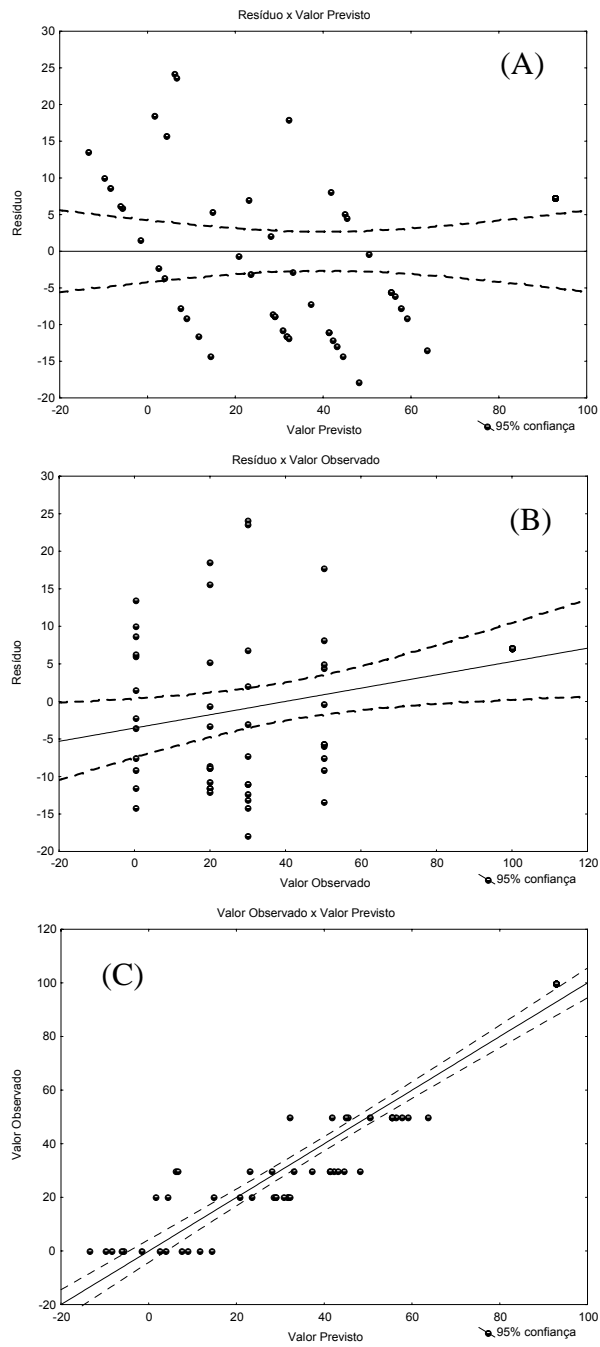
**TABELA 3** – Tonalidade cromática\* das misturas de cafés arábica (A1, A2, A3, A4, A5, A6) e conilon (C1, C2 e C3) A1 e A2) submetidos a diferentes torras.

<b>Mistura</b>	<b>A1 / C1</b>			<b>A2 / C2</b>		
Espécie / Torra	Clara	Média	Escura	Clara	Média	Escura
20%	64,7 ± 0,8	58,1 ± 0,8	50,1 ± 2,1	64,3 ± 1,2	58,0 ± 1,1	49,5 ± 1,0
30%	65,1 ± 1,0	58,2 ± 1,0	50,4 ± 0,3	65,0 ± 0,3	58,9 ± 0,7	47,0 ± 1,4
50%	66,2 ± 0,4	59,9 ± 0,4	52,3 ± 1,1	65,2 ± 0,9	61,1 ± 0,6	51,1 ± 1,3
<b>Mistura</b>	<b>A1 / C2</b>			<b>A2 / C1</b>		
Espécie / Torra	Clara	Média	Escura	Clara	Média	Escura
20%	64,4 ± 1,1	58,9 ± 3,3	50,4 ± 1,0	64,5 ± 2,0	60,0 ± 0,8	53,1 ± 1,3
30%	64,7 ± 1,1	59,2 ± 0,5	50,8 ± 0,5	65,0 ± 0,8	59,0 ± 1,2	51,0 ± 1,1
50%	64,8 ± 0,6	59,7 ± 2,1	51,1 ± 0,5	65,9 ± 1,1	60,9 ± 1,3	53,3 ± 0,7
<b>Mistura A3/C3</b>	<b>20%</b>			<b>40%</b>		
Torra	Clara	Média	Escura	Clara	Média	Escura
	66,5 ± 0,7	63,9 ± 0,5	59,9 ± 0,2	67,1 ± 0,5	63,4 ± 0,4	57,6 ± 0,1
<b>Mistura A5/A6 com C3</b>	<b>0% C3</b>			<b>40% C3</b>		
% de A6	10%	20%	30%	10%	20%	30%
	60,0 ± 0,6	62,5 ± 0,3	63,3 ± 0,3	62,6 ±	63,8 ±	64,9 ±

\*Média ± desvio padrão de duplicata.

### **ANEXO 3**

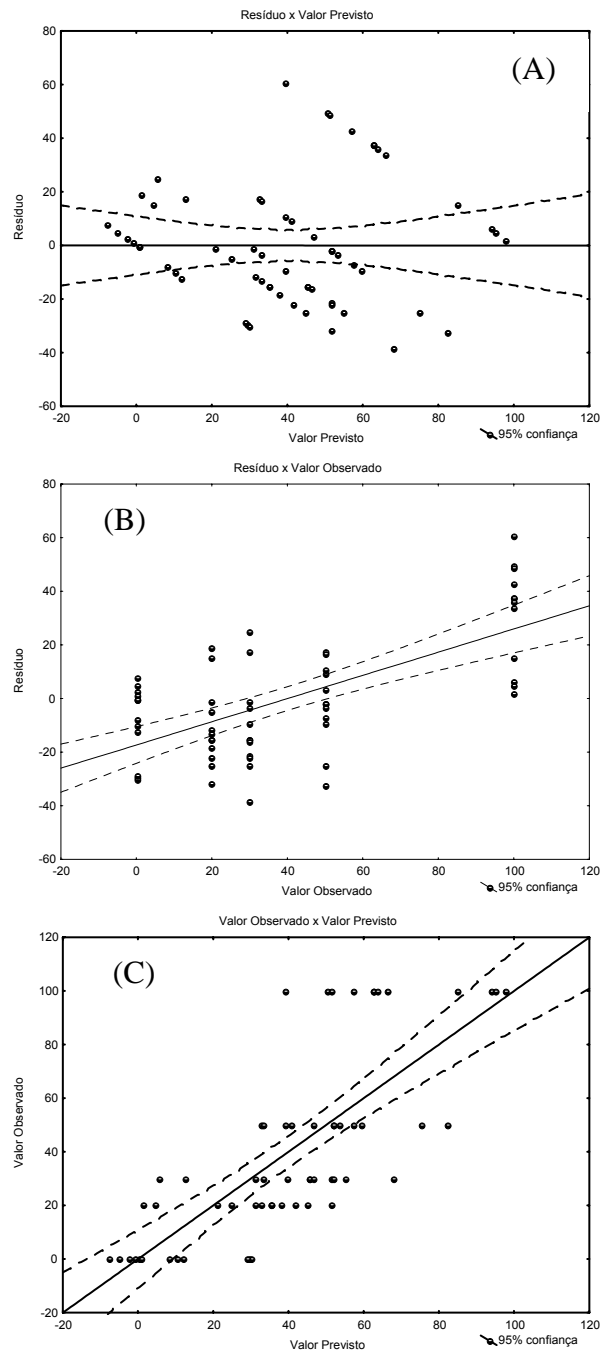
#### **Análise de resíduos e estimativa dos preditos dos modelos**

**ANEXO 3 – Análise de resíduos e estimativa dos preditos dos modelos**

**Gráfico 1** – Resíduos para modelo com caveol utilizando amostras A1, A2, C1, C2 e misturas: resíduo x valor previsto (A); resíduo x valor observado (B); valor observado x valor previsto (C).

**TABELA 4** – Valores preditos para as misturas de espécies de café (A1, A2, C1 e C2) com diferentes torras utilizando o modelo para caveol.

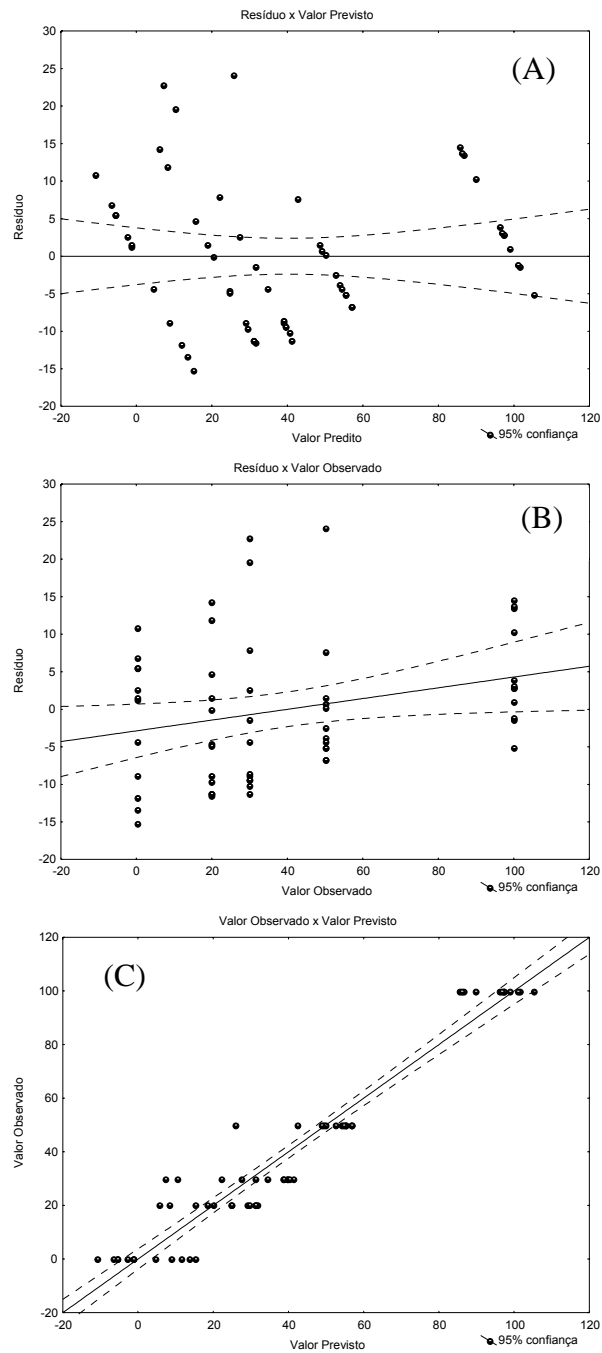
<b>Amostras</b>	<b>Torra</b>	<b>Valor observado</b>	<b>Valor previsto (%)</b>	<b>Limite de confiança (<math>\pm</math> 95%)</b>
A1/C2	Clara	20	31	30 – 33
	Média	20	30	29 – 32
	Escura	20	34	32 – 35
A2/C1	Clara	20	20	19 – 21
	Média	20	18	17 – 19
	Escura	20	30	29 – 32
A1/C2	Clara	30	36	34 – 38
	Média	30	35	33 – 36
	Escura	30	33	31 – 34
A2/C1	Clara	30	29	27 – 30
	Média	30	22	21 – 23
	Escura	30	37	35 – 38
A1/C2	Clara	50	48	45 – 50
	Média	50	54	51 – 57
	Escura	50	46	44 – 49
A2/C1	Clara	50	46	44 – 49
	Média	50	51	48 – 54
	Escura	50	55	52 – 58



**Gráfico 2** – Resíduos para modelo com cafestol utilizando amostras A1, A2, C1, C2 e misturas: resíduo x valor previsto (A); resíduo x valor observado (B); valor observado x valor previsto (C).

**TABELA 5** – Valores preditos para as misturas de espécies de café (A1, A2, C1 e C2) com diferentes torras utilizando o modelo para cafestol.

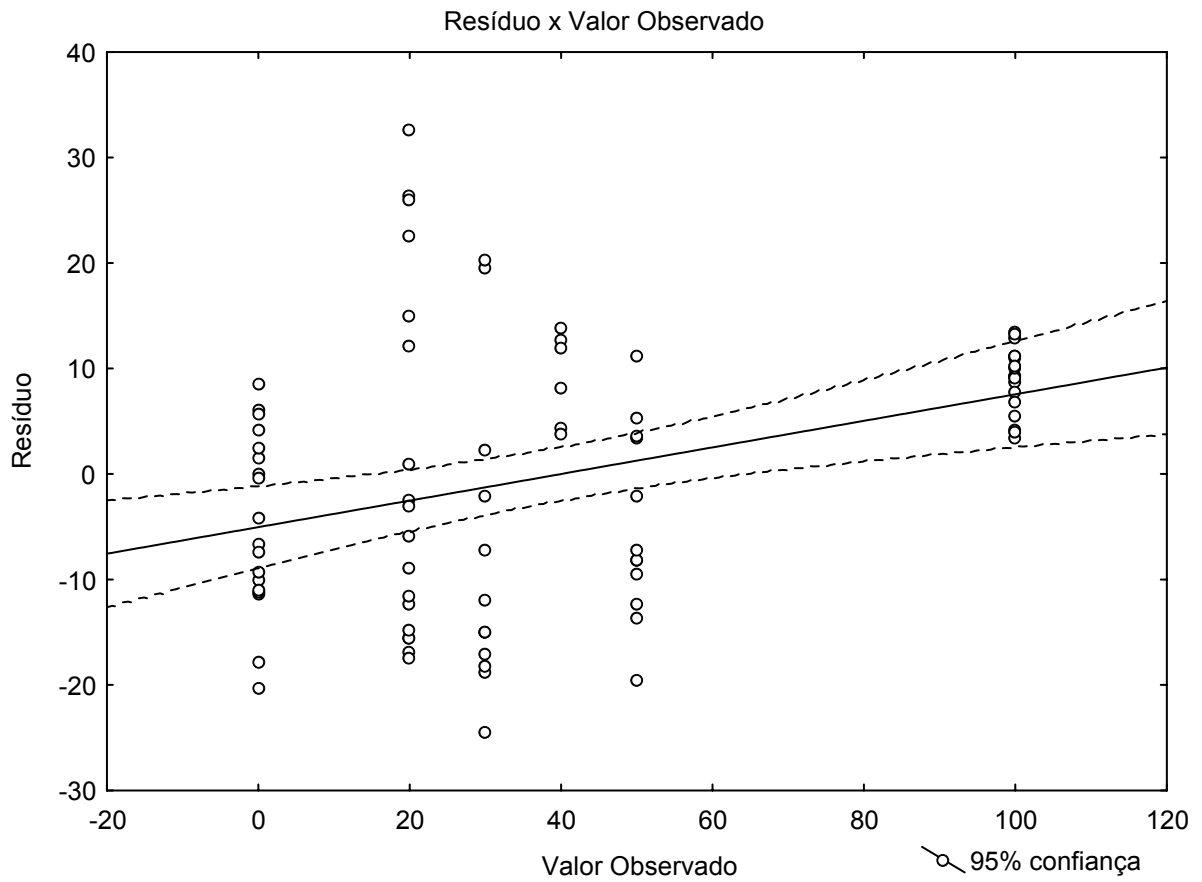
<b>Amostras</b>	<b>Torra</b>	<b>Valor observado</b>	<b>Valor previsto (%)</b>	<b>Limite de confiança (<math>\pm</math> 95%)</b>
A1/C2	Clara	20	56	53 – 59
	Média	20	33	31 – 34
	Escura	20	48	45 – 50
A2/C1	Clara	20	19	18 – 20
	Média	20	17	16 – 18
	Escura	20	34	32 – 35
A1/C2	Clara	30	42	40 – 44
	Média	30	46	44 – 48
	Escura	30	42	40 – 44
A2/C1	Clara	30	22	21 – 23
	Média	30	21	20 – 22
	Escura	30	38	36 – 39
A1/C2	Clara	50	52	49 – 55
	Média	50	91	86 – 95
	Escura	50	58	55 – 61
A2/C1	Clara	50	31	29 – 32
	Média	50	38	36 – 40
	Escura	50	37	35 – 39



**Gráfico 3** – Resíduos para modelo com caveol e cafestol utilizando amostras A1, A2, C1, C2 e misturas: resíduo x valor previsto (A); resíduo x valor observado (B); valor observado x valor previsto (C).

**TABELA 6** – Valores preditos para as misturas de espécies de café (A1, A2, C1 e C2) com diferentes torras utilizando o modelo para caveol e cafestol.

<b>Amostras</b>	<b>Torra</b>	<b>Valor observado</b>	<b>Valor previsto (%)</b>	<b>Limite de confiança (<math>\pm</math> 95%)</b>
A1/C2	Clara	20	24	23 – 26
	Média	20	29	28 – 31
	Escura	20	24	22 – 25
A2/C1	Clara	20	22	21 – 23
	Média	20	21	20 – 22
	Escura	20	30	29 – 32
A1/C2	Clara	30	34	33 – 36
	Média	30	31	30 – 33
	Escura	30	30	29 – 32
A2/C1	Clara	30	33	31 – 34
	Média	30	24	23 – 25
	Escura	30	37	35 – 38
A1/C2	Clara	50	45	43 – 48
	Média	50	40	38 – 42
	Escura	50	49	47 – 51
A2/C1	Clara	50	51	48 – 53
	Média	50	54	51 – 57
	Escura	50	59	56 – 62



**Gráfico 4** – Resíduos x valor observado para modelo multilinear (caveol e cafestol) utilizando amostras A1, A2, A3, C1, C2, C3 e misturas.