



Universidade Estadual de Londrina

RAFAEL CARLOS ELOY DIAS

Discriminação de espécies de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) em diferentes graus de torra

Londrina

2005

RAFAEL CARLOS ELOY DIAS

Discriminação de espécies de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) em diferentes graus de torra

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marta de Toledo Benassi

Londrina

2005

Dias, Rafael Carlos Eloy

Discriminação de espécies de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) em diferentes graus de torra / Rafael Carlos Eloy Dias - Londrina, PR : [s.n], 2005.

106f.

Orientadora: Drª Marta de Toledo Benassi.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Londrina.

Bibliografia: f.

1. Análise. 2. Conilon. 3. Multivariada. I. Benassi, Marta de Toledo. II. Universidade Estadual de Londrina.

RAFAEL CARLOS ELOY DIAS

Discriminação de espécies de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) em diferentes graus de torra

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação, em Ciências de Alimentos, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profª Drª Marta de Toledo Benassi
Universidade Estadual de Londrina

Profª Drª Neura Bragagnolo
Universidade Estadual de Campinas

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

Londrina, ____ de _____ de 2005.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a capacidade e condições de desempenhar todo esse trabalho;

A Prof^a. Dr^a. Marta de Toledo Benassi, pelas orientações, companheirismo e dedicação excepcionais;

A Pesquisadora Maria Brígida dos Santos Scholz - IAPAR, pelo apoio técnico fundamental ao desenvolvimento do trabalho;

Ao Prof. Dr. Fábio Yamashita, pelo companheirismo e auxílio geral;

A Prof^a Dr^a Neura Bragagnolo pelo apoio ao trabalho;

Ao mestre Sandriel Trindade Alves, por ter começado o trabalho e pelos ensinamentos repassados;

A toda a minha família Brisola Maciel, em especial José Mário, Céci Maciel, Maria Luiza, principais responsáveis por eu estar nesta situação, especialmente minha querida mãe, Rô;

A Vanessa Ap. Fernandes Moro;

A todos meus amigos e colegas que me ajudaram durante este tempo de mestrado e agora seguirão fazendo parte da minha vida.

A todos os professores do Dpto. de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos;

Ao CNPQ pelo apoio financeiro;

Ao professor Dr. Sérgio Ruffo Roberto, docente do Dpto. de Agronomia da UEL, pelo empréstimo do aparelho colorímetro;

A cessão temporária do software Statística 6.0 durante a realização do curso Estatística Multivariada: Análise de Agrupamentos e Componentes Principais à empresa “Estudar Consultoria e Empreendimentos” (www.agroescola.com.br).

DIAS, Rafael Carlos Eloy. **Busca de Informação:** Discriminação de espécies de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) em diferentes graus de torra. Londrina, 2005. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina.

RESUMO

O café é um dos produtos agrícolas de maior importância na economia mundial. Seu cultivo se baseia nas espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (conilon). A diferença de preço incentiva a adição de conilon, de menor valor comercial e qualidade sensorial, ao arábica. Após a torra e moagem, não é possível a distinção visual das espécies, podendo-se utilizar métodos de caracterização baseados em Análise Estatística Multivariada. Os estudos para diferenciação das espécies trabalham muitas vezes com grãos crus e técnicas onerosas. O trabalho objetivou a diferenciação das espécies de café arábica (Iapar 59) e conilon e misturas (20, 30 e 50 % de conilon) em diferentes graus de torra. Empregou-se análises cromatográficas (CLAE fase reversa, gradiente HAc/MeCN, detecção UV), e espectrofotométricas (reações colorimétricas da matéria insaponificável com KI e HCl). A torra foi padronizada pela perda de peso: 13% para clara, 17% para média e 20% para torra escura. Caracterizou-se as amostras com relação à umidade e cor (L^* e H^*). A técnica cromatográfica foi padronizada e permitiu a separação e quantificação simultânea de trigonelina, ácido clorogênico (5-ACQ), cafeína e ácido nicotínico, que foi introduzido como um potencial discriminador e teve sua metodologia validada. Após padronização das diluições e comprimento de onda de leitura, constatou-se que a reação com KI com leitura a 620 nm (KI620) foi a mais eficiente para discriminação, permitindo identificar adição de conilon ao arábica acima de 30 %, podendo ser utilizada como método de triagem. Em todos os graus de torra, o café arábica apresentou maiores teores de ácido nicotínico, trigonelina e KI620 (associado ao baixo teor de caveol) e menores valores de L^* , H^* e cafeína. Cafeína e KI620 foram estáveis a torra, ao contrário de L^* e H^* . Os teores de trigonelina, ácido nicotínico e 5-ACQ reduziram-se com o aquecimento, constatando-se maior velocidade de degradação no café conilon. No geral, a instabilidade à torra dificultou o emprego de uma variável como discriminadora. Considerando-se cada parâmetro em separado, a menor diferença entre espécies foi observada na torra média, sugerindo que a discriminação seria mais difícil. Em todas as condições estudadas a cafeína foi eficiente para diferenciar espécies e misturas. Ácido nicotínico e trigonelina podem ser aplicados como discriminadores das espécies nas torras clara e escura. O 5-ACQ apresentou comportamento diferenciado: maior concentração poderia estar associada a teor mais elevado tanto de café arábica quanto de conilon, dependendo da torra. Destacou-se neste trabalho a importância de se caracterizar adequadamente o nível de torra para diferenciar as espécies de café, visto que houve interação entre espécies e torra (exceto para cafeína e KI620). A avaliação em conjunto dos dados, por Regressão Multilinear, Análise de Componentes Principais e Análise de Agrupamentos, permitiu determinar a relevância dos parâmetros na caracterização das espécies e torras. L^* , H^* , a soma das concentrações de ácido nicotínico e trigonelina, e o teor de 5-ACQ ou razão 5-ACQ/cafeína foram eficientes na discriminação do grau de torra. KI620, H^* , cafeína e trigonelina foram as variáveis mais importantes na separação das espécies e misturas.

Palavras-chave: Cafeína, 5-ACQ. Trigonelina. Ácido Nicotínico. Caveol. Cor.

DIAS, Rafael Carlos Eloy. **Search of information:** Discrimination between arabica and robusta coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) at different degrees of roasting. Londrina, 2005. Dissertation (Mester's degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina.

ABSTRACT

Coffee is one of the most important commodities in the worldwide economy. Its culture is based on *Coffea arabica* and *Coffea canephora* (robusta) species. The high commercial value and sensory quality of arabica beans stimulate the addition of conilon. Considering that after roasting and grinding the species cannot be visually distinguish, methods of characterization by Multivariate Statistical Analysis could be applied. Researches for differentiation of the species use green beans and expensive techniques. The aim of this work was to discriminate arabica and robusta coffee species and their blends (20, 30 and 50 % of robusta) roasted at different degrees. Chromatographic (reversed-phase HPLC, gradient elution of HAc/MeCN and UV detection) and spectrophotometrics (colorimetric reactions of the unsaponifiable matter with KI and HCl) methods were used. Roasting process was determined by weight loss: 13% for light, 17% for medium and 20% for dark roasting. The sample was characterized regarding to moisture and color (L^* and H^*). The HPLC method was standardized and allowed separation and simultaneous quantification of trigonelline, chlorogenic (5-CQA) and nicotinic acids and caffeine. The nicotinic acid was introduced as a potential discriminator therefore its methodology was validate. After standardization of the dilutions and wavelengths detection, it was observed that the KI reaction measures at 620 nm (KI620) was the most efficient for discrimination. The technique identified conilon addition to the arabic above 30% allowing its use as a screening method. Arabica coffee presented higher caffeine, nicotinic acid and trigonelline contents and smaller values of L^* , H^* and KI620 (associate to the low kahweol levels) in all roast degrees. Caffeine and KI620 were stable under roasting conditions, in contrast to L^* and H^* . Trigonelline, nicotinic acid and 5-CQA levels were reduced with heating and also showed higher degradation rate on robusta coffee. In general, the instability under roasting process diffculted the use of these variables as discriminators. Considering each parameter independently, the lower difference between species was observed for medium-roasted coffees suggesting that discrimination would be diffculted in this degree of roasting. Caffeine was efficient to differentiate species and blends in all cases. Nicotinic acid and trigonelline can be applied to species characterization under light and medium roasting. The 5-CQA presented differentiate behavior: high level could be associated to a greater content of arabica or robusta coffee, depending on the roasting degree considered. This work emphasized the importance of the appropriated characterization of the roasting degree to differentiate the coffee species, since there was interaction between species and roast (except for caffeine and KI620). The use of Multiple Regression, Principal Components and Cluster Analysis for evaluation of the data set allowed to determine the relevance of the parameters in the characterization of the species and roasts. L^* , H^* , the sum of nicotinic acid and trigonelline contents like the 5-CQA level or 5-CQA/caffeine ratio can be use as efficient parameters for discriminating roasting degree. KI620, H^* , caffeine and trigonelline were the main variables to separate species and blends.

Key words: Caffeine, 5-CQA, trigonelline, nicotinic acid, kahweol, color.

LISTA DE FIGURAS

Figura III.1 - Estrutura química de cafeína, trigonelina, 5-ACQ e ácido nicotínico	33
Figura III.2 - Estruturas químicas do cafestol e caveol	37
Figura IV.1 - Condições propostas para extração das amostras de café	49
Figura IV.2 - Fluxograma da extração da matéria insaponificável do café	53
Figura IV.3 - Fluxograma das reações colorimétricas	54
Figura V.1 - Cafés arábica e conilon de torras claras, média e escura (13, 17 e 20 % de perda de peso)	58
Figura V.2 - Luminosidade (L^*) e Tonalidade cromática (H^*) em cafés arábica e conilon e misturas com diferentes níveis de torra.....	60
Figura V.3 - Cromatograma do extrato de amostra 100 % arábica de torra clara, com 5 % de acetonitrila como componente extrator	62
Figura V.4 - Cromatograma de mistura padrão de ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ, ácido caféico, cafeína, ácido ferúlico e ácido cumárico	63
Figura V.5 - Cromatogramas de café arábica e conilon com diferentes graus de torra	64
Figura V.6 - Curvas analíticas para ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ e Cafeína	66
Figura V.7 - Espectrogramas das soluções obtidas pela reação colorimétrica da matéria insaponificável da amostra de café 100 % arábica de torra média com HCl e KI empregando diferentes diluentes.....	72
Figura V.8 - Espectrogramas de comparação das soluções concentrada e diluída para reações com KI e HCl para amostra 100 % arábica	73
Figura V.9 - Espectrogramas de comparação das soluções concentrada (A) e diluída (B) para reações com KI (1) e HCl (2) para amostra 100 % conilon	73

Figura V.10 - Espectrograma de padrão de caveol: sem reação e diluição, reação com HCl e diluição 1:2 com HAc glacial e reação com KI e diluição 1:2 com HAc 50 % do glacial.....	75
Figura V.11 - Espectrogramas das reações colorimétricas com KI e HCl da matéria insaponificável de amostras de café de torra média.....	76
Figura V.12 - Projeção das variáveis nas Componentes Principais 1 e 2	98
Figura V.13 - Análise de Componentes Principais e Dendograma obtidos a partir dos dados cromatográficos, espectrofotométrico e de cor das amostras de café torrado	99

LISTA DE TABELAS

Tabela II.1 - Principais lipídios em grãos de café.....	27
Tabela III.1 – Valores de L, a, b e a porcentagem de perda de peso (%PP) para os diferentes tipos de torra e classe de café	31
Tabela IV.1 - Condições cromatográficas empregadas na análise de trigonelina, ácido clorogênico e cafeína	50
Tabela V.1 - Umidade (%) dos cafés das espécies arábica e conilon submetidos a diferentes torras.....	56
Tabela V.2 - Luminosidade dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras	57
Tabela V.3 - Tonalidade cromática dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras	58
Tabela V.4 - Áreas obtidas a partir dos cromatogramas dos extratos de amostra 100 % arábica de torra clara, com água e acetonitrila 5 % como componentes extratores	61
Tabela V.5 - Concentrações (mg.L ⁻¹) de ácido nicotínico, trigonelina, cafeína e 5-ACQ usadas na construção das curvas analíticas	65
Tabela V.6 - Parâmetros da reta (y=Ax+B) para as curvas analíticas de ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ e cafeína	67
Tabela V.7 - Tempos de retenção (t _R) para mistura padrão de ácido nicotínico, trigonelina, cafeína e 5-ACQ	67
Tabela V.8 - Valores de média, desvio padrão (S) e coeficiente de variação em porcentagem (CV%) em ensaios de repetibilidade para o ácido nicotínico	68
Tabela V.9 - Teores de 5-ACQ (g/100 g) dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras.....	77
Tabela V.10 - Teores de trigonelina (g/100 g) dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras.....	80

Tabela V.11 - Teores de ácido nicotínico (g/100 g) dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras	84
Tabela V.12 - Teores de cafeína (g/100 g) dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras.....	85
Tabela V.13 - Média da soma dos teores de ácido nicotínico e trigonelina em g/100 g para os cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras	87
Tabela V.14 - Média da razão entre os teores de 5-ACQ e cafeína para os cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras.....	89
Tabela V.15 - Valores de Absorvância a 620 nm para os produtos da reação colorimétrica de KI com a matéria insaponificável dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras	91
Tabela V.16 - Valores de Absorvância* a 615 nm para os produtos da reação colorimétrica de HCl com a matéria insaponificável dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras	93
Tabela V.17 - Valores de Absorvância a 408 nm para os produtos da reação colorimétrica de HCl com a matéria insaponificável dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras	94
Tabela V.18 - Valores de Absorvância a 431 nm para os produtos da reação colorimétrica de HCl com a matéria insaponificável dos cafés das espécies arábica e conilon e misturas submetidos a diferentes torras	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a* – Componente vermelho-verde

ACGs – Ácido clorogênicos totais

AA – Análise de Agrupamentos

ACP – Análise de Componentes Principais

b* – Componente amarelo-azul

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

Cs – Concentração injetada do analito

H* – Tonalidade Cromática

HCl – Ácido Clorídrico

HCl615 – Absorção a 620 nm dos extratos, após reação com HCl

HCl408 – Absorção a 408 nm dos extratos, após reação com HCl

HCl431 – Absorção a 431 nm dos extratos, após reação com HCl

hn – Variação máxima do ruído no tempo de retenção do composto

hs – Altura do sinal cromatográfico

IV – Infravermelho

KI – Iodeto de Potássio

KI620 – Absorção a 620 nm dos extratos, após reação com KI

KOH – Hidróxido de potássio

L* – Luminosidade

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

MeCN – Acetonitrila

MeOH – Metanol

MI – Matéria Insaponificável

RAZÃO – razão dos teores de 5-ACQ e cafeína

SOMA – soma da quantidade de ácido nicotínico e trigonelina

t-BME – Terc-butil-metil éter

UV – Região do espectro - Ultravioleta

VIS – Região do espectro - Visível

λ – Comprimento de onda

λ - autovalor

5-ACQ – ácido clorogênico (ácido 1,3,4,5-tetrahidroxíciclohexano-carboxílico)

%PP – Porcentagem de perda de peso das amostras

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 HISTÓRICO	21
2.2 CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES E VARIEDADES DE CAFÉ	22
2.3 TORRA: CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS	27
2.4 DISCRIMINAÇÃO ENTRE ESPÉCIES	37
3 OBJETIVOS	44
3.1 OBJETIVO GERAL	44
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
4 MATERIAL E MÉTODOS	45
4.1 MATERIAL	45
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	46
4.2.1 Análise de umidade	46
4.2.2 Análise de cor	46
4.3 REAGENTES	47
4.4 EQUIPAMENTOS	48
4.5 DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ÁCIDOS CINÂMICOS, NICOTÍNICO E CLOROGÊNICOS, TRIGONELINA E CAFEÍNA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	49
4.5.1 Preparo de amostra	49
4.5.2 Condições cromatográficas	49
4.5.3 Validação	51
4.6 ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA AVALIAÇÃO DE CAVEOL	52
4.7 ANÁLISE DAS VARIEDADES E MISTURAS	54

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	56
5.2 METODOLOGIA CROMATOGRÁFICA.....	61
5.2.1 Estudo das condições de extração.....	61
5.2.2 Escolha dos parâmetros a serem avaliados.....	63
5.2.3 Quantificação dos compostos	65
5.2.4 Validação do método para o ácido nicotínico	68
5.3 METODOLOGIA ESPECTROFOTOMÉTRICA	70
5.3.1 Testes de diluição	70
5.3.2 Comparação entre as amostras	76
5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES SUBMETIDAS A DIFERENTES TORRAS	78
5.4.1 Parâmetros cromatográficos: trigonelina, ácido nicotínico,5-ACQ e cafeína	78
5.4.2 Parâmetros espectrofotométricos.....	90
5.5 DISCRIMINAÇÃO DAS ESPÉCIES E MISTURAS E GRAUS DE TORRA	96
CONCLUSÃO	104
REFERÊNCIAS	106
ANEXOS	115
ANEXO A.....	116
ANEXO B.....	117

1 INTRODUÇÃO

A palavra "café" originou-se do árabe *Kahoua* ou *Qahwa* (o excitante) e designa atualmente: o fruto do cafeeiro; bebida preparada por infusão de água quente com café torrado e moído; lugar público onde se toma café ou outras bebidas; cor café, um marrom escuro que lembra o grão de café torrado (ABIC, 2004; BUENO, 2004).

O grão do café é obtido da fruta da planta café, uma pequena árvore tipo arbusto de folhas verdes, do gênero *Coffea*, família Rubiaceae (KEMSLEY *et al.*, 1995). Este gênero apresenta aproximadamente 100 espécies de cafeeiros, mas apenas cinco são cultivadas comercialmente (CARVALHO *et al.*, 2001). As mais importantes são *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, que correspondem a 71,0 % e 29,0 %, respectivamente, da produção brasileira estimada para a safra 2005/2006 (CONAB, 2005). No Brasil, a variedade ou o clone mais plantado do *C. canephora* é o conilon, enquanto que nos demais países, é a variedade robusta (BRAGANÇA *et al.*, 2001).

O café é um dos produtos agrícolas de maior influência na economia mundial, principalmente para os países menos desenvolvidos. Desta forma, a bebida produzida a partir do café é uma das mais consumidas em todo o mundo, com um total de 14,6 milhões de sacas de 60 kg de consumo interno estimado para a safra 2004/2005 e 32 milhões de sacas beneficiadas, segundo a primeira previsão para a safra 2005/2006 (FAS, 2005; CONAB, 2005).

O Brasil é o maior produtor mundial de café e também o maior exportador do grão e o segundo consumidor, atrás apenas dos Estados Unidos. O café apresenta maior expressão nas regiões Sul e Sudeste e destaca-se por ser um símbolo

tradicional. O estado de Minas Gerais é o maior produtor (43 % do café brasileiro). O Espírito Santo é o segundo estado produtor, com 17 % (principalmente café conilon), seguido por São Paulo (16 %), com destaque para a região mogiana e oeste. O Paraná é o quarto maior produtor, contribuindo com 7 % da produção nacional, ou terceiro se for considerado apenas o café arábica (INCRA, 2005; CAFÉ DO PARANÁ, 2005).

A produção do café envolve milhões de pessoas direta e indiretamente, desde o plantio ao consumo final. Estima-se que 1700 municípios brasileiros sejam cafeeiros (EXPOCAFÉ, 2004; CARVALHO *et al.*, 2000). A cafeicultura no Estado do Paraná foi iniciada em 1930 e teve sua expansão na década de 50. Muitas cidades, como Londrina, Maringá e Campo Mourão surgiram a partir da chegada do café. Atualmente a área plantada é de 156 mil hectares. Os produtos agrícolas mais cultivados no Paraná são a soja e o trigo, mas o café ainda está presente em aproximadamente 210 municípios do Estado e é responsável por 3,2 % da renda agrícola paranaense. Aproximadamente 75 mil pessoas têm empregos diretos com a cultura (COFFEE BREAK, 2004b).

Uma das maiores preocupações atuais da cafeicultura nacional é tornar o café brasileiro competitivo internacionalmente em nível de qualidade, uma vez que sua imagem positiva baseia-se apenas no aspecto econômico (LOPES, 2000).

A bebida café tem sabor e odor fortes e característicos e algumas substâncias presentes têm ação estimulante sobre o sistema nervoso. Dentre estes compostos, a cafeína é o mais importante e está no grupo de compostos que causa o amargor do café torrado denominado metilxantinas, que inclui também alguns ácidos fenólicos (como trigonelina e ácidos clorogênicos), ácidos carboxílicos e aminoácidos (NOLLET, 1996).

O café conilon apresenta maiores teores de cafeína e ácidos clorogênicos e menores teores de trigonelina e ácido nicotínico do que o café arábica. As concentrações desses componentes podem variar também com o processamento pós-colheita dos grãos (CAMPA *et al.*, 2004; TRUGO & NOGUEIRA, 2003; TRUGO & MACRAE, 1984).

Dentre os processos e tratamentos que o grão de café é submetido após a colheita, a torra é o mais importante para qualidade final da bebida, principalmente para a formação do aroma e sabor. No processo de torra estão envolvidas complexas reações de pirólise, bem como de condensação. A torra induz, por exemplo, a degradação de trigonelina em ácido nicotínico, em intensidade dependente das condições do processo (CASAL *et al.*, 2000a; TAGUCHI *et al.*, 1985; VIANI & HORMAN, 1974). Concomitantemente, verifica-se a formação de pigmentos de massa variável que, no seu conjunto, darão origem às características específicas do café (MORAES & TRUGO, 2001; LOPES, 2000). Desta forma, as variáveis do processo de torra, como tempo e temperatura, devem ser cuidadosamente controladas nas indústrias, para que se atinja a melhor combinação de compostos voláteis e não-voláteis que determinam a qualidade geral da bebida.

Os cafés arábica e conilon diferem consideravelmente no preço, qualidade e aceitabilidade. Os grãos apresentam cor, formato e tamanho diferenciados, porém, após a torra e moagem, não se distinguem as espécies visualmente e, como pertencem ao mesmo gênero, possuem poucas diferenças para detecção da adição de café conilon, de menor valor comercial, ao arábica (GONZÁLEZ *et al.*, 2001).

Diferentes técnicas analíticas para discriminação entre as espécies de café vêm sendo estudadas, porém muitas vezes exigem o uso de equipamentos

sofisticados (TZOUROS & ARVANITTOYANNIS, 2001) e grande parte dos trabalhos é relativa a grãos verdes (KY *et al.*, 2001; MARTIN *et al.*, 1998; ANDRADE *et al.*, 1998; CARRERA *et al.*, 1998). Mesmo nos trabalhos onde se estuda grão torrado, muitas vezes é empregado apenas um tipo de tratamento (ALVES, 2004; CASAL *et al.*, 1998) e poucos autores estudam a viabilidade das metodologias para diferentes graus de torra (CASAL *et al.*, 2000a; DAGLIA *et al.*, 1994a).

Vários compostos têm sido relatados como discriminadores para as espécies *Coffea arabica* e *canephora*, como os ácidos nicotínico e clorogênicos, trigonelina, cafeína (MARTÍN *et al.*, 1998; CASAL *et al.*, 2000b; ALVES *et al.*, 2003c) e compostos da matéria insaponificável do café (16-o-metilcafestol e caveol) (LAGO, 2001; SPEER *et al.*, 1991; ALVES *et al.*, 2003a). Deve-se considerar, no entanto, que esses compostos podem não ser eficientes para discriminação das variedades nacionais, pois suas concentrações variam em espécies de regiões diferentes, e o grau de torra também é diferenciado, dependendo da preferência do consumidor local.

Como a avaliação de um só parâmetro não permite a discriminação e caracterização adequada das espécies de café, é interessante a quantificação dos compostos por uma técnica analítica multicomponente eficiente como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A variabilidade dos compostos entre espécies, associada à influência da intensidade de torra, torna necessária para a análise dos dados a utilização de métodos estatísticos multivariados, como Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise de Agrupamentos (AA), que caracterizam o produto pela combinação dos valores individuais de cada parâmetro (ALVES, 2004; MAEZTU *et al.*, 2001; CASAL *et al.*, 2000b; MARTIN *et al.*, 1998; MORI *et al.*, 2003).

Com relação à legislação, a Portaria n.º 377, item 9, do Ministério da Saúde (de 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, a origem e ou denominação específica (ANVISA, 2005). No Estado do Paraná está em estudo a implementação de uma legislação (Lei no 13.519, da Legislação Estadual da Secretaria do Estado do Governo, Publicado no Diário Oficial Nº 6205 de 09 de abril de 2002) para estabelecer a obrigatoriedade de informação da espécie (SECRETARIA DO ESTADO DO GOVERNO DO PARANA, 2005), conforme o transcrito abaixo:

“Art. 1º - Fica estabelecida a obrigatoriedade de informação, nos rótulos das embalagens de café comercializado no Paraná, da percentagem de cada espécie vegetal de que se compõe o produto.

§ 1º. O produto comercializado no Paraná com o nome de café, independentemente de sua apresentação, somente poderá ser produzido a partir de grãos de espécies vegetais do gênero Coffea.

§ 2º. Nos casos em que se utilizarem grãos de plantas híbridas de diferentes espécies do gênero Coffea, especificar-se-á no rótulo do produto a participação percentual do híbrido.

Art. 2º. As disposições desta Lei aplicam-se ao café torrado em grão, ao café torrado moído, ao café solúvel e a todas as demais formas em que o café, destinado ao consumo humano, puro ou em mistura com outros produtos alimentícios, seja comercializados no Brasil.

Art. 5º. Constará das embalagens de todo o café comercializado no Paraná um selo da qualidade emitido pela produção, através da Associação Paranaense de

Cafeicultores – APAC, com a fiscalização da EMATER-Paraná e aprovação técnica, através de laudo laboratorial a ser fornecido pelo Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR’.

A detecção de impurezas e misturas no pó de café torrado e moído é uma preocupação constante no que diz respeito principalmente à garantia da qualidade do produto. Por fraude, considera-se a mistura, intencional ou não, de materiais estranhos ao produto, normalmente de baixo custo, que alteram a sua qualidade e causam danos ao consumidor, especialmente os de ordem econômica (ASSAD *et al.*, 2002). Segundo o “Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru” é permitido o máximo de 1 % de impurezas para cafés torrados comerciais (Instrução Normativa nº 8, de 11 de junho de 2003) (ABIC, 2005).

No Brasil, as impurezas ou misturas encontradas, com maior frequência, no café torrado e moído são cascas e paus, milho, cevada, açúcar mascavo e soja, entre outras. Um dos principais problemas encontrados na identificação dessas substâncias fraudulentas refere-se aos métodos analíticos empregados, pois são demorados e apresentam resultados muitas vezes discordantes (CUNHA *et al.*, 2001; ASSAD *et al.*, 2002). O café conilon é também um material atraente para a adição a cafés de melhor qualidade, como o arábica, devido à diferença de preço.

A detecção da adição fraudulenta ou acidental de café conilon ao arábica também é de interesse das indústrias e autoridades reguladoras, necessitando-se de um método simples e quantitativo para monitoração da qualidade.

Em estudo preliminar, foi utilizada ACP associada a AA para a discriminação de misturas da variedade conilon comercial e um café arábica tradicional

do Paraná (Iapar-59). Foram avaliados os teores de trigonelina, cafeína e ácidos clorogênicos por CLAE e medidas de absorvância da fração insaponificável após reações colorimétricas (associada ao teor de caveol) (ALVES *et al.*, 2003b e d). Observou-se boa discriminação entre as amostras 100 % conilon e as misturas 50 % e 25 % conilon/arábica. Não foi possível a discriminação entre misturas com menor proporção (20, 15, 10 e 5 %). Entretanto, as amostras utilizadas foram submetidas a apenas um tipo de torra ("média").

Desta forma, é necessário avaliar o efeito da torra na capacidade de discriminação dos parâmetros empregados para a caracterização das espécies de café arábica e conilon.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRICO

A origem do café se confunde com as lendas e não se conhecem documentos que registrem com clareza sua descoberta e aproveitamento. É relatado que, por volta de 850 a.C., Kaldi, um pastor de um mosteiro da Etiópia, teria notado agitação em seu rebanho de cabras quando comiam os frutos vermelhos de certo arbusto. Provando-o, Kaldi sentiu-se também bastante alegre e bem disposto. Foi o primeiro contato direto do homem com a planta que daria origem ao café (CAFÉ IGUAÇU, 2004). A história do café se relaciona também a fatos religiosos. No islamismo, além de ser considerado de origem mirífica, acreditava-se que o café era um revitalizador natural, a ponto de nenhum viajante ficar sem algumas folhas da planta, especialmente durante o período do Ramadã e das peregrinações a Meca (SINDICAFÉ, 2004).

Já no século XVI, a bebida passou a ser conhecida e comercializada em Constantinopla, onde foi instalado em 1554 o primeiro café público. Nesta mesma época, diversos cafés foram abertos no Cairo, tornando-se ponto de reuniões de intelectuais. Pelo Porto de Marselha, em 1659, o café encontrou seu maior divulgador. Os franceses foram tão receptivos à bebida, que rapidamente multiplicaram-se os cafés públicos (SINDICAFÉ, 2004).

As sementes que deram origem às lavouras brasileiras foram trazidas da ilha de Java em 1714, pelos holandeses, para o atual Suriname e Guiana Francesa. Em 1727, algumas mudas foram trazidas destes países e plantadas em Belém do Pará.

Dessas plantações, o café expandiu-se pela Serra do Mar, atingindo em 1825 o Vale da Paraíba, tendo alcançado os Estados de São Paulo e Minas Gerais. Relatos mostram que já em 1731 aconteceu a primeira exportação de café, do estado do Maranhão para Lisboa (COOABRIEL, 2004).

Atualmente, a bebida produzida a partir do café é uma das mais consumidas em todo o mundo. Tem sabor e odor fortes e característicos e confirmou-se que algumas substâncias presentes têm ação estimulante sobre o sistema nervoso (ABIC, 2005; TRUGO & NOGUEIRA, 2003; WU *et al.*, 1997; MARTÍN *et al.*, 1996).

2.2 CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES E VARIEDADES DE CAFÉ

Arbusto de até 4 m de altura, a planta do café apresenta caule reto de casca cinzenta e rugosa, copa cônica com ramos laterais pendentes, folhas onduladas nos bordos e de coloração verde-acinzentada quando jovens e verde-brilhante posteriormente. As flores são brancas aglomeradas ao longo dos ramos e a coloração dos frutos varia conforme a espécie, na maioria verde, passando a vermelha e tornando-se preta de acordo com as fases de maturação. A casca é lisa e brilhante, contendo sementes de coloração acinzentada, branco-amarelada ou amarelo-esverdeada envoltas por polpa branca e adocicada (BVEB, 2004).

Das 100 espécies conhecidas do gênero *Coffea*, somente 10 são cultivadas em todo mundo. Duas delas são consideradas as mais importantes por corresponder a mais de 90 % da produção mundial: *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, que apresentam distinções quanto ao preço, qualidade e aceitabilidade, produzindo

bebidas com características diferentes (CONSUMERES, 2004; CARVALHO *et al.*, 2001).

Atualmente, as variedades podem ser escolhidas para cultivo com base na produtividade, espaço disponível ou no relevo do solo. Existe um grande número de variedades de café arábica sendo cultivadas no Brasil, porém duas se destacam: Catuaí (60 % do total) e Mundo Novo (35 %), originária do município de Mundo Novo em 1940. Uma de suas características mais atraentes para os cafeicultores é a alta produtividade de seus cafeeiros. Por outro lado, o grande porte do Mundo Novo dificulta sua colheita. Devido a essa constatação, o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) realizou estudos para facilitar a colheita da variedade com a diminuição do porte da planta. O resultado foi o surgimento da variedade Catuaí, com duas linhagens: Vermelho e Amarelo (COFFEE BREAK, 2004b).

Outras variedades de café arábica são Icatu Vermelho e Amarelo, Tupi, Obatã, Catuaí Rubi, Topázio, Katipó, Catucaí Vermelho e Amarelo, Oeiras-MG 6851 e outras ainda, com diversas linhagens (COFFEE BREAK, 2004b).

A ferrugem é a principal doença da cultura do café no Brasil. Desde 1972, o Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) pesquisa este problema com a finalidade de obtenção de cultivares resistentes à ferrugem e que tenham boa qualidade agrônômica. A cultivar Iapar 59 originou-se do cruzamento entre *Coffea arabica*, Villa Sarchi 971/10 e o Híbrido de Timor 832/2, realizado no Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, em Portugal, e encaminhado ao IAC. Em 1975, nos estudos realizados pelo IAPAR, o seu desempenho demonstrou condições para seu lançamento como cultivar, passando a receber a denominação de Iapar 59. O café Iapar 59, recomendado para plantio a partir de 1993, tem como principal característica a

resistência à ferrugem do cafeeiro. O cultivar apresenta maior precocidade de produção, em relação ao Catuaí, e rendimento mais elevado que Catuaí e Mundo Novo (IAPAR, 2004).

A variedade ou o clone mais plantado no Brasil do *Coffea canephora* é a cultivar conilon, genericamente chamado de robusta (BRAGANÇA *et al.*, 2001). O café conilon, apesar de menos valorizado economicamente que o arábica, tem grande aceitação no mercado norte-americano e europeu. Isso se deve principalmente ao fato de ser utilizado na fabricação de café solúvel (COOABRIEL, 2004).

O Estado do Espírito Santo é o maior produtor brasileiro de café conilon, com cerca de 70 % da produção nacional, destacando-se ainda os estados de Rondônia, Minas Gerais, Mato Grosso, Bahia e Rio de Janeiro (BRAGANÇA *et al.*, 2001). Nos últimos 15 anos estão sendo desenvolvidos estudos na área de melhoramento genético desta variedade de café. O Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural desenvolveu cinco variedades de conilon que se destacam por apresentar: maturação precoce (EMCAPA 8111), intermediária (EMCAPA 8121), tardia (EMCAPA 8131), tolerância à seca (EMCAPA 8141, Robustão Capixaba) e elevado vigor vegetativo (EMCAPER 8151, Robusta Tropical). Essas novas variedades têm sido a base para a renovação do parque cafeeiro da espécie no Espírito Santo, contribuindo de forma efetiva para o avanço tecnológico da cultura de *C. canephora* cv. conilon no país (COFFEE BREAK, 2004c).

As características sensoriais da bebida café estão diretamente relacionadas com espécies e são influenciadas pelos tratamentos agrícolas do grão, processos de secagem, fermentação, torra, moagem e acondicionamento (MELLO, 2001). O processo de torra é considerado uma das etapas mais importantes para o

desenvolvimento do sabor e aroma característico do café, que são conferidos por compostos voláteis, presentes nos grãos antes e principalmente após a torra. Nesta etapa, os grãos sofrem alterações químicas e físicas importantes, que são necessárias à formação da qualidade sensorial.

O “Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru” prevê uma classificação oficial para bebidas de café arábica (finas ou fenicadas) e conilon (Instrução Normativa nº 8, de 11 de junho de 2003) (MAPA, 2005). A qualidade sensorial da bebida de café arábica é normalmente classificada comercialmente em “rio”, “riada”, “dura” e “mole”. Sabe-se que a verbalização desta classificação é bastante discutida, mas algumas considerações são de senso comum entre os provadores treinados: a bebida de café tipo mole tem sabor suave, com gosto agradável e doce; a bebida tipo dura se apresenta com sabor adstringente e gosto áspero; a riada refere-se a um café com leve sabor típico de iodofórmio ou ácido fênico; e a bebida tipo rio tem sabor forte e desagradável, lembrando mais intensamente iodofórmio. As bebidas mole e dura são consideradas as de melhor qualidade tecnicamente (SOUZA *et al.*, 2004).

A literatura descreve que com a espécie arábica são feitas bebidas de melhor qualidade, mais finas e requintadas, de sabores diversificados, com inúmeras variações de corpo e acidez e com aroma bastante intenso (MENDES, 1999). O conilon, por possuir características sensoriais próprias, produz bebida classificada como de “sabor único”, considerada tecnicamente de má qualidade por provadores treinados. Tem acidez baixa e é utilizado muitas vezes para a fabricação de cafés solúveis por apresentar elevado teor de sólidos solúveis (CARVALHO *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2004). Também, existe diferença de preferência por parte dos consumidores em função

da região, sexo, idade e tipo de bebida, segundo pesquisa realizada recentemente por SOUZA *et al.* (2004) no Estado do Rio de Janeiro, com café conilon e arábica. A bebida mais rejeitada foi a produzida com café conilon. A bebida “dura”, que é produzida com café arábica, foi a preferida dos consumidores cariocas, curiosamente de maior aceitabilidade até mesmo que a bebida “rio”, que acreditava-se ser a de melhor sabor por ser a mais consumida do Estado.

Os grãos crus das duas espécies podem ser distinguidos facilmente: o de arábica é verde claro e de forma ovalar, levemente azedos, de superfície lisa e intenso aroma, enquanto que o grão de conilon tende a ser mais arredondado e castanho, de menor intensidade no aroma e com gosto mais picante e adstringente (CONSUMERES, 2004). Entretanto, estes indicadores são eliminados nos processos de torra e moagem, requisitando métodos alternativos de diferenciação (KEMSLEY *et al.*, 1995).

As reações de pirólise que ocorrem durante a torra são catalisadas pelos minerais presentes no café (CARVALHO *et al.*, 1997). Estão presentes no café torrado arábica e conilon os minerais P, Mg e Ca, em concentrações (em base seca) próximas a na casa de décimos % e Mn, Fe, Cu, Na, e K, em unidades de mg/100 g de produto (MARTIN *et al.*, 1999).

O grão de café arábica apresenta maiores concentrações de carboidratos, lipídios e proteínas, comparado ao conilon, que exhibe teores mais elevados de compostos fenólicos e de cafeína (LOPES, 2000). No arábica, a soma das quantidades de cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos totais (ACGs) e sacarose representa 16 % em média de matéria seca. No conilon, o teor destes componentes chega a 20 % (KY *et al.*, 2001). FERNANDES *et al.* (2004) estudaram a composição

química dos cafés conilon e arábica de diferentes safras cultivadas no Brasil. Constatou-se que o arábica apresenta maior teor de proteína bruta, fibra bruta, extrato etéreo e maior pH. Não houve diferença significativa para os teores do resíduo mineral fixo e acidez titulável total entre as espécies estudadas.

O teor de lipídios do café arábica é de aproximadamente 11 %, podendo chegar a 15 % após o processo de torra, devido à degradação de carboidratos e perda de compostos voláteis. Para o conilon, a concentração é de 6 % antes e de até 10 % depois da torra. Além dos triacilgliceróis (75 % dos lipídios) e dos ésteres de ácidos graxos diterpênicos (20 % dos lipídios), observa-se quantidade considerável de outros componentes lipídicos específicos, como mostra a TABELA II.1 (LAGO, 2001; KURZROCK & SPEER, 2001).

TABELA II.1 – Principais lipídios em grãos de café.

Classes	Café Arábica		Café Robusta	
	Cru	Torrado	Cru	Torrado
AGL	0,95	0,72	0,98	0,09
Não-Identificados	0,53	0,86	tr	tr
Esteróis	0,06	0,06	tr	tr
DG + AD	15,46	14,15	7,04	10,95
TG + E	83	84,21	91,98	88,95

Obs: AGL=ácidos graxos livres, DG=diacilgliceróis; AD=álcoois diterpênicos; TG= triacilgliceróis; E= outros ésteres. tr = quantidades traço, nas condições utilizadas. Resultados expressos em %. **Fonte:** (LAGO, 2001).

2.3 TORRA: CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS

A qualidade do café depende da forma como é cultivado, colhido, processado e preparado. A obtenção de um produto de boa qualidade depende de fatores inerentes à planta (características da variedade) e de fatores referentes ao

ambiente externo. Além disso, a composição química dos grãos (fatores genéticos, ambientais e culturais), métodos de colheita, processamento e armazenamento dos grãos irão influenciar as características da bebida (LOPES, 2000). Porém, a etapa de torra (também denominada torrefação, torragem ou torração, quando referente ao café) merece destaque dentre os processamentos a que o café é submetido industrialmente, por ser uma das mais importantes para a qualidade final do produto (MONTEIRO, 2002; REDGWELL *et al.*, 2002; FERNANDES *et al.*, 2001).

No processo de torra de café, quando a temperatura dos grãos ultrapassa 50°C, inicia-se a desnaturação de proteína, ocorrendo também evaporação de água. Ao atingir 100°C, os grãos de café começam a adquirir cor amarelada devido à decomposição térmica e pirólise dos compostos orgânicos e perda de umidade; entre 120 e 130°C, a cor passa a ser castanha. Com o aumento do volume do grão, a 150°C, alguns produtos voláteis são despreendidos (H₂O, CO e CO₂) e um odor típico de óleo é percebido. À temperatura em torno de 180°C, despreendem-se gases de combustão, principalmente CO₂ e CO, sob forma de fumaça. A cor torna-se marrom pela formação de melanoidinas e compostos aromáticos. No final do processo, a umidade do grão encontra-se entre 1,5 a 3,5 % (MATIELLO, 1991; ORTOLÁ *et al.*, 1998; ARAÚJO, 2001).

O processo de torra pode ser avaliado de diversas maneiras: pelo aspecto visual da amostra depois de efetivado o processo, pela contagem de grãos que não torraram ou não apresentaram cor característica, pelo tempo e temperatura de torra e/ou pela perda de peso dos grãos (DAGLIA *et al.*, 1994b; URGERT *et al.*, 1995; MORAES & TRUGO, 2001; MONTEIRO *et al.*, 2002; OOSTERVELD *et al.*, 2003; MINAMISAWA *et al.*, 2004).

O ponto de torra pode ser definido facilmente por observações subseqüentes da cor desejada e cada indústria possui um padrão característico para este processo. O padrão estabelecido pelo consumidor brasileiro exige que o café seja torrado até atingir uma coloração marrom escuro (FERNANDES, *et al.*, 2001). O trabalho de MONTEIRO (2002) teve como um dos objetivos a caracterização sensorial do café (*Coffea arabica* L.) em termos de qualidade sensorial e aceitação de sua bebida mole, dura e rio, na torra denominada clara (americana), expresso e escura (em ordem crescente de intensidade). Verificou-se que as amostras de torra clara apresentaram maior intensidade dos atributos aroma de grão verde, aroma e sabor fermentado (referente à bebida proveniente de grão fermentado) e gosto ácido. As amostras de torra escura mostraram maior aceitação por parte dos consumidores, sem diferenciar a classe.

Podem ser também encontrados no mercado, cafés de torras demasiadamente fortes (perda de peso acima de 22 g/100 g), utilizadas com o intuito de mascarar a presença de defeitos ou adulterações comuns em cafés de consumo interno (FERNANDES *et al.*, 2001).

Utilizam-se denominações para as torras de cafés baseadas no aspecto visual: “fina”, “boa”, “regular” e “má”. Considera-se na torra fina que a totalidade dos grãos se apresenta de cor homogênea e sem imperfeições, na torra boa verifica-se um máximo de 2 % de imperfeições e poucas variações de cor. Para regular é permitido um máximo de 10 % de imperfeições e maiores diferenças de coloração, e a torra é classificada como má quando acima desses limites (MATIELLO, 1991).

A torra pode ser, também, mais usualmente classificada como "leve", "média" e "escura". A primeira produz um café de maior acidez, aroma e sabor suaves,

com menos amargor e menor perda de lipídeos aromáticos. 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 (CAFÉ ALVORADA, 2002).

Existe, no entanto, bastante divergência na literatura, tanto nos termos empregados e na classificação dos graus de torra, quanto na relação observada entre os graus de torra, parâmetros de cor e perda de peso.

Para verificar o efeito do processo de torra na composição de carboidratos em grãos de café arábica, OOSTERVELD *et al.* (2003) utilizaram amostras torradas em três níveis, de acordo com a porcentagem de perda de peso dos grãos ao final do processo, empregando as denominações “clara”, para 11 %, “média”, para 15 %, e “escura”, para 22 % de perda de peso.

MINAMISAWA *et al.* (2004) mostraram o comportamento de substâncias biologicamente ativas presentes no café conforme a torra a que este era submetido. Utilizando amostras de café arábica e conilon, os grãos foram torrados em cinco níveis, denominado pelos autores como (em escala crescente de intensidade): “light”, “medium”, “city”, “full city” e “French”. O processo de torra foi realizado a 230°C por tempos que variaram entre 10 e 30 minutos. As duas amostras de torras mais brandas apresentaram coloração de marrom claro a castanho. As três torras mais intensas produziram grãos de coloração marrom escuro, sem diferenças visuais perceptíveis.

A relação entre o grau de torra, método de preparação da bebida e a atividade antibacteriana de café arábica e conilon de diferentes origens (países) foi estudada por DAGLIA *et al.* (1994a e b). As amostras foram submetidas a três graus de

torra, classificadas de acordo com a perda de peso dos grãos ao final do processamento, variando-se o tempo de aquecimento a uma temperatura fixa (não especificada). A torra denominada “clara” (5 min) produziu, em média, 11 % de perda de peso nos grãos, a torra “média” (7 min), 13 %, e a torra “escura” (8 min) causou 20 % de perda de peso.

MONTEIRO *et al.* (2002) variaram as condições de torra para observar o comportamento do teor de compostos fenólicos e a cor dos grãos de café, empregando o sistema Hunter. Utilizaram-se três classes de café: mole, dura e rio (classificados pela “prova da xícara”) da espécie *Coffea arabica*. O estudo dividiu em 3 as condições de torra, de acordo com o binômio tempo/temperatura: “clara” (9,1 min/165,6°C), “expresso” (10,6 min/226,7°C) e “escura” (11,6 min/226,7°C). Foi feita ao final uma relação entre perda de peso dos grãos e o tipo de torra. As amostras de torra clara apresentaram, em relação à cor, maior luminosidade (L) e intensidades de vermelho (a) e amarelo (b) (TABELA III.1).

TABELA III.1 – Valores de L, a, b e a porcentagem de perda de peso (%PP) para os diferentes tipos de torra e classe de café.

Classe/Torra	%PP após torra	L ¹	a ¹	b ¹
Mole/Clara	9,6	15,92 ^{a,b,c}	19,80 ^a	10,01 ^{a,b,c}
Dura/Clara	11,5	16,60 ^{a,b}	21,33 ^a	10,45 ^{a,b}
Rio/Clara	10,4	19,00 ^a	21,72 ^a	12,16 ^a
Mole/Expresso	14,2	10,76 ^{a,b,c,d}	17,31 ^{a,b}	6,57 ^{b,c,d}
Dura/Expresso	14,0	9,19 ^{b,c,d}	16,27 ^{a,b}	5,59 ^{b,c,d}
Rio/Expresso	13,8	10,00 ^{b,c,d}	17,11 ^{a,b}	6,32 ^{b,c,d}
Mole/Escura	17,5	6,50 ^d	12,18 ^b	4,12 ^d
Dura/Escura	16,7	8,14 ^{c,d}	14,84 ^b	4,87 ^{c,d}
Rio/Escura	17,4	9,79 ^{b,c,d}	17,06 ^{a,b}	6,23 ^{b,c,d}

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, na coluna, não diferem significamente entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: MONTEIRO *et al.* (2002).

MENDES *et al.* (2001) estudaram a otimização das condições de torra do café conilon aplicando Metodologia de Superfície de Resposta e avaliando-se cor instrumental (parâmetros L^* , a^* e b^*) e aceitabilidade sensorial. As condições ideais de torra encontradas quanto ao tempo e temperatura foram: 22 a 28 minutos e 225 a 230°C, respectivamente, com valores dos parâmetros de cor entre 37,05 e 40,69 para L^* , 2,29 e 4,15 para a^* e entre 2,70 e 6,29 para b^* .

O grão de café apresenta centenas de constituintes voláteis e não-voláteis de diversos compostos químicos, como ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, compostos fenólicos, cafeína e enzimas que têm ação sobre estes próprios constituintes (SILVA, 1997; FERNANDES *et al.*, 2001). O sabor amargo característico do café depende de substâncias de ocorrência natural, que incluem as metilxantinas como a cafeína, ácidos fenólicos, ácidos carboxílicos e alguns aminoácidos e proteínas, mas provém principalmente de compostos formados durante o processo de torra. São aproximadamente 800 compostos voláteis que surgem em maior ou menor concentração, dependendo principalmente das condições de torra do grão, como tempo, temperatura e tipo de torrador. Desta forma, o café processado contém mais compostos voláteis do que qualquer outro alimento ou bebida (ARAÚJO, 2001; NOLLET, 1996). A contribuição de cada um destes compostos para o aroma final do café é bem variada, podendo ainda ocorrer interações sinérgicas e antagônicas (TRUGO *et al.*, 2000).

A cafeína (FIGURA III.1) é um dos principais alcalóides presentes no café e um dos mais estudados pelas suas conhecidas propriedades fisiológicas e farmacológicas, principalmente em relação ao seu efeito na redução do sono e às suas propriedades estimulantes. Sua porcentagem varia com a espécie. O tipo arábica apresenta um teor médio de 1,22 % e o conilon, 2,54 % (teores em base seca) (KY *et al.*, 2001). Estes valores são alterados após a torra: em torno de 1 % para o arábica e 2 % para o conilon. Observa-se que a cafeína tem relativa estabilidade à torra mesmo com o emprego de altas temperaturas (200 - 230°C) (TRUGO *et al.*, 2000).

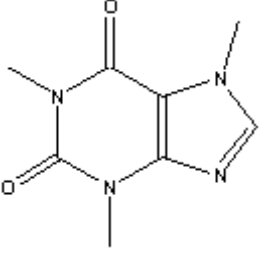
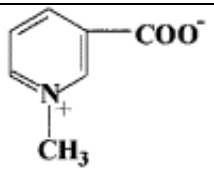
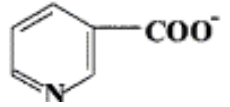
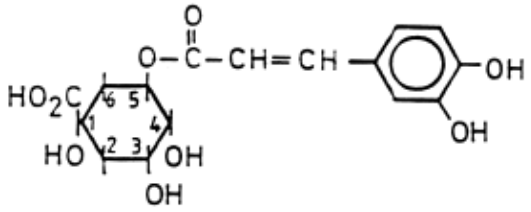
Composto	Fórmula Molecular	Estrutura
Cafeína (1,3,7-trimetilxantina)	$C_8H_{10}N_4O_2$	
Trigonelina (1-metilpiridinium-3-carboxilato monohidrato)	$C_7H_9NO_2$	
Ácido Nicotínico (n-metil nicotinamida)	$C_6H_6NO_2$	
Ácido clorogênico (ácido 1,3,4,5-tetrahidroxiciclohexano-carboxílico) - 5-ACQ	$C_{16}H_{18}O_9$	

FIGURA III.1 – Estrutura química de cafeína, trigonelina, ácido nicotínico e 5-ACQ.

Ao contrário da cafeína, a trigonelina (FIGURA III.1) mostra-se bastante sensível ao processo de torra. O teor médio de trigonelina no café verde é de 1 a 2 % para o arábica e próximo de 1 % para o conilon, em base seca. Estudos realizados por MAZZAFERA (1991) constataram grande variação na concentração de trigonelina entre variedades de café arábica (1,52 a 2,90 %) e conilon (3,08 %). A presença de trigonelina em variedades comerciais brasileiras está entre 0,7 a 1,2 % com média de 0,9 %, segundo MORI *et al.* (2003). Essas quantidades diminuem significativamente após a torra em intensidade que depende do tempo e temperatura, gerando-se compostos voláteis e/ou não-voláteis. A 230°C e 15 minutos de torra, foi verificada

retenção de apenas 15 % da quantidade inicial de trigonelina (TRUGO *et al.*, 1999; KY *et al.*, 2001; MINAMISAWA *et al.*, 2004).

VIANI & HORMAN (1974) foram um dos primeiros pesquisadores a estudar o comportamento térmico da trigonelina. Verificou-se que o principal produto da primeira fragmentação é o ácido nicotínico (FIGURA III.1), detectado na fração não-volátil do café após a torra.

TAGUCHI *et al.* (1985) observaram a formação de ácido nicotínico durante a torra de grãos de café. Verificou-se que a 230°C e por um tempo de 10 minutos (condições extremas superiores de torra testadas) a concentração de ácido nicotínico foi a mais alta e à temperatura de 220°C, a máxima quantidade deste componente foi detectada em 20 minutos. Notou-se um aumento da concentração de ácido nicotínico e um decaimento de trigonelina, conforme o tempo, o que condiz com o descrito em outros trabalhos como de KY *et al.* (2001), TRUGO (2001) e VIANI & HORMAN (1975). Porém, a partir de 20 minutos (a 220°C) observou-se um decréscimo também na concentração de ácido nicotínico. Os trabalhos citados acima concentram-se no estudo da perda da trigonelina, mas não discutem adequadamente a degradação térmica do ácido nicotínico. CASAL *et al.* (2000a) relatam que a quantidade de ácido nicotínico resultante da degradação da trigonelina se eleva à medida que aumenta o grau de torra, porém quando se estende além de 15 minutos a 240°C verifica-se uma diminuição do ácido nicotínico formado, mostrando sua instabilidade térmica a partir desta temperatura, para essas condições estudadas.

Dentre os principais compostos fenólicos não-voláteis presentes no café está o grupo dos ácidos clorogênicos (ACGs). Alguns pesquisadores vêm trabalhando no desenvolvimento de técnicas para identificar e diferenciar amostras de espécies e

origens distintas de café com base na quantidade de ACGs (DE MARIA & MOREIRA, 2004; MONTEIRO & TRUGO, 2004; DE MARIA *et al.*, 1998; BICCHI *et al.*, 1995; TRUGO & MACRAE, 1984). Concentrações que variam de 5,5 a 8,0 % e 7,1 a 11,7 % de ACGs foram encontrados para os tipos arábica e conilon, respectivamente. Sua formação se dá principalmente pela esterificação do ácido quínico com os ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico. Assim, os ácidos cinâmicos livres estão em pequena quantidade no café verde. O representante majoritário do grupo ACG é o ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ) (FIGURA III.1), para qual muitas vezes se emprega o termo “clorogênico” (DE MARIA & MOREIRA, 2004). O processo de torra, porém, promove a degradação dos ACGs em fenólicos livres. Uma pequena quantidade dos ACGs é convertida a pigmentos e outra parte perdida por volatilização (TRUGO *et al.*, 2000).

Estudando apenas a espécie arábica, LELOUP *et al.* (1995) utilizaram uma combinação de métodos cromatográficos para verificar as possíveis vias de degradação do ácido clorogênico durante o processo de torra do café, obtendo-se sua cinética de seus isômeros principais e dos componentes fenólicos e quínicos de maior importância. O teor de ACGs total é bastante reduzido durante a torra, mas nem todos os isômeros apresentam comportamento similar. Os ácidos 5-ACQ e di-ACQ (dicafeoilquínico) não desaparecem tão rapidamente quanto o ácido clorogênico total. Comportamentos semelhantes a esses foram observados para os isômeros 4-ACQ e 3-ACQ. Nos estágios iniciais de torra ocorre uma hidrólise particular do di-ACQ, que se converte parcialmente em ácido caféico e novas formas esterificadas são transitoriamente produzidas. Entretanto, ao longo do tempo os ácidos fenólicos esterificados diminuem em até um terço do inicial. Componentes fenólicos, como catecol, 4-etilcatecol, guaiacol e 4-etilguaiacol foram detectados em quantidades traços

(menor que 0,1 %), explicando parte dos dois terços degradados de ácido fenólico (LELOUP *et al.*, 1995; TRUGO & MACRAE, 1984).

DAGLIA *et al.* (1994a) propuseram que a soma dos teores de ácido nicotínico e trigonelina, bem como a relação 5ACQ/cafeína, dependem do grau de torra e poderiam ser utilizados como parâmetros para monitoramento do processo.

Todos esses compostos citados são fundamentais na formação do aroma e sabor do café processado (TRUGO *et al.*, 2000), mas nenhum dos compostos voláteis identificados possui, por si só, o aroma típico do café torrado, ou seja, devem estar presentes na mistura em proporções e quantidades corretas (ARAÚJO, 2001).

Durante o processo de torra pode ocorrer ainda um aumento proporcional de lipídios, devido a destruição de carboidratos. Foi verificada 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).

O teor de matéria insaponificável (MI) no óleo de café é relativamente alto (9,0 a 13,4 %) comparado com os óleos vegetais (em geral abaixo de 1 %). As MIs são constituídas principalmente por dois álcoois diterpênicos, cafestol e caveol (FIGURA III.2), que ocorrem na forma livre ou como monoésteres de ácidos graxos. SPEER *et al.* (1991) estudaram outro diterpênico de interesse, o 16-O-metilcafestol, composto presente apenas no café conilon (de 0,1 a 0,3 %, em base seca) e excelsa. Foi sugerido que este composto poderia ser usado como indicador das espécies arábica e conilon em misturas no produto torrado, já que é termicamente estável (KEMSLEY *et al.*, 1995).

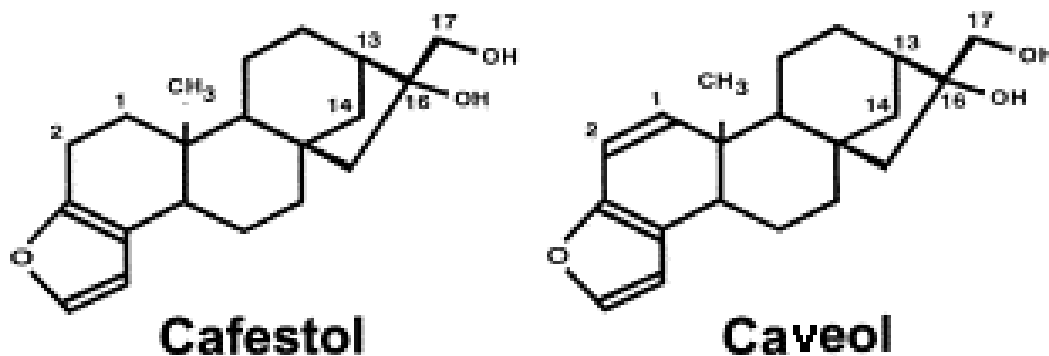


FIGURA III.2 – Estruturas químicas do cafestol e caveol

O cafestol e caveol podem sofrer desidratação durante a torra dos grãos, formando pequenas quantidades de dehidroderivados, segundo LAGO (2001). URGERT *et al.* (1995) cita em sua revisão que a torra intensa (até 26,5 % de perda de peso do grão) não reduz consideravelmente a quantidade de diterpenos no café arábica, que é de 1,3 % em peso. A concentração se mantém após a torra dos grãos: 0,56 % de cafestol e 0,73 % de caveol. O grão não torrado de café conilon apresenta 0,20 % de cafestol e caveol somados. Desta forma, a adição de café conilon ao café arábica pode diminuir a quantidade de diterpenos.

2.4 DISCRIMINAÇÃO ENTRE ESPÉCIES

Para obter-se a discriminação entre as espécies *Coffea arabica* e *C. canephora*, diferentes técnicas analíticas vêm sendo estudadas, porém muitos dos trabalhos da literatura fazem diferenciação apenas entre grãos verdes.

GONZÁLEZ *et al.* (2001) relataram que o teor de metais, compostos voláteis, ácidos clorogênicos, cafeína e a composição de lipídios (esteróis, ácidos

graxos, álcoois diterpênicos, tocoferóis, triglicerídios) poderiam ser utilizados na caracterização das espécies de café verde. ANDRADE *et al.* (1998) citaram a concentração de lipídios, cafeína, trigonelina, terpenóides, ácidos clorogênicos, cafeoil tirosina e ácidos hidroxicinâmicos como diferenciadores dos tipos arábica e conilon. Além desses compostos, são, ainda, sugeridos o emprego do teor de aminoácidos totais (MARTIN *et al.*, 1998) e sacarose (CAMPA *et al.*, 2004).

Técnicas analíticas que utilizam espectroscopia no infravermelho para discriminação entre espécies vêm tendo destaque (KEMSLEY *et al.*, 1995), porém o equipamento e sua manutenção são relativamente caros, além de não ser usualmente utilizado na área de análise de alimentos. A calibração do infravermelho é bastante complexa, feita a partir de espectros da cafeína e outros alcalóides do café, exigindo um grande número de análises e emprego de estatística multivariada para diferenciação das espécies (DOWNEY & BOUSSION, 1996; BRIANDET *et al.*, 1996).

WURZIGER (1977 e 1985), nas décadas de 70 e 80, apresentou um método para diferenciação de espécies de cafés verdes e torrados. A extração da fração lipídica foi feita em Soxlet, seguida de saponificação a frio. Utilizou-se reações da matéria insaponificável (MI) com iodeto de potássio e ácido clorídrico em meio ácido. A diferença de cor, avaliada por medidas de absorvância a 290 nm (λ de máxima absorção do caveol) e 630 nm (λ máximo do produto de reação), podia ser atribuída aos baixos teores de caveol no café conilon. O método, no entanto, era empírico e pouco quantitativo, não sendo mais encontrada na literatura referência a sua aplicação a partir desse período.

ALVES *et al.* (2003a) desenvolveram uma metodologia espectrofotométrica para diferenciação de café torrado dos tipos arábica e conilon, a partir do proposto por WURZIGER (1985), padronizando a extração do caveol e condições das reações colorimétricas. Como somente a matéria insaponificável, que continha o caveol, era de interesse, foi utilizada na extração uma adaptação do método proposto por URGERT *et al.* (1995) para quantificação de diterpenos em café. Foram realizadas extrações a quente das amostras, utilizando terc-butil metil éter e limpeza com água. Após reações colorimétricas com KI e HCl, mediu-se as absorvâncias a 290 e 630 nm. A metodologia foi empregada para café conilon e diferentes variedades de arábica (Iapar 59, Acaiá, Mundo Novo, Catuaí), mostrando-se eficiente na identificação das espécies, sugerindo uma possível utilização como método de triagem na identificação da adição de conilon ao arábica. O método, no entanto, não permitia uma avaliação quantitativa do teor de caveol, devido a não utilização de um padrão comercial de caveol e a leitura dos extratos ser feita numa faixa muito alta de absorvância, e por isso menos confiável.

Independentemente dos parâmetros a serem analisados, a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido a mais amplamente empregada para a detecção e quantificação de diferentes compostos em café.

No trabalho de GONZÁLEZ *et al.* (2001) foram utilizados os teores de tocoferóis (α , β e γ -tocoferóis) e de triglicerídeos (ácido oléico, linoléico, linolênico, palmítico e esteárico) como parâmetros de caracterização das duas espécies de café verde. Foi utilizada a técnica de CLAE de fase reversa e fase normal.

MARTÍN *et al.* (1998) estudaram o emprego dos parâmetros aminoácidos, polifenóis, extrato aquoso, ácido clorogênico, cafeína e trigonelina na discriminação das espécies de café verde de várias procedências. As espécies foram diferenciadas com base nos teores de cafeína e aminoácidos totais.

Para a análise da concentração de trigonelina e sacarose em diversas espécies de café e origens geográficas (incluindo *C. arabica* e *C. canephora*), CAMPA *et al.* (2004) utilizaram CLAE de fase reversa e de troca iônica, respectivamente. Verificou-se que as quantidades desses compostos variam com a espécie, podendo, portanto, ser utilizados como parâmetros de caracterização.

ANDRADE *et al.* (1998) detectou na maioria de suas amostras (grãos verdes de cafés conilon e arábica de diferentes origens geográficas) os ácidos p-cumárico, o-cumárico, sinápico, 3,4,5-trimetoxicinâmico, 4-metoxicinâmico e 3,4-dimetoxicinâmico, este último em maior concentração nas amostras da variedade conilon. Os ácidos caféico e ferúlico foram encontrados em todas as amostras. Os autores sugerem que o teor de ácidos cinâmicos poderia ser relacionado à origem do café.

BICCHI *et al.* (1995) realizou testes sensoriais e utilizou CLAE para analisar os ACGs (cafeoilquínico, dicafeoilquínico, feruloilquínico e isômeros) em café verde e torrado com o objetivo de diferenciar as origens das espécies, processos de torra e proporções de conilon e arábica.

O estudo de DAGLIA *et al.* (1994a) verificou a relação entre a atividade antibacteriana de café arábica e conilon com o nível de torra das amostras. Determinou-se a variação dos teores dos ácidos 5-cafeoilquínico, caféico, nicotínico, trigonelina, 5-(hidroximetil)furfuraldeído (HMF) e cafeína, por CLAE. O café arábica mostrou baixos

níveis de 5-cafeoilquínico e cafeína e maiores quantidades de trigonelina que a variedade conilon. Para ambas as espécies, ácido nicotínico e HMF foram encontrados em nível de traços e estiveram presentes apenas nas amostras de torras "leve" e "média". Foi verificado ainda que a soma dos teores de trigonelina e ácido nicotínico e a razão entre as quantidades de ácido 5-cafeoilquínico e cafeína dependem do grau de torra dos grãos de café e poderiam ser usadas como eficiente meio de monitoramento do processo de torra.

MAEZTU *et al.* (2001) propôs uma classificação para o café expresso preparado a partir das duas espécies, conilon e arábica. Denominou-se "Arábica" para amostra 100 % arábica, "Robusta Natural Blend", para mistura 80 % de café conilon e 20 % de arábica, e finalmente "Robusta Torrefacto Blend", para mistura 50 % da amostra "Robusta Natural Blend" e 50 % de café conilon com adição de açúcar. A classificação se baseou na relação de características físico-químicas (pH, densidade, viscosidade e tensão superficial), químicas (teor de lipídios, cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos determinados por CLAE) e sensoriais (sabor, aroma e aparência da espuma da bebida).

CASAL *et al.* (2000b) testaram como ferramenta de discriminação de diferentes espécies (*C. arabica* e *C. canephora*) e origens de cafés torrados a utilização de trigonelina, ácido nicotínico e cafeína por CLAE. A quantificação dos compostos foi feita simultaneamente, e os resultados mostraram que trigonelina e cafeína foram eficientes para a diferenciação das espécies puras, mas ácido nicotínico não apresentou eficiência relevante.

ALVES *et al.* (2003b) avaliaram os teores de trigonelina, cafeína e ácidos clorogênicos por CLAE de fase reversa para discriminação entre as espécies

arábica e conilon torradas em apenas um grau (média, 17 % de perda de peso). Observou-se boa discriminação entre as amostras 100 % conilon e mistura 50 %, e as amostras de café arábica pura ou com adição de menor teor de conilon (25, 20, 15, 10 e 5 %). Entretanto, os cafés utilizados foram submetidos a apenas um tipo de torra não se podendo avaliar o efeito da torra na capacidade de discriminação das variáveis.

A literatura reporta que a avaliação de um só composto não permite a discriminação entre as espécies, sendo interessante a determinação de vários parâmetros. Pode-se observar, também, que os compostos propostos para a diferenciação entre as duas espécies de café apresentam grande variabilidade e que as condições de torra também interferem nesses valores. Assim, é necessário utilizar para a análise dos dados, métodos estatísticos multivariados, onde a caracterização do produto não é baseada em valores individuais de parâmetros, mas em sua combinação.

A Análise de Componentes Principais (ACP) é uma das técnicas estatísticas mais antigas e mais utilizadas para análise multivariada. É apropriada para detectar a importância relativa das variáveis individuais na caracterização e separação dos dados, reduzindo ainda a número de dados para análise. A ACP é empregada para transformar um determinado número de variáveis em um número menor de componentes hipotéticos, chamadas “componentes principais” (CP), que são uma combinação linear das medidas originais. Assim, apenas duas ou três CPs são necessárias para explicar todas as informações presentes nos dados, de maneira que a primeiro componente seja a maior responsável pela variância observada. A segundo componente seria a responsável pela segunda maior variância, e assim sucessivamente. Através da plotagem dos dados no sistema de coordenadas definidas pelas CPs, é possível identificar relações importantes entre os dados (obtidos, por

exemplo, de cromatogramas ou espectros), identificando similaridades e diferenças entre os objetos. Amostras com similaridades em uma ou mais propriedades ou relação de propriedades serão pontos próximos nesse espaço padrão (LANDIM, 2003; LAVINE, 2000).

A Análise de Agrupamentos (AA) é um método de análise exploratória e de classificação dos dados e utiliza diferentes técnicas para associação e medida da similaridade para conseguir a separação das amostras em grupos. Cada amostra é tratada como um ponto no espaço de medidas n -dimensional. Os eixos da coordenada deste espaço são definidos pelas medidas usadas para caracterizar as amostras. Desta forma, a AA identifica a similaridade entre amostras por medidas de distância entre os pontos do espaço. No método por agrupamentos hierárquicos, parte-se de uma matriz simétrica de coeficientes de associação entre itens e para a combinação dos mesmos, segundo níveis hierárquicos de similaridade, utiliza-se de um procedimento aglomerativo de tal modo que cada ciclo de agrupamento obedeça a uma ordem sucessiva no sentido do decréscimo de similaridade. As medidas de similaridade podem ser mais comumente obtidas pela distância entre pares de pontos no espaço n -dimensional. A escolha da distância métrica que expressa similaridade entre as amostras no conjunto de dados depende do tipo das medidas das variáveis. A forma gráfica mais usada para representar o agrupamento hierárquico é o dendrograma (LANDIM, 2003; LAVINE, 2000).

Vários dos trabalhos citados anteriormente que fazem a quantificação de compostos em café com o propósito de caracterização das espécies e origens vêm utilizando a análise Multivariada como ferramenta de análise de seus dados (ALVES, 2004; MAEZTU *et al.*, 2001; CASAL *et al.*, 2000b; MARTIN *et al.*, 1998).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Diferenciação das espécies de café *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (variedade conilon) em misturas com diferentes graus de torra.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Padronização das condições de torra e caracterização das amostras com diferentes graus de torra (umidade e cor);
- Verificação da eficiência dos parâmetros de cor na discriminação das torras e espécies;
- Determinação dos teores de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico;
- Estudo da viabilidade de análise de outros parâmetros por CLAE (ácidos nicotínico e cinâmicos) e de sua importância na discriminação;
- Validação da metodologia cromatográfica para os novos parâmetros;
- Avaliação da extração e padronização das condições de reação e leitura no método espectrofotométrico;
- Determinação da absorvância após reação colorimétrica com KI e HCl;
- Comparação da eficiência das reações colorimétricas;
- Verificação da eficiência das metodologias cromatográfica e espectrofotométrica para discriminação das espécies de café trabalhando-se com diferentes tipos de torras e misturas de café conilon e arábica;
- Avaliação do efeito da torra na capacidade de discriminação das variáveis estudadas;
- Aplicação de Análise Multivariada (ACP e AA), Regressão Multilinear e Análise de Variância para a discriminação das duas espécies de café torrado sob diferentes condições, e suas misturas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

As amostras de café verde via seca de origem conhecida foram obtidas junto ao Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), utilizando-se café arábica da variedade Iapar-59 e conilon obtido no comércio local. A torra foi feita em um torrador marca Rod-Bel (aquecimento a gás com capacidade para 300 g) com a temperatura variando de 190 a 230°C, de 5 a 10 minutos de acordo com a variedade de café e o tipo de torra desejado. O controle foi feito por avaliação visual da cor e por medidas de perda de peso. Foram utilizados três níveis de torra, denominados “clara”, correspondente a 13 % de perda de peso da amostra; “média”, 17 % e “escura”, 20 % de perda de peso em base úmida (valores médios das análises em triplicata). Após a torra e moagem, a uma granulometria de 500 µm (peneira ABNT 35), foram feitas as misturas das espécies nas proporções 20, 30, e 50 % de café conilon ao café arábica, para todas as torras. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria à temperatura de, no máximo, 0°C, por dois meses.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

4.2.1 Análise de Umidade

A umidade das amostras de café torrado, das espécies arábica e conilon, foi determinada em equipamento de infravermelho (OHAUS-MB200) utilizando-se programação de modo normal a 105°C, por 7 minutos, considerando-se 0,01 g como diferença de perda de peso. Estudos preliminares foram efetuados com o procedimento padrão oficial utilizando estufa 105°C (AOAC, 1995) para estabelecer uma condição em que o equipamento infravermelho reproduzisse a análise obtida pela estufa (Anexo A). Os valores de umidade foram utilizados para cálculo das concentrações dos componentes de interesse em base seca.

4.2.2 Análise de cor

Para caracterização visual de cor, foram tomadas imagens digitais das amostras, acondicionadas em recipiente plástico de 1 cm de altura e 4 cm de diâmetro. Utilizou-se um escâner “ColorPage-Vivid3X EPP” (Kye International Corp.), com resolução ótica de 600X1200 pontos por polegadas acoplado a um computador com programa para edição de imagens “Presto PageManager”. Como condições de operação no escâner, foram empregadas resolução de 100, brilho 75, contraste 70 e profundidade de 24 cores (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

A análise de cor foi feita utilizando-se um colorímetro portátil Minolta

CR-10, empregando iluminante CIE D65 (luz natural do dia) colocado num ângulo de 8/d e observador padrão CIE 10°. O equipamento realizou a leitura numa área que compreende um círculo de 8 mm de diâmetro. As amostras de café foram acondicionadas no mesmo recipiente utilizado para as imagens digitais. O colorímetro forneceu 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, definida como o arco tangente da relação b^* / a^* (equação 1).

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

4.3 REAGENTES

Utilizou-se como solventes para extração e preparo da fase móvel: terc-butilmetil éter (Vetec) de grau analítico; acetonitrila (Carlo Erba) e ácido acético glacial (Synth, P.A.) 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 com membranas de 0,45 μm (Millipore) e degaseificadas, por 30 minutos antes de sua utilização, em degaseificador (Shimadzu, modelo DGU-2A).

Nas análises empregou-se padrões (de grau analítico) de ácido caféico (ácido 3,4-dihidroxicinâmico) (Sigma), ácido ferúlico (ácido 4-hidroxi-3-metoxicinâmico) (Acros Organics), ácido cumárico (ácido 4-hidroxi-cinâmico) (Sigma), ácido clorogênico

(ácido 1,3,4,5-tetrahidroxíciclohexano-carboxílico - 5-ACQ) (Sigma), ácido nicotínico (n-metilnicotinamida) (Sigma), cafeína (1,2,7-trimetilxantina) (Sigma) e trigonelina (1-metilpiridinium-3-carboxilato monohidrato) (Sigma).

Para as análises espectrofotométricas, foram utilizados ácido clorídrico (SYNTH), hidróxido de potássio (Synth), iodeto de potássio (Incasa S.A.), tiosulfato de sódio (Merc) de grau analítico.

4.4 EQUIPAMENTOS

Foi utilizado um espectrofotômetro UV-Visível GBC Cintra 20, com faixa de detecção de 190 a 1000 nm e abertura de fenda de 2 nm, para as análises espectrofotométricas.

Para a análise cromatográfica, utilizou-se um cromatógrafo a líquido (Shimadzu), constituído de um sistema de bombeamento de solvente (duas bombas modelo LC10AD) e válvula injetora Rheodyne, com alça de amostragem de 20 µL. O sistema está acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível (Shimadzu modelo SPD-10A) conectado por uma interface (CBM-101) a um microcomputador para processamento de dados.

4.5 DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ÁCIDOS CINÂMICOS, NICOTÍNICO E CLOROGÊNICOS, TRIGONELINA E CAFEÍNA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

4.5.1 Preparo de amostra

As amostras foram preparadas inicialmente conforme método sugerido por ALVES *et al.* (2003c) descrito na FIGURA IV.1. Foram testadas extrações com adição de modificador orgânico (acetonitrila) à solução de extração (água) para verificar a eficiência.

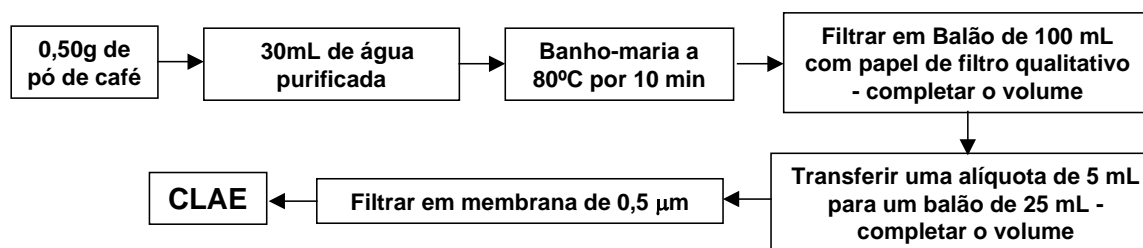


FIGURA IV.1: Condições propostas para extração das amostras de café (ALVES *et al.*, 2003c)

4.5.2 Condições cromatográficas

Inicialmente, foram empregadas para a análise de trigonelina, ácido clorogênico e cafeína, as condições cromatográficas descritas por ALVES *et al.* (2003c) (TABELA IV.1).

TABELA IV.1: Condições cromatográficas empregadas na análise de trigonelina, ácido clorogênico e cafeína (ALVES *et al.*, 2003c)

Fase Estacionária	Coluna	Spherisorb ODS 1 - 250 mm x 4,6 mm Partículas esféricas de 5 µm, 7 % de substituição, não capeada
		Coluna de guarda de C18, partícula de 5 µm
Fase Móvel	Composição	Ácido acético 5 % (A) e acetonitrila (B)
	Vazão	0,7 mL/min
	Eluição	Gradiente: 0 a 5' – 5 % B; 10' – 13 % B
Detecção	Programável	0 a 15' – 272 nm, 15' a 23' – 320 nm e de 23' até o final 272 nm
	Sensibilidade	0,008 UA
Tempo	Corrida	35 min
	Estabilização	10 min (entre corridas)
Temperatura	Ambiente (aproximadamente 25°C)	

Foi, ainda, avaliada a possibilidade de análise dos ácidos nicotínico e cinâmicos (ácidos caféico, cumárico e ferúlico), descritos na literatura como prováveis discriminadores (ANDRADE *et al.*, 1998; DAGLIA *et al.*, 1994a), em conjunto aos parâmetros já estabelecidos. Os compostos que se mostraram importantes na caracterização das amostras tiveram sua metodologia de determinação validada.

A identificação dos compostos foi feita com base nos tempos de retenção dos solutos eluídos da coluna comparados com o do padrão e empregando-se co-cromatografia. A quantificação foi feita por padronização externa, construindo-se as curvas de calibração a partir de seis concentrações em triplicata. Os teores foram convertidos em base seca utilizando os dados de umidade.

4.5.3 Validação

Para a validação, seguiram-se as recomendações da AOAC (2003), estudando-se a linearidade, repetibilidade, recuperação e sensibilidade.

A linearidade do método foi determinada pela análise em triplicata de misturas padrão em seis diferentes concentrações. Construiu-se a curva analítica para obtenção do nível de significância (p) e coeficientes lineares, angulares e de determinação (R^2).

Para determinação da repetibilidade, foram analisadas cinco extrações diferentes (0,50 g) da mesma amostra, sujeitas às mesmas condições de extração e análise, no mesmo equipamento, no menor espaço de tempo possível. Estudou-se também a repetibilidade intra-dia, avaliando-se a mesma extração da amostra (0,50 g) com cinco repetições ao longo do dia, e a repetibilidade inter-dias (precisão intermediária), analisando-se uma mistura padrão dos compostos, que foi preparada e congelada a fim de retardar processos de degradação, e injetada com intervalos de 24 horas durante 5 dias.

A recuperação foi determinada a partir da adição de uma quantidade de padrão à amostra, de forma que a concentração adicionada representasse aproximadamente 50 % da concentração inicial. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Na determinação da sensibilidade do método, o limite de detecção (LD) foi estabelecido empregando-se soluções de concentrações decrescentes até o menor nível detectável e o limite de quantificação (LQ), até o menor nível determinável com

precisão e exatidão aceitáveis. Os limites de detecção (*LD*) e de quantificação (*LQ*) foram estimados usando as equações 2 e 3 (FRANCOTTE, 1996).

$$LD = 2 C_S h_n/h_S \quad (2)$$

$$LQ = 6 C_S h_n/h_S \quad (3)$$

Onde: h_n = variação máxima do ruído no tempo de retenção do composto; h_S = altura do sinal cromatográfico; C_S = concentração injetada do analito.

O valor de h_S foi determinado pela multiplicação de h_n por um fator estabelecido de acordo com o perfil do pico cromatográfico.

4.6 ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA AVALIAÇÃO DE CAVEOL

As amostras foram inicialmente submetidas a reações colorimétricas da matéria insaponificável, que contém o caveol, com iodeto de potássio (KI) e ácido acético glacial (HAc) (ALVES *et al.*, 2003a). Após reação, foram avaliadas as absorvâncias a 290 e 630 nm, para ambas as reações (FIGURA IV.2). Nota-se que até a etapa de dissolução do extrato etéreo em ácido acético glacial, o procedimento para ambas as reações (com KI e HCl) é igual. Somente a partir desta etapa a solução contendo a matéria insaponificável é destinada à reação com o reagente específico, como mostra a FIGURA IV.3.

No método original são obtidos valores elevados de absorvância, ou seja, em regiões consideradas de grande incerteza e de difícil leitura. Para tornar o

método mais preciso e exato, uma vez que a massa inicial de amostra é pequena (0,2 g), optou-se por testar diluições do extrato após a reação com diferentes soluções ácidas e água, o que permitiria a realização das leituras de absorvância numa faixa de diluição mais adequada. Como o equipamento exige a calibração inicial com o branco (solução com todos os reagentes exceto a amostra), cada diluição testada foi também efetuada para essa solução. O valor utilizado para a análise dos resultados foi a razão entre a absorvância e a massa da amostra em base seca inicialmente submetida ao processo de extração.

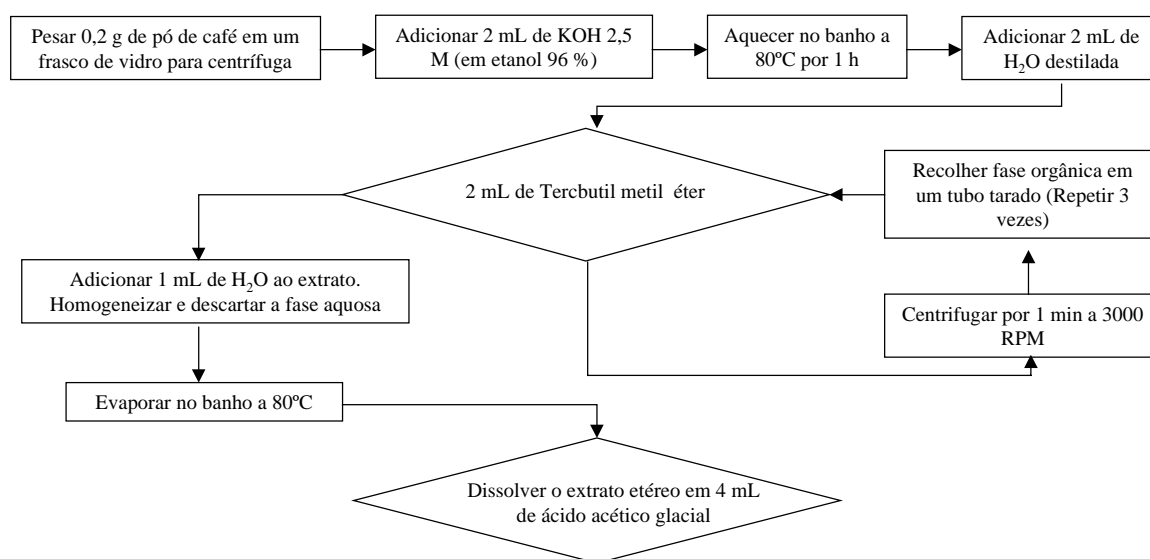


FIGURA IV.2: Fluxograma da extração da matéria insaponificável do café (ALVES *et al.*, 2003a).



FIGURA IV.3: Fluxograma das reações colorimétricas (ALVES *et al.*, 2003a).

Avaliou-se a eficiência das leituras a 290 e 630 nm para discriminação das espécies de café. Outras faixas de comprimento de onda foram, ainda, estudadas como parâmetros adicionais para caracterização das espécies de café. As reações colorimétricas foram também avaliadas pela utilização de padrão de caveol.

4.7 ANÁLISE DAS VARIEDADES E MISTURAS

Os parâmetros obtidos através das metodologias cromatográfica e espectrofotométrica e análise de cor foram utilizados para a diferenciação das espécies de café torrado conilon e arábica (Iapar 59) e misturas nas proporções 20, 30 e 50 % de conilon.

Para as análises dos dados, foi empregado um delineamento inteiramente ao acaso. Os resultados foram submetidos à análise de variância e para comparação entre as médias dos tratamentos, utilizou-se o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os tratamentos considerados foram a espécie de café (principal / parcela) e a torra (secundária / sub-parcela) em um esquema de parcelas subdivididas, utilizando o

programa SISVAR (Sistema de Análise de Variância de Dados Balanceados) (SISVAR, 2004). Quando a interação espécie (espécies puras ou misturas) x intensidade de torra foi significativa ($p \leq 0,05$), indicou que as espécies sofreram efeitos diferentes em relação à torra, e assim, o efeito da torra em cada espécie foi estudado separadamente. Se a interação não foi significativa, as espécies se comportaram de maneira semelhante em relação à torra e as comparações foram feitas com as médias gerais das espécies em cada torra e com as médias gerais das torras em cada espécie. O esquema empregado para análise de variância para parcela subdividida encontra-se no Anexo B.

Também foi aplicada estatística Multivariada para a interpretação dos resultados, empregando-se Análise de Componentes Principais e Análise de Agrupamentos. Para isto, foram utilizados os procedimentos “Multivariate Exploratory Techniques” – “Cluster Analysis” e “Principal Components & Classification Analysis”, do programa computacional Statistica 6.0 (STATSOFT, 2001). Os dendrogramas foram obtidos por estratégia de agrupamento não-ponderado aos pares e considerando-se a distância euclidiana como coeficiente de semelhança.

O grau de torra e a espécie de café foram expressos pela porcentagem de perda de peso (13, 17 e 20 %) e porcentagem da espécie conilon (0, 20, 30, 50, 100 %), respectivamente. Os modelos que correlacionam a torra e a espécie, em função dos parâmetros estudados, foram feitos empregando-se regressões multilíneas pelo procedimento “Multiple linear regression” do programa Statistica 6.0 (STATSOFT, 2001). O melhor ajuste para cada caso foi escolhido baseado na análise de resíduos, coeficiente de determinação e nível de significância da correlação. Para a definição dos parâmetros do modelo empregou-se os métodos “Forward stepwise” ou “Para frente” e “Backward stepwise” ou “Para trás”.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras torradas de café arábica e conilon foram caracterizadas por medidas de umidade e cor.

A umidade variou de 3,3 a 1,8 g/100 g para o café arábica e de 2,6 a 1,7 g/100 g para o café conilon, considerando-se os diferentes níveis de torra (TABELA V.1).

TABELA V.1 – Umidade* (g/100 g) dos cafés das espécies arábica e conilon submetidos a diferentes torras.

Espécies \ Torra	Clara	Média	Escura
Arábica	3,3 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1
Conilon	2,6 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,7 ± 0,0

*Média de duas repetições ± desvio padrão

Na comparação visual da cor e aparência das amostras, (FIGURA V.1) pode-se verificar diferenças de cor entre as espécies de café e níveis de torra aplicados.

Na avaliação instrumental, dentro de cada nível de torra (mesma porcentagem de perda de peso), as amostras de conilon mostraram-se mais claras que as de café arábica. Para todas as amostras, a luminosidade diminuiu com o aumento do nível de torra (TABELA V.2), mas observou-se interação entre as variáveis, torra e espécie.



FIGURA V.1 – Cafés arábica e conilon de torras claras, média e escura (13, 17 e 20 % de perda de peso).

TABELA V.2 – Luminosidade* dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura
A 100 %	28,0 ^{A,d} ± 0,4	15,9 ^{B,c} ± 0,4	13,0 ^{C,b} ± 0,4
C 20 %	31,0 ^{A,c} ± 0,6	17,9 ^{B,b} ± 0,4	13,4 ^{C,b} ± 0,3
C 30%	29,3 ^{A,bc} ± 0,5	17,9 ^{B,b} ± 0,4	13,5 ^{C,b} ± 0,2
C 50 %	31,3 ^{A,b} ± 0,7	18,4 ^{B,b} ± 0,3	13,8 ^{C,b} ± 0,4
C 100 %	37,6 ^{A,a} ± 0,3	24,7 ^{B,a} ± 0,4	17,4 ^{C,a} ± 0,4

*Médias de três repetições ± desvio padrão.

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

As diferenças de L* entre espécies e misturas, que nas torras mais claras foram relativamente mais acentuadas, diminuíram conforme a torra foi aplicada

com maior intensidade. Na torra escura, apenas o conilon 100 % se diferenciou das amostras de arábica e misturas até 50% (TABELA V.2).

Os parâmetros a^* e b^* foram medidos instrumentalmente. Optou-se, no entanto, pelo emprego de tonalidade cromática (H^*), que permitiu uma avaliação em conjunto dos tons amarelo e vermelho e melhor discriminação entre espécies e torra (TABELA V.3).

TABELA V.3 – Tonalidade cromática* dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura
A 100 %	57,4 ^{A,c} ± 0,1	45,1 ^{B,d} ± 0,4	41,6 ^{C,d} ± 1,0
C 20 %	58,0 ^{A,c} ± 0,3	47,8 ^{B,c} ± 0,2	41,2 ^{C,d} ± 0,3
C 30%	58,6 ^{A,bc} ± 1,2	48,3 ^{B,c} ± 0,3	43,0 ^{C,c} ± 0,6
C 50 %	59,8 ^{A,b} ± 0,2	50,7 ^{B,b} ± 0,3	44,9 ^{C,b} ± 0,2
C 100 %	62,7 ^{A,a} ± 0,2	56,0 ^{B,a} ± 0,2	48,6 ^{C,a} ± 0,2

*Médias de três repetições ± desvio padrão.

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

Com o aumento da intensidade de torra, as amostras tornaram-se mais vermelhas (redução no valor de H^*). Amostras com maiores teores de conilon mostraram-se mais amareladas, independentemente da torra, mas observou-se interação entre os parâmetros espécie e torra. Para a tonalidade cromática, ao contrário do observado para luminosidade, constatou-se melhor discriminação entre espécies e misturas nas torras média e escura (TABELA V.3).

MONTEIRO *et al.* (2002), para amostras de café arábica com 14 a 17 % de perda de peso, relataram valores de L de 6,5 a 11, inferiores aos obtidos nesse trabalho. No geral, os valores observados foram próximos aos dados descritos na maior

parte dos trabalhos encontrados na literatura. Para café arábica, BORGES *et al.* (2002) descreve para torra caracterizada como de aquecimento alto, com tempos de 5 a 10 minutos, variação de L* de 20 a 37 e de H* de 35 a 55. Para café conilon, MENDES *et al.* (2001) cita para um processo otimizado de torra (225 a 330°C, 22 a 28 minutos), considerando-se a aceitabilidade sensorial, valores de 37 a 41 para L* e 50 a 57 para H*.

O modelo que correlaciona o grau de torra (expresso em porcentagem de perda de peso das amostras - %PP) em função de parâmetros de cor (L* e H*) foi calculado utilizando uma regressão multilinear obtendo-se bom ajuste (R^2 ajustado = 0,83) (Equação 4).

$$\%PP = 27,10 - 0,26 L^* - 0,10 H^* \quad (4)$$

R^2 ajustado = 0,83; N = 15; $p < 0,001$

A partir da equação 4 e TABELAS V.2 e V.3, é possível verificar que o parâmetro L* tem a maior influência para a classificação das amostras pelo grau de torra e a variação de L* é cerca de 2 vezes maior que a variação de H*. Notou-se que os dois parâmetros de cor diminuíram a porcentagem de perda de peso das amostras, ou seja, quanto menor a luminosidade e tonalidade cromática do café analisado, maior a %PP indicando torra mais intensa do café.

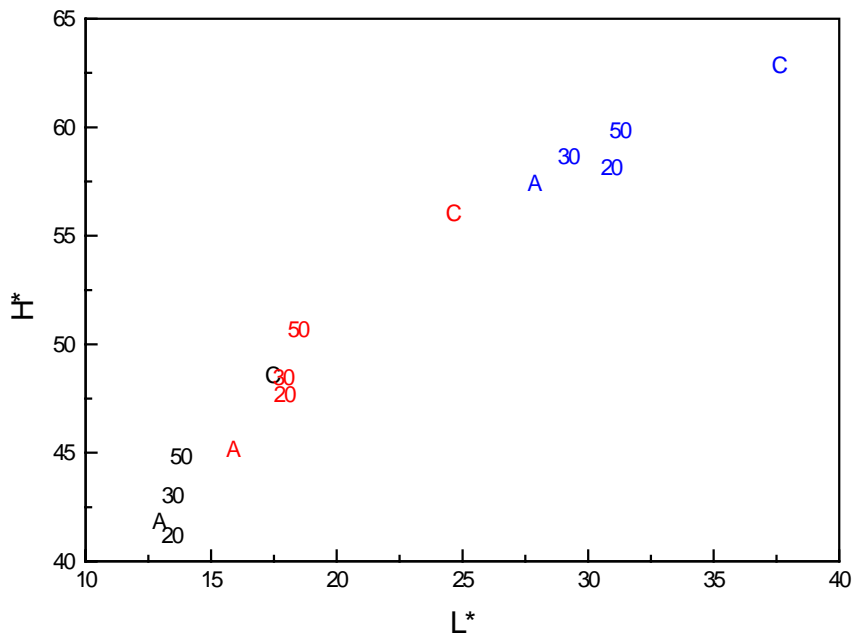


FIGURA V.2 - Luminosidade (L^*) e tonalidade cromática (H^*) em cafés arábica (A) e conilon (C) e misturas com diferentes níveis de torra.

Cor indica intensidade de torra: **clara**, **média**, **escura**. Números indicam mistura: 20, 30 e 50 % de conilon ao arábica.

Mesmo avaliando-se em conjunto os dois parâmetros, pode-se observar a dificuldade de se caracterizar o grau de torra das espécies e misturas pela cor: o aumento na intensidade de torra leva à redução dos valores de L^* e H^* e, a adição de conilon ao arábica, orienta-se na direção contrária (FIGURA V.2). Assim, considerando-se cafés de espécies distintas, mas com a mesma porcentagem de perda de peso na torra, uma mistura com maior proporção de café conilon seria semelhante, em termos de luminosidade e tonalidade cromática, ao café arábica puro ou com menor porcentagem de conilon menos torrado.

5.2 METODOLOGIA CROMATOGRÁFICA

5.2.1 Estudo Das Condições De Extração

O método proposto por ALVES *et al.* (2003b) para preparo de amostra utilizava 30 mL de água a 80°C como solvente extrator. Porém, tendo-se em vista o interesse em aumentar a eficiência na separação cromatográfica e identificar outros compostos para discriminação, decidiu-se verificar o efeito da adição de acetonitrila (MeCN), nas proporções de 1, 2 e 5 %, na eficiência de extração. A acetonitrila é também componente da fase móvel posteriormente utilizada no processo cromatográfico, na proporção de 5%, sendo portanto possível utilizar até essa proporção na solução extratora.

TABELA V.4 – Áreas* obtidas a partir dos cromatogramas dos extratos de amostra 100 % arábica de torra clara, com água e acetonitrila 5 % como componentes extratores.

Compostos \ Extratores**	Água	Acetonitrila 5 %
Trigonelina	596436 ^a ± 20156	617246 ^a ± 29909
5-ACQ	3353428 ^a ± 67463	3521523 ^a ± 94394
Cafeína	2545094 ^a ± 59096	2606078 ^a ± 105438

*Médias de três repetições ± desvio padrão

**Letras distintas nas linhas indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Não foi observada, no entanto, diferença na eficiência para a extração de trigonelina, 5-ACQ e cafeína, compostos estudados por ALVES *et al.* (2003c), utilizando como solução de extração água e acetonitrila 5 % (TABELA V.4).

A extração com solução de MeCN 5 % resultou num cromatograma com picos mais agudos (maior eficiência) e de melhor separação dos picos da trigonelina e ácido nicotínico (maior seletividade). Além disso, tendo em vista que a solução de extração tinha a mesma proporção de modificador orgânico da fase móvel, observou-se melhor repetibilidade no perfil cromatográfico.

A FIGURA V.3 mostra o cromatograma para amostra 100 % arábica de torra clara, empregando-se extração com solução de MeCN 5 %.

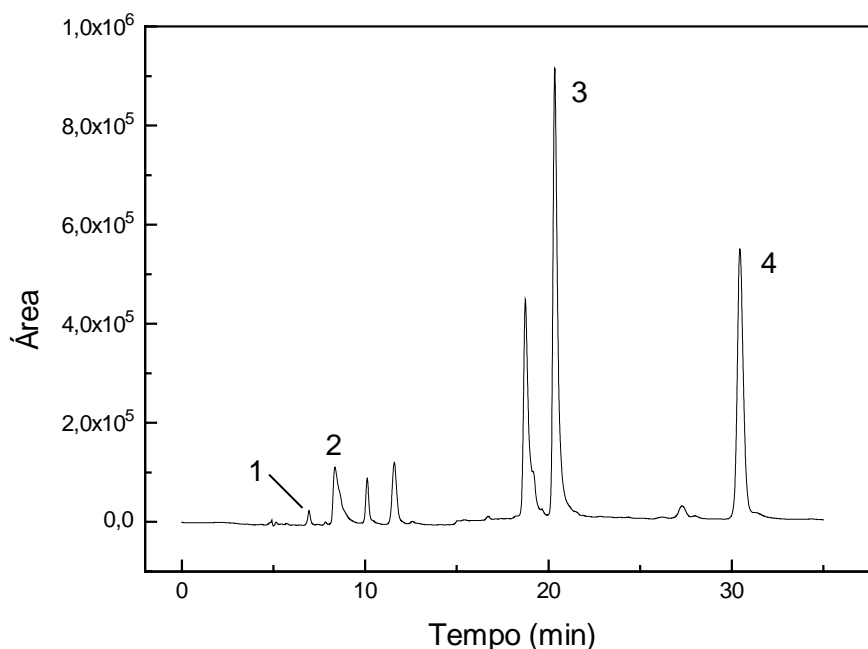


FIGURA V.3: Cromatograma do extrato de amostra 100 % arábica de torra clara, com 5 % de acetonitrila como componente extrator.

Picos: ácido nicotínico (1), trigonelina (2), 5-ACQ (3), cafeína (4). **Condições:** coluna Spherisorb ODS-1 (Phase Separations), 4,6mm x 250mm, partículas esféricas de 5 μ m. Fase móvel: gradiente HAc 5% (A) e MeCN (B),: 0 a 5' – 5% B; 10' até o final 13% B, vazão: 0,7 mL.min⁻¹. **Deteção:** 0 a 15' – 272 nm, 15' a 23' – 320 nm e de 23' até o final 272 nm.

Considerando a melhora no perfil cromatográfico, optou-se por fazer as extrações das amostras de café utilizando solução de 5 % de acetonitrila, alterando-se o método proposto por ALVES *et al.* (2003b) (item IV.5.1).

5.2.2 Escolha dos parâmetros a serem avaliados

Inicialmente, um dos objetivos do trabalho foi verificar o acréscimo de eficiência na discriminação das espécies de café da inclusão de novos parâmetros de diferenciação ao método cromatográfico (ALVES, 2004). Foram avaliados como discriminadores os ácidos nicotínico e cinâmicos (ácido caféico, ferúlico e cumárico), em conjunto com aqueles já estabelecidos (cafeína, trigonelina e 5-ACQ). A FIGURA V.4 apresenta o cromatograma de mistura padrão desses compostos, podendo-se observar que a metodologia permite a separação e detecção simultânea.

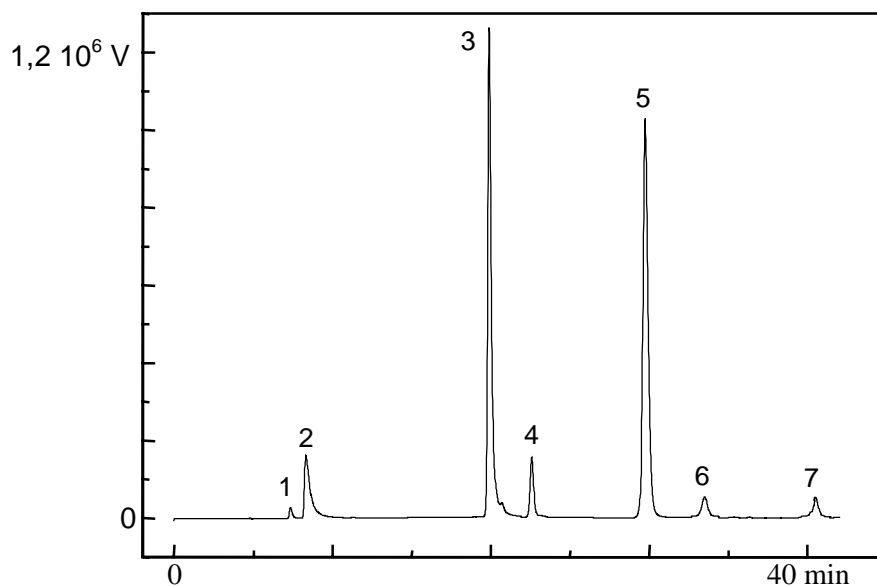


FIGURA V.4 - Cromatograma de mistura padrão de ácido nicotínico (1), trigonelina (2), 5-ACQ (3), ácido caféico (4), cafeína (5), ácido ferúlico (6) e ácido cumárico (7).

Condições: Coluna Spherisorb ODS-1, 4,6mm x 250mm, 5 μ m. Fase móvel: gradiente de ácido acético 5% (A) e MeCN (B), 0 a 5' – 5% B; 10' até o final 13% B, vazão: 0,7 mL.min⁻¹. **Deteção:** 0 a 15' – 272 nm, 15' a 23' – 320 nm e, de 23' até o final, 272 nm.

Foi possível verificar, pelos cromatogramas obtidos inicialmente, que a extração (determinada no item V.2.1) e as condições cromatográficas utilizadas foram eficientes para a determinação de ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ e cafeína nos níveis de torra e nas espécies de café estudadas (FIGURA V.5).

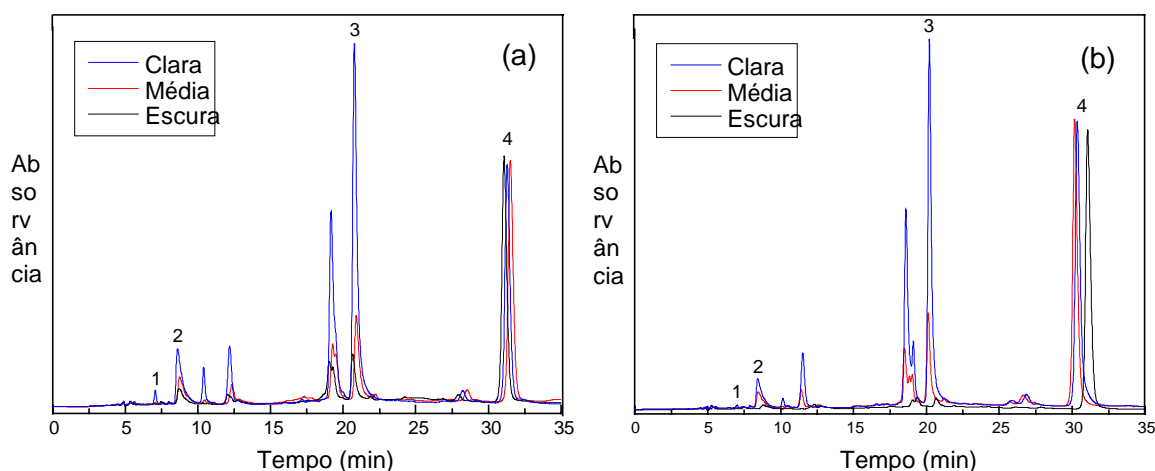


FIGURA V.5.- Cromatogramas de café arábica (a) e conilon (b) com diferentes graus de torra.

Picos: ac. nicotínico(1), trigonelina(2), 5-ACQ(3), cafeína(4). Condições: Coluna Spherisorb ODS-1, 4,6 x 250 mm, 5 µm. Fase móvel: gradiente ac. acético 5% (A) e MeCN (B), 0 a 5'–5%B; 10'– 13%B, vazão: 0,7 mL.min⁻¹. Detecção: 0 a 15' –272nm, 15' a 23'–320nm e, de 23' até final, 272nm.

Pode-se observar no cromatograma, entre os tempos de retenção da trigonelina e 5-ACQ, alguns outros picos que aparecem nas duas espécies em todos os graus de torra estudados. Esses compostos apresentam comportamento cromatográfico e perfil espectrofotométrico semelhante, sendo provavelmente produtos de degradação de trigonelina e 5-ACQ, isômeros ou não (FIGURA V.5).

Apesar da grande variabilidade observada para os teores de ácido nicotínico nas amostras de café submetidas a diferentes torras, foi possível a

quantificação deste composto, uma vez que as concentrações obtidas foram sempre superiores ao limite de detecção do método (item V.2.4).

Porém, nas condições de torra empregadas, não foi possível a detecção dos componentes cinâmicos (ácido caféico, ferúlico e cumárico).

Desta forma, os parâmetros cromatográficos definidos para o estudo da discriminação entre espécies empregando-se diferentes torras foram o ácido nicotínico, a trigonelina, o 5-ACQ e a cafeína.

5.2.3 Quantificação dos compostos

Na TABELA V.5 estão as concentrações de ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ e cafeína das soluções padrões utilizadas para a construção das curvas de calibração. Os valores limites foram estabelecidos por ensaios prévios com padrões e amostras das duas espécies de café com diferentes torras, comparando-se as áreas dos picos, e avaliando-se dados da literatura. Desta forma, as faixas de concentrações dos padrões deveriam abranger a menor e maior concentração do composto nas amostras em estudo.

TABELA V.5 - Concentrações (mg.L^{-1}) de padrões de ácido nicotínico, trigonelina, cafeína e 5-ACQ usadas na construção das curvas analíticas.

Compostos	Mistura 1	Mistura 2	Mistura 3	Mistura 4	Mistura 5	Mistura 6
Ac. Nicotínico	0,10	0,32	0,54	0,76	0,98	1,20
Trigonelina	1,00	3,20	5,40	7,60	9,80	12,00
5 – ACQ	0,20	4,56	8,92	13,28	17,64	22,00
Cafeína	10,00	13,00	16,00	19,00	22,00	25,00

Na FIGURA V.6 pode-se observar que as curvas foram lineares, para os quatro compostos, dentro das faixas de concentração estudadas.

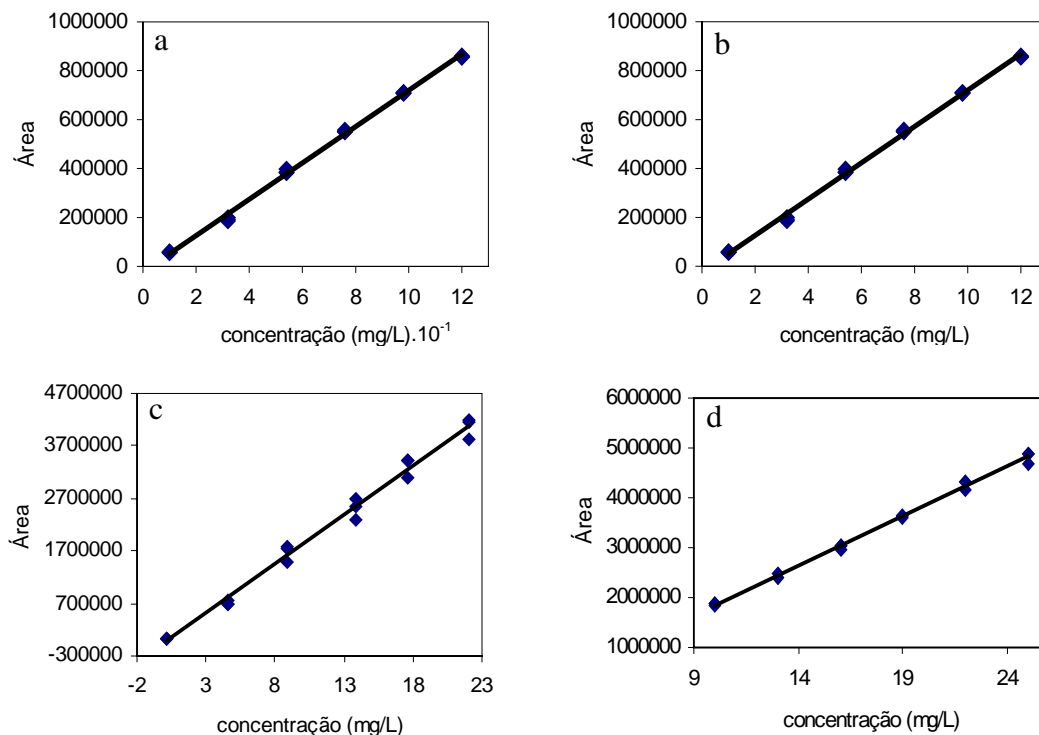


FIGURA V.6 – Curvas analíticas para ácido nicotínico (a), trigonelina (b), 5-ACQ (c) e cafeína (d).

Os coeficientes angular (A) e linear (B) para as retas de equação $y=Ax+B$, coeficiente de determinação (R^2) e os intervalos de concentração e de massa, que estabelecem as faixas de linearidade estudadas nas curvas analíticas, estão na TABELA V.6.

TABELA V.6 - Parâmetros da reta ($y=Ax+B$) para as curvas analíticas de ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ e cafeína.

Compostos	Intervalo de massa (μg)	Intervalo de conc. (mg.L^{-1})	A (área.L.mg^{-1})	B (área)	R ^{2*}
Ác. Nicotínico	0,002 - 0,024	0,10 - 1,20	62644 \pm 613	-1019 \pm 817	0,997
Trigonelina	0,02 - 0,24	1,00 - 12,0	74249 \pm 868	-22799 \pm 6519	0,998
5 - ACQ	0,004 - 0,44	0,20 - 22,0	187926 \pm 4677	-54830 \pm 62930	0,995
Cafeína	0,20 - 0,5	10,0 - 25,0	198559 \pm 2761	-138895 \pm 50353	0,998

A: coeficiente angular, B: coeficiente linear, R²: coeficiente de determinação.

* $p < 0,001$, $n = 18$ (6 concentrações com 3 repetições).

Observou-se para as curvas analíticas de todos os compostos, boas correlações com alto nível de significância ($R^2 \geq 0,95$, $p < 0,001$) (TABELA V.6).

Na TABELA V.7 encontram-se os tempos de retenção para 15 injeções de mistura padrão de ácido nicotínico, trigonelina, 5-ACQ e cafeína ao longo de vários dias. Observou-se que a variabilidade dos tempos no método proposto foi pequena ($CV < 2\%$).

TABELA V.7 - Tempos de retenção (t_R) para mistura padrão de ácido nicotínico, trigonelina, cafeína e 5-ACQ.

Compostos	t_R (min)*	CV (%)
Ácido nicotínico	7,5 \pm 0,1	0,8
Trigonelina	8,3 \pm 0,2	1,9
5 - ACQ	20,2 \pm 0,4	1,9
Cafeína	28,6 \pm 0,5	1,7

*Média de 15 análises \pm desvio padrão. CV(%): coeficiente de variação em porcentagem.

5.2.4 Validação do método para o ácido nicotínico

Além do estudo da linearidade (item V.2.3), avaliou-se a precisão, exatidão e sensibilidade da metodologia para o ácido nicotínico.

Para os testes de repetibilidade entre extrações e intra-dia foram analisadas extratos de amostras reais de café e, para a repetibilidade entre dias (precisão intermediária), soluções com padrão do ácido nicotínico, como descrito no item IV.5.3. A média, desvio padrão e os coeficientes de variação (CV) para estes estudos estão apresentados na TABELA V.8.

Os valores de CV (%) mostram uma boa repetibilidade do método (TABELA V.8). Porém, na literatura não são encontrados trabalhos que mostrem a validação de métodos de determinação do ácido nicotínico, não sendo possível a comparação de dados.

TABELA V.8 - Valores de média (g/100 g), desvio padrão (S) e coeficiente de variação em porcentagem (CV%)* em ensaios de repetibilidade para o ácido nicotínico.

Precisão	Média*	S	CV%
Entre-extrações*	0,020	0,001	6,4
Intra-dia**	0,025	0,001	4,8
Entre-dia***	0,0308	0,0006	2,1

*Correspondente a 5 injeções, uma de cada extração de amostra, em triplicata.

**Correspondente a 5 injeções subsequentes de mesma extração de amostra, em triplicata.

***Correspondente a 5 injeções seqüenciadas de mistura padrão, uma por dia, em triplicata.

Para exemplificar, os CVs (%) obtidos para os ensaios de precisão para trigonelina, cafeína e 5-ACQ com as mesmas condições cromatográficas não ultrapassou 5 % para todos os compostos (ALVES, 2004). Na literatura são relatados

para café torrado valores de repetibilidade de 1,3 % e 1,1 % para a trigonelina e cafeína, respectivamente (CASAL *et al.*, 1998).

Foi observada recuperação média de 89 % (CV = 1,6 %) para o ácido nicotínico, mas não se encontrou dados desse composto na literatura para comparação. Para os outros compostos analisados, os valores de recuperação variaram de 95 a 104 % (ALVES, 2004). Em trabalhos que utilizaram condições de extração semelhantes, são descritos valores de recuperação no café torrado de 74 % a 103% para cafeína, trigonelina e 5-ACQ (CHAMBEL *et al.*, 1997; CASAL *et al.*, 1998; NOGUEIRA *et al.*, 2000).

Os limites de detecção e quantificação do sistema cromatográfico para ácido nicotínico foram calculados conforme as equações 2 e 3 do item IV.5.3. Como na literatura é citado apenas que h_s necessita ser de duas a dez vezes maior que h_n , optou-se por trabalhar com um valor correspondente a 10 vezes para o ácido nicotínico, que apresentava menor absorvidade e pior resolução que os outros compostos analisados.

Observou-se valores de LD e LQ de $0,01 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $0,028 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Não são relatados dados da literatura para o ácido nicotínico que possam ser comparados. Para a mesma condição cromatográfica observou-se valores para cafeína, trigonelina e 5-ACQ de no máximo $0,15 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (LD) e $0,45 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (LQ) (ALVES, 2004).

5.3 METODOLOGIA ESPECTROFOMÉTRICA

Alterações relacionadas a diluição e comprimento de onda de leitura foram feitas no método espectrofotométrico original, sugerido por ALVES *et al.* (2003a), para que se atingisse uma maior eficiência nas medidas espectrofotométricas das reações estudadas.

5.3.1 Testes de diluição

Foram efetuados testes de diluição (QUADRO V.1) com os produtos das reações colorimétricas com KI e HCl (item IV.6). As diluições foram estabelecidas de acordo com o perfil do pico e com a leitura de absorvância obtidos nos espectrogramas (FIGURA V.7).

QUADRO V.1: Diluições testadas para reações colorimétricas da matéria insaponificável do café torrado.

	Reação com KI	Reação com HCl
1	Água 50 %	Água 30 %
2	1:5 com HAc* glacial	1:5 com HAc glacial
3	1:3 com HAc 50 %**	1:5 com HAc 50 %

*O ácido acético (HAc) glacial tem concentração de 37 %.

**Solução 50 % a partir do HAc glacial, ou seja, com concentração de 18,5 %.

Observa-se claramente na FIGURA V.7 que o perfil das curvas espectrofotométricas é influenciado pela solução diluente. Para ambas as reações, a diluição com água não resultou em curvas com picos definidos próximos aos

comprimentos de onda estudados. A água adicionada ao HAc glacial também não mostrou eficiência na diluição para as curvas da reação com HCl, pois, aparentemente, houve um efeito nivelador nos picos da curva. O melhor resultado obtido foi por diluição 1:5 com ácido acético glacial, onde o pico em 615 nm foi mais bem definido e a absorvância máxima estava na região onde teoricamente o erro de leitura é considerado mínimo (SKOOG *et al.* 2002). Para a reação com KI, a solução de ácido acético 50 %, ou seja, metade do volume de água e metade de HAc glacial, mostrou-se a mais eficiente como diluente, dentre as soluções testadas. A proporção 1:3 deslocou o cume do pico para absorvâncias menores que 1 (FIGURA V.7).

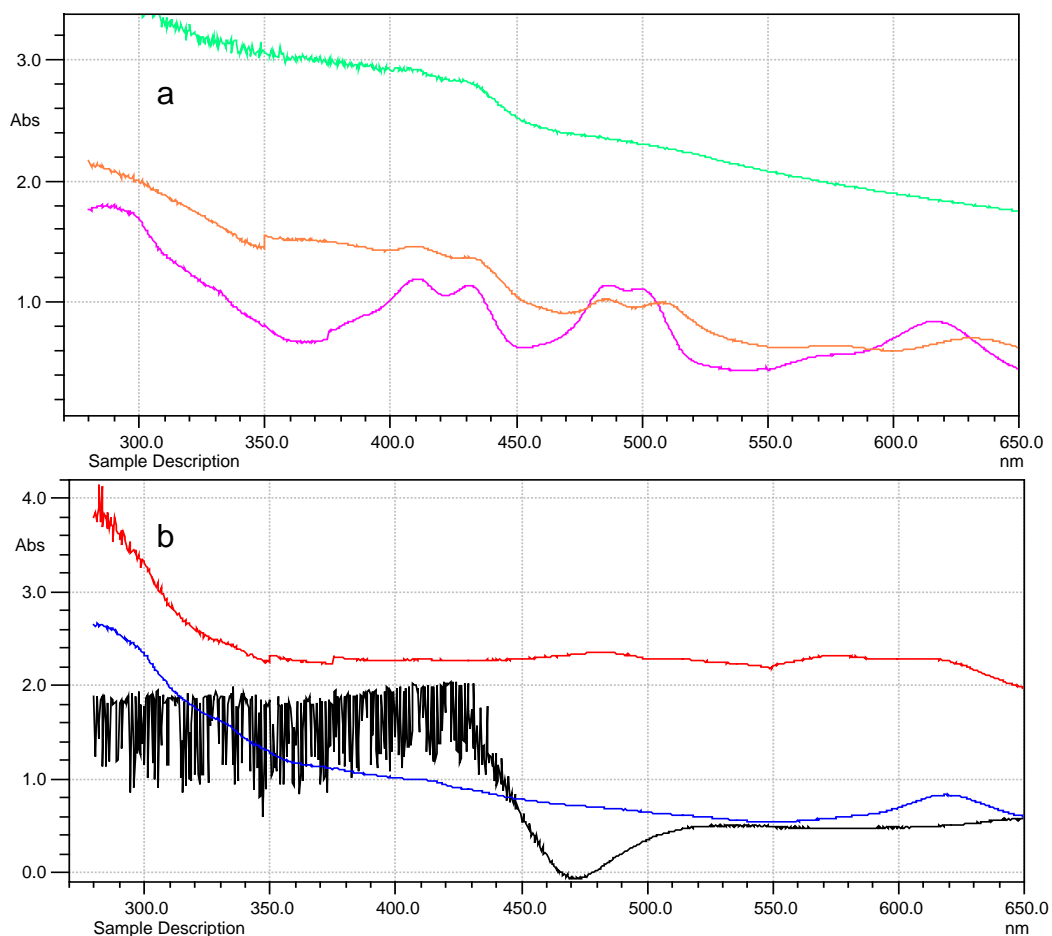


FIGURA V.7: Espectrogramas das soluções obtidas pela reação colorimétrica da matéria insaponificável da amostra de café 100 % arábica de torra média com HCl (a) e KI (b) empregando diferentes diluentes.

Cor indica tipo de diluição: (a) H_2O 30 %; 1:5 com HAc 50 %; 1:5 com HAc glacial. (b) H_2O 50 %; 1:5 com HAc glacial; 1:3 com HAc 50 %.

Uma vez definidas as proporções e soluções de diluição, foram feitas, na seqüência, comparações para as reações com KI e HCl entre os espectrogramas das soluções concentradas, que foram obtidas pelo método original de ALVES *et al.* (2003a), com as diluições escolhidas (FIGURAS V.8 e V.9).

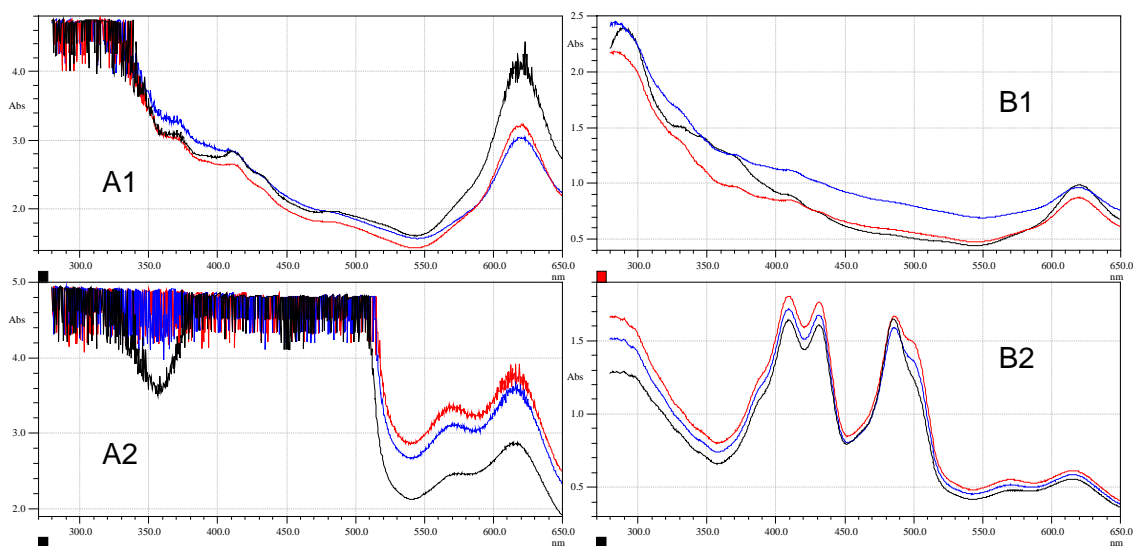


FIGURA V.8: Espectrogramas de comparação das soluções concentrada (A) e diluída (B) para reações com KI (1) e HCl (2) para amostra 100 % arábica.

Cor indica nível de torra: clara, média, escura.

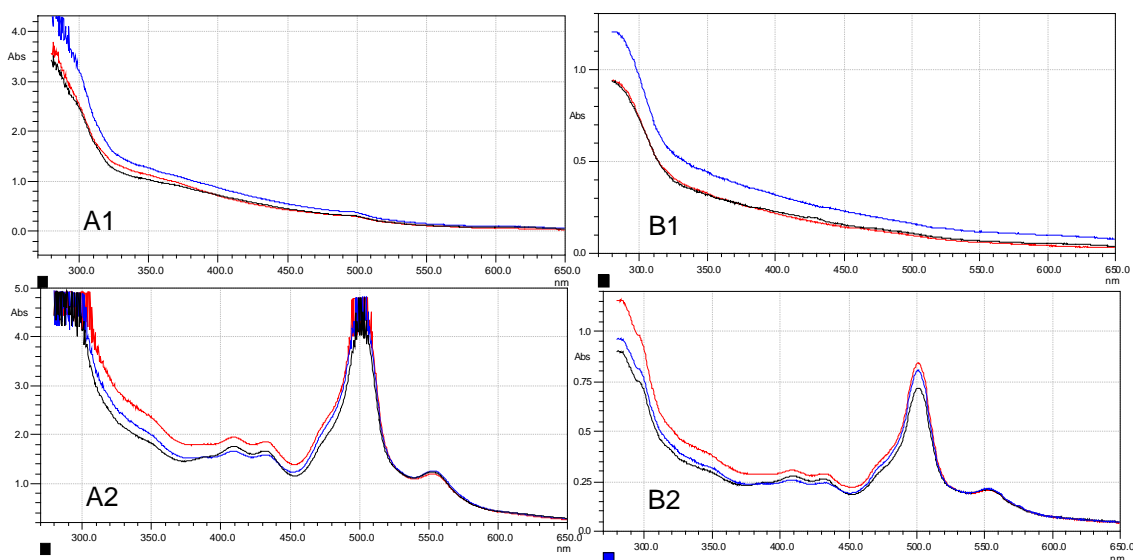


FIGURA V.9: Espectrogramas de comparação das soluções concentrada (A) e diluída (B) para reações com KI (1) e HCl (2) para amostra 100 % conilon.

Cor indica nível de torra: clara, média, escura.

Pequenas diferenças nas curvas dos espectros podem ser observadas provavelmente devido a variações no peso das amostras utilizadas na extração. Porém,

para a análise numérica dos resultados, os valores de absorvância foram corrigidos com relação à massa inicial de amostra.

As diluições determinadas para as análises espectrofotométricas mostraram-se adequadas e foram obtidos resultados satisfatórios para todas as amostras estudadas. Observou-se também que apesar dos diferentes graus de torra empregados, a limpeza do extrato mostrou-se eficiente, não se constatando interferência de produtos da torra nos espectros.

Além da vantagem de se realizar a leitura numa faixa de absorvância mais adequada, a diluição permitiu avaliar que o comprimento de onda (λ) de 630 nm proposto por ALVES *et al.* (2003a) não era o λ de máxima absorvância para as reações. Desta forma, definiram-se os λ de 615 e 620 nm para as reações com HCl e KI, respectivamente (FIGURA V.8 e V.9).

Para a reação com HCl, após a diluição, além do λ a 615 nm, observou-se picos a 408 e 431 nm, somente para a espécie arábica (FIGURA V.8 - B2). Constatou-se também nos espectros de arábica um pico característico na região de 480 a 500 nm (FIGURA V.8 – B2), no entanto, como para a espécie conilon também se observava no espectro um pico a 500 nm (FIGURA V.9 – B2), esse parâmetro não foi considerado para o estudo de discriminação.

No trabalho original de WURZIGER (1985) havia sido também, proposta a leitura em 290 nm (λ de maior absorvância do caveol) para discriminação entre espécies. ALVES *et al.* (2003a) verificaram que as leituras a 290 nm apresentavam menor repetibilidade do que a 630 nm e que esse parâmetro mostrou-se menos relevante na caracterização das amostras.

Com as diluições estabelecidas para os extratos, observou-se um espectro mais definido na faixa de leitura de 290 nm. No entanto, devido à baixa repetibilidade e possibilidade de ocorrência de interferentes, optou-se por avaliar somente os comprimentos de onda associados aos produtos de reação (FIGURA V.8 e V.9).

Com a utilização de um padrão comercial de caveol foi possível confirmar a efetividade da reação deste composto com os reagentes KI e HCl, propostos por ALVES (2004) (FIGURA V.10). Pode-se observar no detalhe da figura que o produto da reação de caveol com KI absorve em um λ de 620 nm e, quando a reação é com HCl, o produto mostra um pico de absorvância em 615 nm.

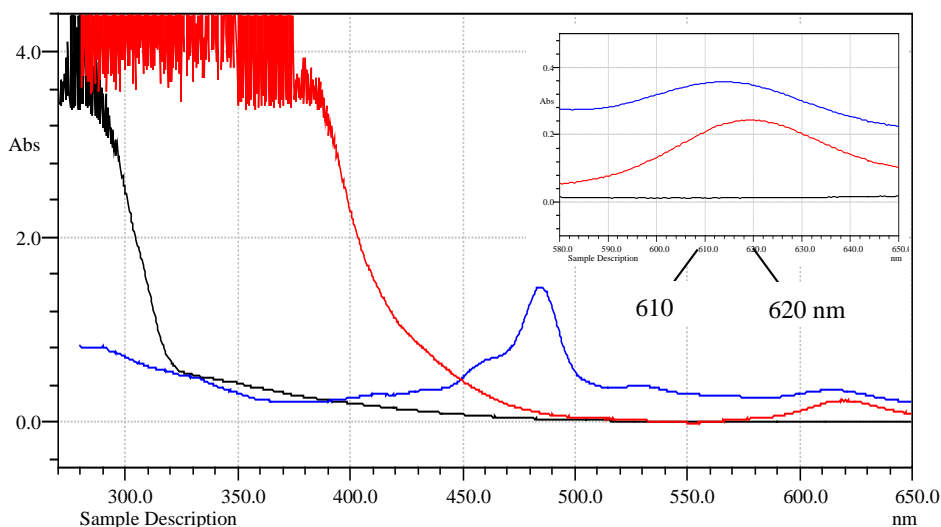


FIGURA V.10: Espectrograma de padrão de caveol: sem reação e diluição, **reação com HCl e diluição 1:2 com HAc glacial** e **reação com KI e diluição 1:2 com HAc 50 % do glacial**. O detalhe é a ampliação da região do pico de absorvância do produto de reação.

Comparando-se a reação com o padrão com a realizada após extração da matéria insaponificável (que contém o caveol) das amostras arábica e conilon

torradas nos três níveis, e submetendo-se às mesmas condições de reação e diluição, obteve-se semelhante perfil de espectrogramas, indicando que as duas reações (KI e HCl) estavam efetivamente ocorrendo com o caveol.

O fato de a metodologia espectrofotométrica ter apresentado perfil similar para as amostras independentemente do nível de torra, deve-se provavelmente à boa estabilidade do caveol ao aquecimento (KURZROCK & SPEER, 2001). LAGO (2001) cita em sua revisão sobre lipídios em café que o caveol e cafestol, componentes diterpênicos, têm grande estabilidade à torrefação, mas podem formar dehidroderivados em pequenas quantidades ao final do processo. URGERT *et al.* (1995) avaliaram o comportamento de cafestol e caveol em espécie arábica de torras intensas (até 26,5 % de perda de peso) e concluíram que a torra não reduz a concentração destes compostos.

5.3.2 Comparação entre as amostras

As curvas espectrofotométricas para as amostras de espécies de café torrado conilon e arábica e misturas foram comparadas, observando-se um perfil característico para as amostras das duas espécies (FIGURA V.11). Pode-se observar visualmente que a adição de conilon ao arábica diminuiu a intensidade de absorvância em 615 e 620 nm, para as reações com HCl e KI, respectivamente. Isto indicou, portanto, a menor concentração de caveol na espécie conilon, como descrito em trabalhos da literatura (KURZROCK & SPEER, 2001; LAGO, 2001).

Esses resultados indicam que os picos de absorvância a 615, 408 e 431 nm (reação com HCl) e 620 nm (reação com KI), poderiam ser considerados como parâmetros auxiliares na caracterização das espécies de café. No entanto, somente a análise dos dados de absorvância (item V.4.1) permite verificar a real contribuição de cada parâmetro na discriminação de cafés arábica, conilon e misturas.

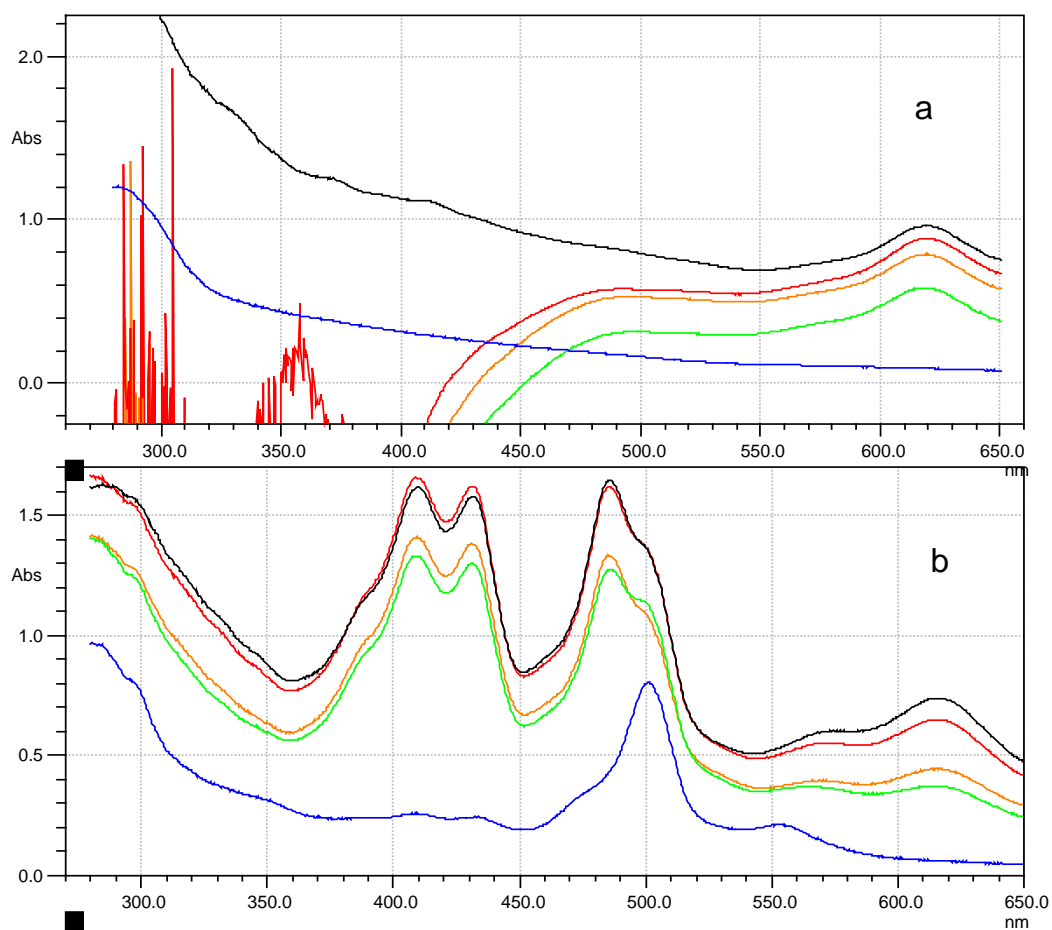


FIGURA V.11: Espectrogramas das reações colorimétricas com KI (a) e HCl (b) da matéria insaponificável de amostras de café de torra média.

Cor indica amostra: arábica 100 %; 20 % conilon ; 30 % conilon; 50 % conilon; conilon 100 %.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES SUBMETIDAS A DIFERENTES TORRAS

Após análise das amostras pelas metodologias cromatográfica e espectrofotométrica, avaliou-se o comportamento com relação à estabilidade ao processo de torra dos parâmetros escolhidos como possíveis variáveis para discriminação entre as espécies.

5.4.1 Parâmetros cromatográficos: trigonelina, ácido nicotínico, 5-ACQ e cafeína

Os teores de ácido clorogênico (5-ACQ) nos cafés arábica e conilon variaram na faixa de 1,8 a 2 g/100 g na torra clara e de 0,09 a 0,26 g/100 g na torra escura (TABELA V.9).

TABELA V.9 – Teores de 5-ACQ* (g/100 g) dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura
A 100 %	1,786 ^{A,c*} ± 0,056	0,475 ^{B,a} ± 0,021	0,263 ^{C,a} ± 0,010
C 20 %	1,854 ^{A,bc} ± 0,040	0,499 ^{B,a} ± 0,011	0,249 ^{C,a} ± 0,002
C 30%	1,871 ^{A,bc} ± 0,003	0,511 ^{B,a} ± 0,016	0,211 ^{C,a} ± 0,002
C 50 %	1,953 ^{A,ab} ± 0,078	0,574 ^{B,a} ± 0,013	0,172 ^{C,b} ± 0,001
C 100 %	2,015 ^{A,a} ± 0,081	0,518 ^{B,a} ± 0,029	0,094 ^{C,b} ± 0,000

*Médias de duas repetições ± desvio padrão.

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

A literatura descreve variação significativa no teor de 5-ACQ em diferentes espécies e origens de café e durante o processo de torra. Os valores

encontrados estão dentro da faixa descrita. TRUGO & MACRAE (1984) relatam teores que variam de 0,1 a 1,21 g/100 g e 0,05 a 1,39 g/100 g de 5-ACQ para os cafés do tipo arábica e conilon, respectivamente, torrados em diferentes graus. DAGLIA *et al.* (1994), avaliando amostras de café torrado de diferentes origens geográficas, obtiveram valores no intervalo de 0,14 (Costa Rica) a 2,17 g/100 g (Guatemala) para a espécie arábica. Para a espécie arábica brasileira, foi relatada menor variação: de 0,32 a 2,03 g/100 g. Os valores de 5-ACQ para café conilon variaram de 0,08 (Indonésia) a 3,04 g/100 g (Costa do Marfim). Estudando as espécies arábica, da variedade Iapar 59, e conilon, de torra correspondente a 17 % de perda de peso das amostras, ALVES (2004) observou para 5-ACQ pouca variabilidade entre as espécies: média de 0,22 g/100 g para o conilon e 0,25 g/100 g para o arábica.

Na literatura, estudos sobre mecanismos e cinética de degradação do ácido clorogênico durante o processo de torra têm sido descritos, mas os trabalhos concentram-se na espécie arábica (LELOUP *et al.*, 1995).

Para o ácido clorogênico (5-ACQ), foi observada interação entre a intensidade de torra e a espécie de café (TABELA V.9). Para todas as amostras, à medida que o grau de torra se elevou, o teor de 5-ACQ diminuiu. Na torra clara, observou-se maior teor de 5-ACQ para o café conilon, que usualmente é descrito na literatura como apresentando concentração mais alta desse componente no grão verde (DE MARIA & MOREIRA, 2004). No entanto, quando foram analisadas as espécies em cada grau de torra, observaram-se comportamentos variados. Na torra média, não se observou diferença, ou seja, a concentração de 5-ACQ não variou com a espécie e, na torra mais intensa, teores menores foram encontrados em amostras com maior proporção de café conilon. Assim, constatou-se que o 5-ACQ, comparando-se as duas

espécies em torras com a mesma perda de peso, foi mais sensível à degradação na matriz de café conilon.

TRUGO & MACRAE (1984) descreveram comportamento semelhante ao observado nesse trabalho, quando estudaram as duas espécies. Relataram níveis mais altos, para 5-ACQ e total de ácido cafeoilquínicos, em café conilon verde e de torra clara (205°C, 7 min) em contraste com os teores mais altos observados para café arábica na torra escura (205°C, 13 min).

O 5-ACQ mostrou-se mais eficiente para discriminação entre espécies na torra escura: houve diferença dos teores de 5-ACQ entre o grupo de amostras arábica 100% até mistura 30 % de conilon e o outro grupo, formado por mistura 50 % e 100 % conilon (TABELA V.9).

Com relação à trigonelina, o café arábica apresentou teores mais altos que o conilon e observou-se decréscimo com a torra. Em todos os casos, com o aumento da proporção de conilon e da intensidade de torra, a quantidade de trigonelina diminuiu, variando de 0,928 g/100 g no arábica de torra clara até 0,119 g/100 g no conilon torra escura (TABELA V.10).

TABELA V.10 – Teores de trigonelina* (g/100 g) dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura
A 100 %	0,928 ^{A,a} ± 0,005	0,489 ^{B,a} ± 0,007	0,297 ^{C,a} ± 0,010
C 20 %	0,894 ^{A,b} ± 0,007	0,462 ^{B,a} ± 0,009	0,262 ^{C,b} ± 0,001
C 30%	0,863 ^{A,b} ± 0,004	0,458 ^{B,a} ± 0,022	0,239 ^{C,bc} ± 0,005
C 50 %	0,865 ^{A,c} ± 0,032	0,456 ^{B,a} ± 0,005	0,206 ^{C,c} ± 0,002
C 100 %	0,683 ^{A,d} ± 0,011	0,380 ^{B,b} ± 0,015	0,119 ^{C,d} ± 0,003

*Médias de duas repetições ± desvio padrão.

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

Além da grande variabilidade nos teores de trigonelina observados em cafés verdes de diferentes procedências (MAZZAFERA, 1991), a literatura enfatiza que a estabilidade desse composto seria muito influenciada pela temperatura, e em amostras de café ou em sistemas modelo, sua concentração diminui com o aquecimento (VIANI & HORMAN, 1974; TRUGO, 1999; KY *et al.*, 2001; MINAMISAWA *et al.*, 2004). CASAL *et al.* (2000a) monitorou a torra de cafés pelo controle de temperatura e tempo e medidas de perda de peso das amostras. No ensaio onde foi mantido o tempo de torra em 15 min e variou-se a temperatura, foi constatado que a concentração de trigonelina diminuiu conforme se elevou o grau de torra: em café conilon houve variação de 0,632 até 0,097 g/100 g, do café verde ao mais torrado (240°C) e para o café arábica a variação para as mesmas condições foi de 0,89 a 0,049 g/100 g.

As concentrações determinadas por DAGLIA *et al.* (1994a) variaram de 0,531 a 0,990 g/100 g, para arábica com torra correspondente a 13,5 % de perda de peso, e de 0,080 a 0,446 g/100 g, para conilon de torra mais intensa (20 % de perda de peso), para cafés de diversos países.

Para amostras de mesma origem geográfica e grau de torra semelhante encontrou-se na literatura resultados próximos aos observados (TABELA V.10). ALVES (2004) verificou para amostras com aproximadamente 17 % de perda de peso na torra: 0,434 g/100 g para arábica lapar-59 e 0,311 g/100 g para conilon. MORI *et al.* (2003) relata que a concentração de trigonelina em variedades de cafés torrados comerciais (16 a 17 % de perda de peso; 185 a 210°C por 13-15 min) de diferentes estados

brasileiros variou entre 0,6 a 1,3 g/100 g para o café arábica e 0,3 a 0,9 g/100 g para o conilon.

Considerando-se torras com a mesma perda de peso, observou-se que a trigonelina também foi mais sensível à degradação na matriz de café conilon: houve redução em torno de 3 vezes para arábica e superior a 5 vezes para conilon, comparando-se torras clara e escura (TABELA V.10). A velocidade de degradação da trigonelina variou com a torra diferentemente para cada espécie de café estudada, como também verificado por CASAL *et al.* (2000a). Para o arábica, o teor de trigonelina diminuiu mais rapidamente da torra clara para a média. No café conilon, a degradação da trigonelina ocorreu com maior intensidade da torra média para a escura. (TABELA V.10).

Como as diferenças de concentração de trigonelina entre espécies foram menores na torra média (discriminação apenas entre arábica e conilon 100%), provavelmente esse parâmetro seria mais eficiente na discriminação em torra mais claras e escuras.

O ácido nicotínico, principal produto de degradação térmica da trigonelina, é formado durante o processo de torra (VIANI e HORMAN, 1974; TRUGO *et al.*, 1999). Observou-se que, nas condições de torra empregadas, esse composto foi também degradado à medida que se elevou o nível de torra, em ambas as espécies estudadas (TABELA V.11).

CASAL *et al.* (2000a) relataram um comportamento diferenciado para o ácido nicotínico, monitorando a torra pelo controle de temperatura (140 a 240°C) e tempo (5 a 20 min). Observaram para cafés arábica e conilon, na faixa de 17 a 23 % de perda de peso, um aumento no teor de ácido nicotínico. Os autores relataram que a

máxima concentração do composto para o arábica (0,017 g/100 g) e conilon (0,013 g/100 g) foi obtida em uma condição de torra de 240°C por 15 minutos. Porém, esta quantidade foi diminuindo conforme o tempo de torra aumentou, até 20 minutos. TAGUCHI *et al.* (1985) também descreveram um máximo de concentração de ácido nicotínico na torra a 220°C por 25 min, com queda posterior na concentração observada.

DAGLIA *et al.* (1994), trabalhando com cafés arábica e conilon numa faixa de perda de peso de 11 a 20 %, descrevem um comportamento mais parecido com observado nesse trabalho. O teor máximo de ácido nicotínico foi observado na torra com 11 % de perda de peso e com o aumento de intensidade de torra, a concentração foi reduzida. Nas amostras com 20 % de perda de peso, o maior teor observado foi de 0,02 g/100 g e, para várias amostras não foi detectado ácido nicotínico nesse grau de torra.

Observou-se que a adição de café conilon ao arábica reduziu significativamente o teor de ácido nicotínico nas amostras de torra clara, mostrando-se um discriminador eficiente nessa condição. Na torra escura, a diferença na concentração de ácido nicotínico foi apenas constatada entre conilon 100 %, onde não foi detectada a presença desse composto, e as demais amostras (TABELA V.11). Para o nível de torra médio, não foram observadas diferenças nos teores de ácido nicotínico entre as diferentes espécies e misturas.

TABELA V.11 – Teores de ácido nicotínico* (g/100 g) dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura
A 100 %	0,0910 ^{A,a} ± 0,0012	0,0120 ^{B,a} ± 0,0002	0,0095 ^{B,a} ± 0,0005
C 20 %	0,0715 ^{A,b} ± 0,0012	0,0110 ^{B,a} ± 0,0015	0,0090 ^{B,a} ± 0,0001
C 30%	0,0720 ^{A,b} ± 0,0043	0,0110 ^{B,a} ± 0,0002	0,0075 ^{B,a} ± 0,0005
C 50 %	0,0625 ^{A,c} ± 0,0011	0,0120 ^{B,a} ± 0,0004	0,0070 ^{C,a} ± 0,0000
C 100 %	0,0320 ^{A,d} ± 0,0002	0,0085 ^{B,a} ± 0,0004	0,0000 ^{C,b} ± 0,0000

*Médias de duas repetições ± desvio padrão.

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

O ácido nicotínico mostrou-se menos eficiente que o 5-ACQ e trigonelina (TABELAS V.9 e 10) para discriminação entre torras. Para a espécie arábica e mistura de conilon até 30 %, não se observou diferença nos teores de ácido nicotínico comparando-se torras média e escura. Para as amostras 50 % e 100 % conilon, constatou-se diferença na concentração de ácido nicotínico nas três torras, evidenciando novamente a maior susceptibilidade a torra dos componentes na matriz do café conilon (TABELA V.11).

Analisando-se a TABELA V.11, verificou-se que o ácido nicotínico seria mais eficiente na discriminação das espécies em amostras de torra clara, onde existem diferenças maiores de concentração entre os cafés arábica e conilon.

Comparando-se o desempenho de 5-ACQ, trigonelina e ácido nicotínico para a caracterização das espécies arábica e conilon, pode-se observar que a instabilidade à torra dificulta o emprego desses parâmetros como discriminadores. No entanto, trigonelina e ácido nicotínico tinham como vantagem o fato de apresentarem um comportamento similar: encontravam-se sempre em maior quantidade no café arábica, considerando-se qualquer grau de torra. A eficiência na discriminação seria

diferenciada em cada torra, mas esses parâmetros poderiam ser empregados para amostras e misturas torradas em diferentes graus. Nas condições de torra estudadas, não se observa o mesmo para o 5-ACQ: uma maior concentração de ácido clorogênico poderia estar associada a um teor mais alto tanto de café arábica quanto de conilon, dependendo do grau de torra considerado. Para os três compostos, trigonelina, 5-ACQ e ácido nicotínico, a menor diferença de concentrações nas espécies analisadas foi observada na torra média, sugerindo, desta forma, que nesse grau de torra a discriminação das espécies utilizando-se esses parâmetros seria mais difícil.

A cafeína apresentou estabilidade nas diferentes torras empregadas em ambas as espécies. Os resultados indicam a maior concentração deste alcalóide nas amostras com maior teor de conilon, independentemente do nível de torra (TABELA V.12). Desta forma, para a cafeína, não existe interação entre as variáveis primária e secundária analisadas, indicando que sua concentração depende apenas da proporção de café arábica ou conilon, podendo ser considerada uma importante ferramenta de discriminação das espécies em estudo em todos os graus de torra avaliados.

TABELA V.12 – Teores de cafeína* (g/100 g) dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura	Média dos Valores
A 100 %	1,33 ± 0,02	1,35 ± 0,05	1,36 ± 0,06	1,35 ^d ± 0,02
C 20 %	1,53 ± 0,05	1,51 ± 0,00	1,52 ± 0,06	1,52 ^c ± 0,02
C 30%	1,62 ± 0,06	1,55 ± 0,07	1,57 ± 0,01	1,58 ^c ± 0,04
C 50 %	1,82 ± 0,11	1,79 ± 0,04	1,78 ± 0,06	1,79 ^b ± 0,02
C 100 %	2,25 ± 0,13	2,10 ± 0,14	2,20 ± 0,05	2,18 ^a ± 0,08
Média dos Valores	1,71 ^A ± 0,35	1,66 ^A ± 0,30	1,69 ^A ± 0,32	

*Médias de duas repetições ± desvio padrão.

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

Vários trabalhos enfatizam a importância da cafeína como diferenciador de espécies de café em função da grande estabilidade ao aquecimento e pela presença em diferentes concentrações nas espécies: maiores teores são sempre relatados para a espécie conilon (ALVES, 2004; KY *et al.*, 2001; CASAL *et al.*, 2000b; TRUGO *et al.*, 2000; CAMARGO & TOLEDO, 1998). Foram descritos por DAGLIA *et al.* (1994a), para cafés de diferentes origens e graus de torra, concentração de 0,88 a 1,23 g/100 g de cafeína para café arábica, e para o conilon, teores de 1,57 a 2,20 g/100 g. A variação da quantidade de cafeína em cafés torrados de diversos países, encontrada por CASAL *et al.* (2000a), foi de 1,21 a 1,61 g/100 g (arábica) e 2,08 a 2,68 g/100 g (conilon). Em trabalho anterior, os mesmos autores relataram teor de 1,24 g/100 g para o café arábica de origem brasileira (CASAL *et al.*, 1998). ALVES (2004), utilizando amostras e condições de análise semelhantes, relatou médias de 1,68 (arábica) e 2,12 g/100 g (conilon).

Analisando os dados de CASAL *et al.* (2000a), observou-se que a razão entre as concentrações de cafeína de cafés conilon (da Costa do Marfim) e arábica (do Brasil) para todos os níveis de torra testados (entre 140 e 240 °C por 15 min) resulta em 1,7, próximo ao encontrado no presente trabalho (1,6). Para ALVES (2004), o valor desta razão foi de 1,3, para amostras de torra média (com 17 % de perda de peso).

Considerando-se que, com a exceção da cafeína, para todos os parâmetros cromatográficos discriminadores estudados (5-ACQ, trigonelina e ácido nicotínico) havia interação entre a espécie e a intensidade da torra, torna-se evidente a importância de se caracterizar adequadamente o grau de torra. Uma vez que a avaliação instrumental da cor empregando os parâmetros de luminosidade e tonalidade cromática (item V.1) não se mostrou adequada, foram considerados outros critérios

descritos na literatura. Segundo VITORINO & FRANÇA (2001), o grau de torra também poderia ser avaliado pela relação entre as concentrações de 5-ACQ e cafeína. DAGLIA *et al.* (1994a), estudando amostras de café torrado, sugeriram que a soma da quantidade de ácido nicotínico e trigonelina e a razão dos teores de 5-ACQ e cafeína dependem do grau de torra do café, e poderiam ser utilizados como monitores deste processo. Assim, decidiu-se avaliar as informações obtidas por esses valores relativos (TABELA V.13 e V.14).

Observou-se que para o parâmetro de soma dos teores de ácido nicotínico e trigonelina também ocorreu interação entre as espécies e o grau de torra (TABELA V.13). Para todas as espécies e misturas observou-se diferença entre as torras estudadas, comprovando sua eficiência para discriminar os graus de torra.

TABELA V.13 – Média* da soma dos teores de ácido nicotínico e trigonelina (g/100 g) para os cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie/ torra	Clara	Média	Escura
A 100 %	1,02 ^{A,a} ± 0,01	0,50 ^{B,a} ± 0,01	0,31 ^{C,a} ± 0,01
C 20 %	0,97 ^{A,b} ± 0,01	0,47 ^{B,ab} ± 0,01	0,27 ^{C,ab} ± 0,00
C 30%	0,93 ^{A,b} ± 0,01	0,47 ^{B,b} ± 0,02	0,25 ^{C,bc} ± 0,01
C 50 %	0,87 ^{A,c} ± 0,03	0,47 ^{B,b} ± 0,01	0,21 ^{C,c} ± 0,00
C 100 %	0,72 ^{A,d} ± 0,01	0,39 ^{B,c} ± 0,02	0,12 ^{C,d} ± 0,00

*Média de 2 repetições ± desvio padrão.

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

Interessante observar que esse parâmetro foi eficiente ainda para diferenciar as espécies e misturas de café. Os valores foram menores em amostras com maior proporção de conilon e em torras mais intensas, fato que pode ser

parcialmente atribuído às diferenças de velocidade de diminuição do parâmetro de soma, que foi quase duas vezes maior para o café conilon. O intervalo geral da soma esteve entre 0,12 (conilon 100 %, torra escura) e 1,02 g/100 g (arábica 100 %, torra clara). DAGLIA *et al.* (1994a) reportou valores semelhantes para a soma de trigonelina e ácido nicotínico, que variaram entre 0,43 e 1,29 g/100 g para café arábica e entre 0,16 e 1,03 g/100 g para o conilon (amostras de diversas origens).

As maiores diferenças entre espécies empregando-se o parâmetro de soma foram observadas na torra clara e escura, seguindo o comportamento dos compostos de origem desta relação (TABELA V.13). No entanto, a discriminação obtida na torra média foi melhor do que a observada para os parâmetros trigonelina e ácido nicotínico quando estudados separadamente (TABELAS V.10 e V.11).

O emprego da soma apresentava a vantagem de se avaliar os resultados através de apenas um parâmetro e obter melhor discriminação que a observada para os compostos individualmente.

Na torra menos intensa (13 % de perda de peso), a soma dos teores de ácido nicotínico e trigonelina permitiria desconsiderar em parte o efeito do tratamento térmico na conversão da trigonelina em nicotínico, combinando a capacidade de discriminação entre as espécies dos dois parâmetros, que é adequada nesse grau de torra.

Com o aumento da intensidade no processo de torra, deve-se considerar não só a reação de degradação da trigonelina em ácido nicotínico como também a degradação térmica do próprio ácido nicotínico. Como os dois compostos apresentam velocidade de degradação mais intensa no café conilon, quando se

comparam as espécies em torras com mesma perda de peso, a soma dos parâmetros evidencia a diferença entre espécies, aumentando a capacidade de discriminação.

A razão entre os teores de 5-ACQ e cafeína também apresentou interação entre espécie e torra (TABELA V.14).

TABELA V.14 – Média* da razão entre os teores de 5-ACQ e cafeína para os cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie/ torra	Clara	Média	Escura
A 100 %	1,34 ^{A,a} ± 0,02	0,35 ^{B,a} ± 0,00	0,19 ^{C,a} ± 0,00
C 20 %	1,21 ^{A,b} ± 0,01	0,33 ^{B,a} ± 0,01	0,16 ^{C,ab} ± 0,01
C 30%	1,16 ^{A,c} ± 0,04	0,33 ^{B,a} ± 0,00	0,13 ^{C,bc} ± 0,00
C 50 %	1,08 ^{A,d} ± 0,02	0,32 ^{B,a} ± 0,01	0,10 ^{C,c} ± 0,00
C 100 %	0,90 ^{A,e} ± 0,01	0,25 ^{B,a} ± 0,00	0,04 ^{C,d} ± 0,00

*Média de 2 repetições ± desvio padrão.

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

Quanto maior a intensidade de torra, menores foram os valores da razão para todas as amostras. Para a torra média não foi observada discriminação, mas para a torra escura, o emprego da razão foi adequado para diferenciar as espécies. Na torra clara, as diferenças deste parâmetro foram mais nítidas, observando-se melhor discriminação entre espécies do que verificado para cada parâmetro individualmente (TABELAS V.9, V.12 e V.14).

Notou-se que o decréscimo desta relação foi mais intenso para o café conilon (cerca de 3 vezes). Os valores limites observados para o café arábica foram de 1,34, para a torra clara (maior valor encontrado) e 0,19, para a torra escura. Para o café conilon, a variação foi de 0,90 (torra clara) a 0,04 (torra escura; menor valor observado). Comparando-se com o trabalho de DAGLIA *et al.* (1994a), que avaliou amostras de

origens distintas, verifica-se coerência entre os dados: 0,13 a 1,91 para o arábica e 0,07 a 1,7 para o conilon.

O emprego da razão permitiu associar a capacidade de discriminação entre espécies, verificada para a cafeína, à diferenciação entre torras, proporcionada pelo 5-ACQ.

A utilização da razão entre os teores destes compostos implicaria na simplificação da análise dos dados, trabalhando-se com um só parâmetro e corrigindo o comportamento não linear que o 5-ACQ apresentou na comparação entre torras. A razão sempre diminuiu com o aumento da proporção de conilon e da intensidade de torra.

Considerando-se a capacidade de discriminação entre espécies, na torra clara o parâmetro mais adequado seria a razão 5-ACQ/cafeína. Para as torras média e escura, pode-se sugerir que a utilização somente dos teores de cafeína permitiria melhor caracterização das espécies e misturas (TABELAS V.9, V.12 e V.14)..

5.4.2 Parâmetros espectrofotométricos

As amostras de café torrado foram submetidas a reações colorimétricas de sua matéria insaponificável com iodeto de potássio (KI) e ácido clorídrico (HCl) empregando-se os comprimentos de onda (λ) de 620 nm para reação com KI e 408, 431 e 615 nm para reação com HCl.

A TABELA V.15 mostra que não houve interação entre as variáveis espécie de café e intensidade de torra para as leituras a 620 nm na reação com KI. Observou-se que os valores não variaram para uma mesma espécie em diferentes graus de torra, demonstrando a estabilidade do caveol ao tratamento térmico.

TABELA V.15 – Valores de Absorvância* a 620 nm para os produtos da reação colorimétrica de KI com a matéria insaponificável dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura	Média dos Valores
A 100 %	4,5 ± 0,8	4,7 ± 0,4	4,7 ± 0,4	4,7 ^a ± 0,1
C 20 %	4,1 ± 0,1	4,4 ± 0,2	3,6 ± 0,0	4,0 ^{ab} ± 0,4
C 30%	2,8 ± 1,3	4,0 ± 0,0	3,6 ± 0,1	3,5 ^b ± 0,6
C 50 %	1,6 ± 1,7	2,5 ± 0,6	1,4 ± 0,8	1,9 ^c ± 0,6
C 100 %	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,3 ^d ± 0,1
Média dos Valores	2,7 ^A ± 1,7	3,2 ^A ± 1,7	2,7 ^A ± 1,8	

*Médias de duas repetições ± desvio padrão. Valores de absorvância foram corrigidos pela massa inicial de amostra e umidade.

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

Os valores obtidos para a absorvância a 620 nm foram superiores (em torno de 16 vezes mais altos) para as amostras com maior quantidade de arábica, em concordância com a literatura que descreve que esta espécie de café possui teor de caveol maior que o conilon (KURZROCK & SPEER, 2001; LAGO, 2001; URGERT *et al.*, 1995). São descritas quantidades de caveol de 0,73 g/100 g em grãos de café arábica torrados intensamente (26 % de perda de peso). Para o café conilon, são descritos valores apenas para a quantidade total de diterpenos em grãos crus, 0,2 g/100 g (URGERT *et al.*, 1995).

O parâmetro de absorvância a 620 nm após reação com KI, permitiu discriminar amostras de café arábica puras das adicionadas com conilon a partir de 30%. A mistura 50% e o café conilon puro também foram discriminados.

Considerando-se o espectro após reação com HCl, pode-se constatar que os parâmetros 615, 408 e 431 nm apresentaram comportamento diferenciado.

Para as leituras de absorvância a 615 nm, não se observou interação entre as variáveis espécie de café e grau de torra (TABELA V.16). Porém, as amostras de torra clara apresentaram valores menores de absorvância que as de torra média. As amostras de torra escura não se diferenciaram das demais. Independentemente do grau de torra, amostras com maior proporção de conilon produziram soluções de menor absorvância (em torno de 10 vezes menor), representando de forma adequada a maior concentração de caveol na espécie arábica.

TABELA V.16 – Valores de Absorvância* a 615 nm para os produtos da reação colorimétrica de HCl com a matéria insaponificável dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura	Média dos Valores
A 100 %	2,7 ± 0,3	3,4 ± 0,5	3,3 ± 0,3	3,1 ^a ± 0,4
C 20 %	1,4 ± 0,0	2,3 ± 1,4	1,8 ± 0,4	1,8 ^b ± 0,5
C 30%	0,9 ± 0,4	2,5 ± 0,3	1,7 ± 0,1	1,7 ^b ± 0,8
C 50 %	0,3 ± 0,2	1,9 ± 0,0	0,8 ± 0,2	1,0 ^{bc} ± 0,8
C 100 %	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ^c ± 0,0
Média dos Valores	1,1 ^B ± 1,0	2,1 ^A ± 1,1	1,6 ^{A,B} ± 1,2	

*Médias de duas repetições ± desvio padrão. Valores de absorvância foram corrigidos pela massa inicial de amostra e umidade.

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

As TABELAS V.17 e V.18 mostram os resultados de absorvância a 408 nm e 431 nm, respectivamente, para reação com HCl. Apesar de não terem sido descritos anteriormente nos trabalhos que abordam essas reações (WURZIGER *et al.*, 1985; ALVES, 2004), estes comprimentos de onda foram incluídos no estudo espectrofotométrico após análise das curvas das soluções colorimétricas já diluídas. A diferença para os espectros obtidos nestes λ , atribuída a produtos da reação colorimétrica, indicou a possibilidade da utilização como ferramentas de discriminação das espécies de café estudadas (item V.3.2).

TABELA V.17 – Valores de Absorvância* a 408 nm para os produtos da reação colorimétrica de HCl com a matéria insaponificável dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura	Média dos Valores
A 100 %	8,0 ± 0,7	8,5 ± 0,4	8,6 ± 0,8	8,2 ^a ± 0,4
C 20 %	6,8 ± 0,1	7,0 ± 2,1	6,6 ± 0,4	6,6 ^{ab} ± 0,2
C 30%	6,2 ± 0,1	7,5 ± 0,5	6,4 ± 0,4	6,6 ^{ab} ± 0,7
C 50 %	5,1 ± 0,4	7,3 ± 0,6	4,8 ± 0,1	5,6 ^b ± 1,3
C 100 %	1,2 ± 0,4	1,4 ± 0,0	1,4 ± 0,2	1,3 ^c ± 0,2
Média dos Valores	5,3 ^B ± 2,5	6,2 ^A ± 2,8	5,5 ^B ± 2,6	

*Médias de duas repetições ± desvio padrão. Valores de absorvância foram corrigidos pela massa inicial de amostra e umidade.

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

TABELA V.18 – Valores de Absorvância* a 431 nm para os produtos da reação colorimétrica de HCl com a matéria insaponificável dos cafés das espécies arábica (A) e conilon (C) e misturas submetidos a diferentes torras.

Espécie \ Torra**	Clara	Média	Escura	Média dos Valores
A 100 %	7,8 ± 0,7	8,3 ± 0,4	8,4 ± 0,8	8,2 ^a ± 0,4
C 20 %	6,7 ± 0,1	6,8 ± 2,0	6,5 ± 0,4	6,7 ^{ab} ± 0,2
C 30%	6,1 ± 0,1	7,4 ± 0,5	6,2 ± 0,4	6,6 ^{ab} ± 0,7
C 50 %	5,0 ± 0,3	7,1, ± 0,6	4,7 ± 0,1	5,6 ^b ± 1,3
C 100 %	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,0	1,3 ± 0,2	1,3 ^c ± 0,1
Média dos Valores	5,3 ^B ± 2,5	6,2 ^A ± 2,7	5,4 ^B ± 2,6	

*Médias de duas repetições ± desvio padrão. Valores de absorvância foram corrigidos pela massa inicial de amostra e umidade.

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

Não houve interação entre as variáveis intensidade de torra e espécie de café para os λ 408 e 431 nm, que apresentaram comportamentos semelhantes quando os valores foram comparados dentro da mesma torra ou mesma amostra:

maiores absorvâncias foram verificadas na torra média e para amostras com maior teor de arábica (TABELAS V.16 e V.17). Para a amostra arábica 100 % foram obtidos valores de absorvância em torno de 6 vezes maiores do que os observados para o conilon.

Observou-se porém que, para esses dois parâmetros, a discriminação só ocorria entre a amostra de café conilon 100 % e as demais. Assim, os parâmetros mostraram-se adequados na caracterização das espécies puras, mas não acrescentariam eficiência a discriminação já observada pelas leituras a 615 nm (HCl) e 620 nm (KI), descartando-se seu emprego.

Como as duas reações (KI e HCl) e a leitura nos diferentes λ tinham como objetivo a avaliação do caveol, considerou-se que seria interessante o uso de apenas uma reação, sem que informações importantes fossem descartadas.

A reação com HCl apresentaria a vantagem de obter um espectro bem diferenciado entre espécies e misturas (FIGURA V.11). No entanto, para utilização dos valores de absorvância, os resultados apresentados pela reação com HCl (leitura a 615 nm) tinham menor relevância para a discriminação das espécies dentro de cada torra quando comparado com os resultados da reação com KI (620 nm). Além disso, o procedimento laboratorial para a reação com HCl oferecia maiores riscos de acidentes e à salubridade do analista, principalmente na etapa de diluição para leitura no espectrofotômetro.

O método de regressão linear permitiu verificar que o parâmetro KI620 poderia ser útil para uma análise primária, ou como método de triagem para

determinação da espécie de café, por ter apresentado capacidade de discriminação, e por se estar utilizando apenas um parâmetro (equação 7).

$$\text{Espécie (\%C)} = 97,91 - 20,23 \text{ KI620} \quad (7)$$

R^2 ajustado = 0,91; N = 15; $p < 0,001$.

A equação 7 mostra que amostras que produzirem soluções de maior absorvância a 620 nm para a reação de sua matéria insaponificável com KI, contêm maior proporção de café arábica. Este fato é explicado pela concentração de caveol (componente da matéria insaponificável) ser superior na espécie de café arábica (cerca de 0,7 % mesmo após torra intensa) e menor no café conilon (inferior a 0,2 % nos grãos verdes) (URGERT *et al.*, 1995; SPEER *et al.*, 1991).

Desta forma, o estudo dos resultados subseqüentes foi efetuado apenas para a reação colorimétrica com o reagente iodeto de potássio, simplificando as análises.

5.5 DISCRIMINAÇÃO DAS ESPÉCIES E MISTURAS E GRAUS DE TORRA

Para uma avaliação em conjunto da capacidade de discriminação das variáveis obtidas pelas metodologias espectrofotométrica, cromatográfica e parâmetros de cor, empregou-se Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise de Agrupamentos (AA).

A maior porcentagem de explicação e a melhor discriminação foram obtidas substituindo-se os parâmetros individuais ácido nicotínico e trigonelina pelo

valor da soma. Assim, as variáveis KI620, SOMA, 5-ACQ, cafeína, L* e H*, foram escolhidas para a avaliação por análise multivariada. A primeira ($\lambda \cong 3,811$) e segunda componentes ($\lambda \cong 2,087$) explicaram em conjunto aproximadamente 98,3 % da variabilidade dos dados (FIGURAS V.12 e V.13).

As equações (5) e (6), obtidas pelos *loadings* ou autovalores das CPs, geraram as coordenadas (escores) do gráfico de componentes principais (FIGURA V.13-a).

$$CP1 = - 0,840 \text{ SOMA} - 0,993 \text{ L}^* - 0,988 \text{ H}^* + 0,348 \text{ KI620} - 0,945 \text{ ACQ} - 0,358 \text{ CAF} \quad (5)$$

$$CP2 = - 0,534 \text{ SOMA} + 0,001 \text{ L}^* + 0,067 \text{ H}^* - 0,925 \text{ KI620} - 0,288 \text{ ACQ} + 0,927 \text{ CAF} \quad (6)$$

Analisando a relevância de cada parâmetro no processo classificatório, as variáveis de maior importância no eixo horizontal (CP1) foram, em ordem crescente, L*, H*, 5-ACQ e SOMA, todos com correlação negativa, indicando que amostras alocadas mais a esquerda apresentaram maiores valores desses parâmetros. A cafeína, com correlação positiva, e KI620, com correlação negativa, foram os parâmetros com maior relevância no eixo vertical (CP2), mostrando que amostras alocadas mais para cima do gráfico de ACP possuíam maiores teores de cafeína e menor concentração de cafeol, associado ao baixo valor de absorvância a 620 nm após reação (KI620). (FIGURAS V.12 e V.13).

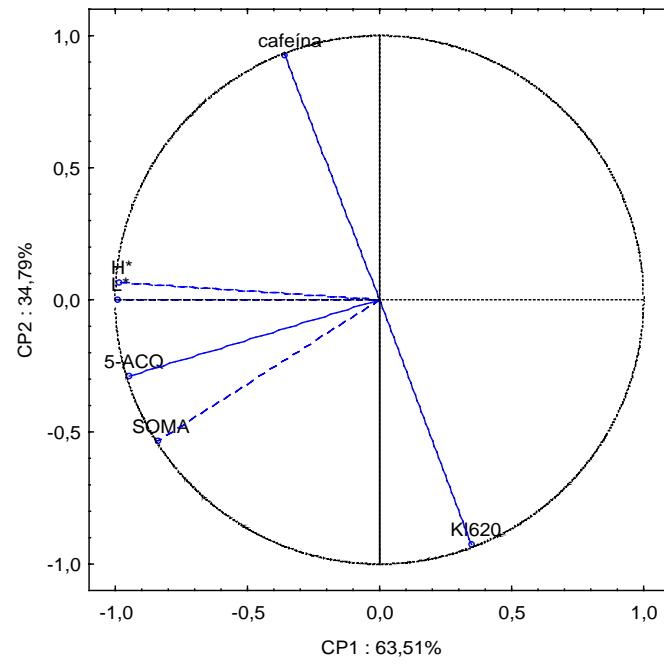
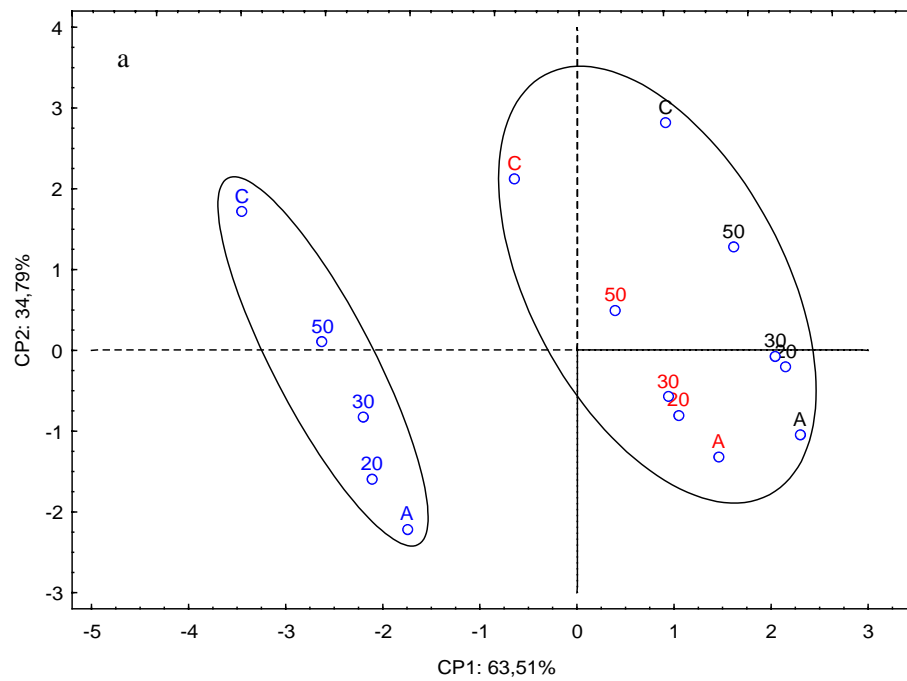


FIGURA V.12: Projeção das variáveis nas Componentes Principais 1 e 2.



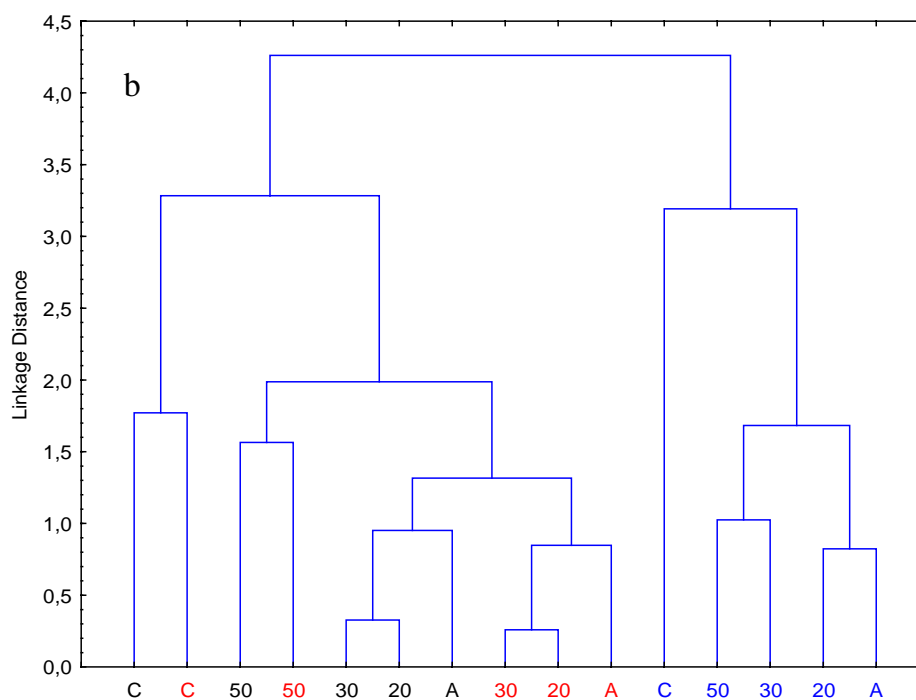


FIGURA V.13: Análise de Componentes Principais (a) e Dendrograma (b) obtidos a partir dos dados cromatográficos, espectrofotométrico e de cor das amostras de café torrado.

Cor indica intensidade de torra: **clara**, **média**, **escura**. Letras e números indicam amostra: arábica 100 % (A); misturas 20 % (20), 30 % (30) e 50 % (50) de conilon e conilon 100 % (C).

Pelo gráfico bidimensional da ACP (FIGURA V.13-a), observou-se que a diferenciação dos graus de torra é feita principalmente pela CP1, onde as variáveis de maior importância apresentaram variação (L^* e H^*) ou instabilidade à temperatura (ácido nicotínico, trigonelina e 5-ACQ) e menor variabilidade entre as espécies. Pode-se atribuir à CP2 a função de discriminação das espécies de café estudadas, observando-se que os parâmetros de maior relação com este eixo foram aqueles que possuem maior estabilidade à torra e grande diferença de valores entre as espécies (cafeína e KI620). Constatou-se, no entanto, que mesmo uma variável que apresentou

instabilidade a torra, como a soma de trigonelina e ácido nicotínico, pode contribuir para a discriminação entre as espécies.

A partir do dendrograma e gráfico bidimensional da ACP (FIGURA V.13), foi possível verificar a distinção de dois grandes grupos: (1) amostras de torra clara, (2) amostras de torras média e escura. No grupo da torra clara, as amostras de conilon se separaram das misturas 30 e 50 % e da mistura 20 % e arábica. No grupo das torras média e escura, as amostras de conilon se diferenciaram das misturas 50 % e do café arábica e misturas 20 e 30 %. O fato da torra clara ter sido melhor discriminada das demais pode ser, em parte, atribuído à diferença não linear entre os graus de torra estudados: 4 % de perda de peso das amostras da torra clara para a média e 3 % da média para a escura, implicando em maior proximidade entre amostras dos graus de torra mais intensos.

Na literatura alguns trabalhos aplicaram análise multivariada para caracterização de espécies de café. Grãos verdes de café arábica e conilon de diversas origens foram avaliados por MARTÍN *et al.* (1998a) quanto aos teores de cafeína, ácido clorogênico, trigonelina, polifenóis, extrato aquoso e aminoácidos, utilizando AA e ACP, dentre outras análises estatísticas. A primeira componente (36% da explicação), responsável pela separação entre as espécies, foi correlacionada aos parâmetros total de polifenóis, cafeína e ácidos clorogênicos.

MAEZTU *et al.* (2001) estudaram bebida de café tipo "expresso" e utilizaram análise multivariada para a caracterização e classificação das amostras (100 % arábica; mistura 80 % de conilon e 20 % arábica; mistura 50 % da amostra anterior e 50 % de conilon com adição de açúcar). CP1 e CP2 explicaram 75 % da variabilidade. A bebida de arábica 100 % foi claramente separada das misturas pela CP1. A CP2

permitiu a discriminação entre as misturas. Os parâmetros mais importantes para separar as amostras de arábica das misturas com conilon incluiu variáveis sensoriais (acidez, amargor, adstringência e sabor residual) e físico-químicas (sólidos totais, cafeína e pH).

O teor de trigonelina e cafeína foram responsáveis pela distinção das amostras de café arábica e conilon, de mesma torra e diversas origens geográficas, no estudo de CASAL *et al.* (2000b). Utilizando ACP e AA, obtiveram-se dois grupos: amostras da espécie conilon e amostras de arábica. As origens geográficas não puderam ser distinguidas. CP1 e 2 explicaram quase 100 % da variabilidade. O trabalho mostrou que maiores teores de cafeína e menores de trigonelina são relacionados a amostras de café conilon. O teor de ácido nicotínico não apresentou importância significativa para a discriminação das espécies.

Utilizando parâmetros cromatográficos e espectrofotométricos (reação com KI e HCl com a matéria insaponificável e leitura a 630 nm) semelhantes, ALVES (2004) verificou que cafeína, trigonelina, KI630, HCl630 e 5-ACQ foram importantes para discriminação de espécies arábica, conilon e misturas (5, 10, 15, 20, 25 e 50 % de conilon) para apenas um grau de torra (17 % de perda de peso). Foi possível a separação entre cafés conilon e arábica e misturas acima de 25%.

Pode-se observar que, com exceção da cafeína, não houve consenso quanto aos parâmetros mais relevantes para separação entre espécies.

Os dados de cor, espectrofotométrico e cromatográficos foram também utilizados para modelar o grau de torra e a espécie.

Os parâmetros utilizados na regressão para cálculo do grau de torra das amostras (expresso em porcentagem de perda de peso - %PP), que geraram

melhor ajuste linear (maior R^2 ajustado e menor p), foram a soma, razão, L^* e H^* (equação 8).

$$\begin{aligned} \%PP = & 26,81 - 12,12 \text{ SOMA} + 4,26 \text{ RAZÃO} - 0,13 L^* - 0,06 H^* & (8) \\ & (\pm 1,72) (\pm 1,65) & (\pm 1,17) & (\pm 0,05) & (\pm 0,06) \end{aligned}$$

R^2 ajustado = 0,995; N = 15; $p < 0,001$.

A SOMA foi a variável com maior influência sobre a estimativa da porcentagem de perda de peso das amostras. As outras variáveis, mesmo apresentando coeficientes distintos, causaram influência semelhante na avaliação do grau de torra.

Comparando-se a modelagem obtida utilizando os parâmetros de cor juntamente aos obtidos na metodologia cromatográfica, pode-se verificar uma estimativa mais eficiente do grau de torra do que a observada somente empregando-se L^* e H^* (item V.1).

Conforme citado anteriormente, DAGLIA *et al.* (1994a) e VITORINO & FRANÇA (2001), relataram que a razão entre os teores de 5-ACQ e cafeína tem variação com o grau de torra de cafés arábica e conilon, e a utilização deste parâmetro de relação poderia ser importante para o controle deste processo. A soma dos teores de trigonelina e ácido nicotínico também poderia ser usada para o mesmo propósito (DAGLIA *et al.*, 1994a). DAGLIA *et al.* (1994a e b) utilizaram modelo de regressão a partir dos parâmetros de soma e razão para prever a atividade antibacteriana, estritamente relacionada com o grau de torra das amostras de café.

O melhor ajuste da equação para modelagem da espécie de café (estimada como porcentagem de conilon - %C), foi obtido quando se utilizou as variáveis H*, trigonelina (TRIG) e cafeína (CAF) (equação 9).

$$\text{Espécie (\%C)} = - 209,30 + 3,94 \text{ H}^* - 102,55 \text{ TRIG} + 59,39 \text{ CAF} \quad (9)$$

$$(\pm 13,01) \quad (\pm 0,86) \quad (\pm 21,36) \quad (\pm 12,64)$$

R^2 ajustado = 0,994; N = 15; $p < 0,001$.

Utilizando os valores de H*, teores de trigonelina e cafeína (TABELAS V.3, V.10 e V.12, respectivamente) na equação de regressão (9), foi possível observar que o H* teve maior influência para se determinar a espécie, apesar do seu coeficiente na equação ter sido o menor. A trigonelina mostrou menor importância para a caracterização das espécies de café, mesmo com o alto coeficiente. Assim, amostras com maior quantidade de cafeína, maior valor de H* (menos avermelhadas) e de menor concentração de trigonelina apresentam proporções de conilon mais elevadas.

CONCLUSÃO

A metodologia cromatográfica foi padronizada e permitiu a separação e quantificação simultânea, em espécies de café arábica e conilon nos graus de torra estudados (13, 17 e 20 % de perda de peso), de trigonelina, ácido clorogênico, cafeína e ácido nicotínico, que foi introduzido como um potencial discriminador e teve sua metodologia validada.

Luminosidade (L^*) e tonalidade cromática (H^*) mostraram-se importantes para caracterização das amostras. A modelagem obtida utilizando os parâmetros de cor juntamente aos cromatográficos permitiu uma estimativa mais eficiente do grau de torra do que a observada somente empregando-se L^* e H^* .

Após estudo da padronização das diluições e definição dos comprimentos de onda mais adequados para avaliação das reações colorimétricas, constatou-se que a reação com KI foi mais eficiente do que a com HCl para a discriminação das espécies, permitindo identificar adição de conilon ao arábica acima de 30 %, para os graus de torra avaliados. A técnica espectrofotométrica com KI e leitura a 620 nm poderia ser utilizada como método de triagem na identificação da adição de café conilon.

Em todos os graus de torra, o café arábica foi caracterizado por maiores valores de KI620 (associado ao baixo teor de cafeol), ácido nicotínico, trigonelina e menores valores de L^* , H^* e cafeína do que o conilon.

Cafeína e KI620 foram estáveis à torra. Valores de L^* e H^* diminuíram com a torra. Os teores de ácidos nicotínico, clorogênico e trigonelina foram reduzidos com aumento da intensidade de torra, apresentando velocidade de degradação mais

intensa no café conilon, comparando-se as espécies em torras com mesma perda de peso.

A instabilidade à torra, de um modo geral, dificultou o emprego de uma variável como discriminadora. Considerando-se a utilização em separado dos parâmetros, a menor diferença entre as espécies foi observada na torra média, sugerindo que nesse grau de torra a discriminação seria mais difícil. Cafeína foi eficiente para discriminação das espécies e misturas em todas as condições estudadas. Ácido nicotínico e trigonelina podem ser utilizados como discriminadores das espécies nas torras clara e escura. O ácido clorogênico apresentou comportamento diferenciado: uma maior concentração poderia estar associada a um teor mais alto tanto de café arábica quanto de conilon, dependendo do grau de torra analisado.

Com a exceção da cafeína e do KI620, para os outros discriminadores estudados houve interação entre espécie e intensidade da torra, evidenciando a importância de caracterizar adequadamente o grau de torra.

A avaliação em conjunto utilizando-se Análise de Componentes Principais, Análise de Agrupamentos e Regressão Multilinear permitiu identificar a relevância das variáveis na caracterização das espécies e torras. L^* , H^* , a soma das concentrações de ácido nicotínico e trigonelina, e o teor de 5-ACQ ou a razão 5-ACQ/cafeína foram eficientes na discriminação do grau de torra. KI620, H^* , cafeína e trigonelina foram os parâmetros mais importantes na separação das espécies e misturas.

REFERÊNCIAS

ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café. Disponível em <http://www.abic.com.br>. Acesso em: 31 mar. 2005.

ALVES, S. T. **Desenvolvimento de metodologia analítica para diferenciação de café torrado arábica (*Coffea arabica*) e conilon (*Coffea canephora*) e misturas**. 2004. 104 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

ALVES, S. T.; SCHOLZ, M. B. D. 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, 8., 2003. Curitiba. **Anais...**, 2003a. p. 343-348.

ALVES, S. T.; SCHOLZ, M. B. S.; BENASSI, M. T. Diferenciação de misturas de café torrado, *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, empregando análise multivariada dos teores de trigonelina, ácido clorogênico e cafeína. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5., 2003. **Anais...**, Campinas, 2003b

ALVES, S. T.; SCHOLZ, M. B. S.; BENASSI, M. T. Metodologia para análise simultânea de trigonelina, ácido clorogênico e cafeína por CLAE. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5., 2003. Campinas. **Anais ...** Campinas, 2003c.

ALVES, S. T.; SCHOLZ, M. B. S.; BENASSI, M. T. Reações colorimétricas para identificação de espécies de café torrado, *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, empregando análise multivariada. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5., 2003. Campinas. **Anais ...**, 2003d.

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.anvisa.gov.br>. Acesso em: 31 mar. 2005.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16. ed. Washington: AOAC, cap. 30, p. 4-5, 1995.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 17^a ed., Association of Official Analytical Chemists: Arlington, 2003, apêndice E.

ARAUJO, J.M.A. **Química de Alimentos - Teoria e Prática**. 2 ed. Viçosa: Imprensa Universitária. 2001. 416p.

ASSAD, E. D.; SANO, E. E.; DA CUNHA, S. A. R.; CORREA, T. B. S.; RODRIGUES, H. R. Identificação de impurezas e misturas em pó de café por meio de comportamento espectral e análise de imagens digitais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 2, p. 211-216, 2002.

BVEB – Biblioteca virtual do estudante brasileiro. Disponível em <http://www.bibvirt.futuro.usp.br>. Acesso em: 05 out. 2004.

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.

BORGES, M. L. A.; FRANÇA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; CORRÊA, P. C.; GLORIA, M. B. A. Estudo da variação da coloração de café arábica durante a torra em diferentes condições de aquecimento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, n. 5, p. 3-8, 2002.

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.

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.

BUENO, S. **Minidicionário da língua portuguesa**. São Paulo: FTD, 2004. 703 p.

CAFÉ ALVORADA S. A. Disponível em: <http://www.cafealvorada.com.br>. Acesso em: 20 set. 2004.

CAFÉ IGUAÇÚ S. A. Disponível em: <http://www.iguacu.com.br/inindex.htm>. Acesso em: 06 ago. 2004.

CAFÉ DO PARANÁ. Disponível em: <http://www.pr.gov.br>. Acesso em: 01 out. 2004.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Teor de cafeína em cafés brasileiros. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n.4, p. 421-424, 1998.

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.

CARRERA, F.; LEON-CAMACHO, M.; PABLOS, F.; GONZALEZ, A. G. Authentication of green coffee varieties according to their sterolic profile. **Analytica Chimica Acta**, New York, v. 370, n. 2/3, p. 131-139, 1998.

CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. R.; SOUZA, S. M. C. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 187, p. 5-20, 1997.

CARVALHO, L. S.; NAVES, J. A.; ARAÚJO, S. L. ; PAULO, C. B. Pesquisa mercadológica para análise de consumo e preferência de marcas de café no município de Lavras. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2000, Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas, 2000. p. 357-359.

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

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

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, 2000b.

CHAMBEL, P.; OLIVEIRA, M. B.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Development of an HPLC/diode-array detector method for simultaneous determination of 5-HMF, furfural, 5-o-caffeoylquinic acid and caffeine in coffee. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, New York, v. 20, n. 18, p. 2949-2957, 1997.

COFFEE BREAK. Disponível em: <http://www.coffeebreak.com.br/ocafezal.asp?SE=6&ID=34>. Acesso em: 19 out. 2004a.

COFFEE BREAK. Disponível em: <http://www.coffeebreak.com.br/ocafezal.asp?SE=6&ID=40>. Acesso em: 19 out. 2004b.

COFFEE BREAK. Disponível em: <http://www.coffeebreak.com.br/ocafezal.asp?SE=8&ID=209>. Acesso em: 20 out. 2004c.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 31 mar. 2005.

CONSUMERES - Diário del Consumidor. Disponível em: <http://www.consumer.es/web/es/nutricion>. Acesso em: 19 out. 2004.

COOABRIEL - Cooperativa Agrária dos Cafeicultores de São Gabriel Ltda. Disponível em <http://www.cooabriel.com.br/cafbra.html>. Acesso em: 20 out. 2004.

CUNHA, A. R. S.; ASSAD, E. D.; SANO, E. E. Fraudes em Café Torrado e Moído . In: ANAIS DO X SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 2001, Foz do Iguaçu. **ANAIS...** Foz do Iguaçu, 2001, p. 35-40.

DAGLIA, M.; CUZZONI, M. T.; DECANO, C. Antibacterial activity of Coffee relationship between biological activity and chemical markers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.42, n.10, p. 2273-2277, 1994a.

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

DE MARIA, C. A. B.; TRUGO, L. C.; MIRANDA, L. S. M.; SALVADOR, E. Stability of 5-caffeoylquinic acid under different conditions of heating. **Food Research International**, Grã-Bretanha, v.31, n.6-7, p. 475-477, 1998.

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

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.

EXPOCAFÉ 2004. Disponível em <http://www.expocafe.com.br>. Acesso em: 05 ago. 2004.

FAS - Foreign Agricultural Service. World Coffee Supply and Distribution for Producing Countries, Forecast 2004/05. Horticultural and Tropical Products Division. Disponível em <http://www.fas.usda.gov/http/tropical/2004/06-04/coff0405.pdf.pdf> Acesso em: 31 mar. 2005.

FERNANDES, S. M.; PEREIRA, R. G. F. A.; NERY, F.; PINTO, N. A. V. D. Caracterização da composição química de arábica e conilon. Disponível em: <http://www.coffeebreak.com.br/ocafezal>. Acesso em: 01 out. 2004.

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

FRANCOTTE, E.; DAVATZ, A.; RICHERT, R. Development and validation of chiral high performance liquid chromatography methods for the quantitation of valsartan and of the tosylate of valinebenzyl ester. **Journal of Chromatography B**, New York, v.686, n. 1, p.77-83, 1996.

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.

IAPAR – Instituto Agrônômico do Paraná. Disponível em <http://www.pr.gov.br/iapar/cafe/iapar59.htm>>. Acesso em: 20 mar. 2005.

INCRA – Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária. Disponível em <http://www.pr.gov.br/iapar/cafe/iapar59.htm>>. Acesso em: 31 mar. 2005.

KEMSLEY, E. K.; RUAULT S.; WILSON R.H. Discrimination between *Coffea arabica* and *Coffea canephora* variant *robusta* beans using infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, Oxford, v. 54, n. 3, p. 321-326, 1995.

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.

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

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

LANDIM, P. M. B. Análise estatística de dados geológicos multivariados. Disponível em: <http://www.rc.unesp.br/igce/aplicada/textodi.htm>. Acesso em: 20 set. 2003.

LAVINE, B. K. Clustering and Classification of Analytical Data. In: **The Encyclopedia of Analytical Chemistry: Instrumentation and Applications**, John Wiley & Sons Ltd. Chichester. 2000, p. 9689-9710.

LELOUP, V.; LOUVRIER, A.; LIARDON, R. Degradation Mechanisms of Chlorogenic Acids During Roasting. In: International Scientific Colloquium on Coffee (ASIC), 16., 1995, Kyoto. **Proceedings...** Kyoto, 1995, p. 192-198

LOPES, L. M. V. **Avaliação da qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. 95 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MAEZTU, L.; ANDREZA, S.; IBANÉZ, 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.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 31 mar. 2005.

- MARTÍN, M. J; PABLOS, F; GONZÁLEZ, A. G. Application to the discrimination of roasted coffees. **Analytica Chimica Acta**, San Diego, v. 320, n. 2-3, p.191-197, 1996.
- 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.
- MARTIN, M. J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A.G. Characterization of arabica and robusta roasted coffee varieties and mixture resolution according to their metal content. **Food Chemistry**, Oxford, v.66, n.6, p. 365-370, 1999.
- MATIELLO, J. B. **O café do cultivo ao consumo**. São Paulo: Globo, 1991. 320 p.
- MAZZAFERA, P. Trigonelline in coffee. **Phytochemistry**, New York, v. 30, n. 7, p.2309-2310, 1991.
- MELLO, E. V. A cafeicultura no Brasil. In: ENCONTRO SOBRE TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE CAFÉ COM QUALIDADE, 2001, Viçosa, **Anais...** Viçosa, 2001, p. 648.
- MENDES, L. C. **Otimização do processo de torrefação do café robusta (*Coffea canephora conillon*) para formulação de blends com café arábica (*Coffea arabica*)**. 1999. 101 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - FEA-UNICAMP, 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. **Caracterização sensorial da bebida de café (*Coffea arabica* L.): análise descritiva quantitativa, análise tempo-intensidade de testes afetivos**. 2002. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.
- 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, v. 5, p. 55-59, 2002.
- MONTEIRO, M. COSTA; TRUGO, L. C. Determinação de ácidos clorogênicos em amostras comerciais de café torrado e moído. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2004, Recife. **Anais...** Recife, 2004.

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, 2001, p.1511-1517.

MORI, E. E. M.; BRAGAGNOLO, N.; MORGANO, M. A.; ANJOS, V. D. A.; YOTSUYANAGI, K.; FARIA, E. V.; IYOMASA, J. M. Brazil coffee growing regions and quality of natural, pulped natural and washed coffees. **Foods & Food Ingredients Journal of Japan**, Japão, v. 208, n. 6, p. 416-423, 2003.

NOGUEIRA, G. C.; BAGGIO, S. R.; BRAGAGNOLO, N.; MORAES, R. M.; MORI, E. E. M. Otimização da metodologia para determinação simultânea de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico em café utilizando HPLC com coluna de permeação em gel. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 1., 2000, Poços de Caldas. **Anais...** Brasília: Embrapa Café; Belo Horizonte : Minasplan, 2000, 2v., p. 646-649.

NOLLET, L. M. L. **Handbook of Food Analysis**. New York: Marcel Dekker. v.1. 1996, p.895-935.

OLIVEIRA, A. P. V.; FRASSON, K.; YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T. Medida instrumental de cor em sobremesas lácteas de chocolate: uma técnica de baixo custo e versátil utilizando câmara digital. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v.6, n.2, p. 191-196, 2003.

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

ORTOLÁ, M. D.; GUTIÉRREZ, C. L.; CHIRALT, A. Kinetic study of lipid oxidation in roasted coffee. **Food Science and Technology International**, Londres, v.4, p.67-73, 1998.

REDGWELL, R. J.; VÉRONIQUE, T.; CURTI, D.; FISHER, M. Effect of roasting on degradation and structural features of polyssaccharides in Arábica coffee beans. **Carbohydrate Research**, London, n. 5, v. 337, p.421-431, 2002.

SECRETARIA DO ESTADO DO GOVERNO DO PARANA. Disponível em: <http://www.pr.gov.br/casacivil/legislacao2.shtml>. Acesso em: 31 mar. 2005.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. TIMOTHY, A. N. **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

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.

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

SINDICAFÉ. Disponível em: <http://www.sindicafe-mg.com.br> . Acesso em: 05 ago. 2004.

SISVAR **Sistema de análise de variância de dados balanceados** - Versão 4.6
Disponível em: <http://www.dex.ufla.br/danielff>. Acesso em: 20 out. 2004.

SPEER, K.; TEWIS, R.; MONTAG, A. 16-o-methylcafestol a quality indicator for coffee. **14° Colloque da ASIC**, San Francisco, p. 237-244, 1991.

STATSOFT. **STATISTICA for Windows – Computer program manual**. Versão 6.0
Tulsa: Statsoft Inc. 2001.

TAGUCHI, H.; SAKAGUCHI, M.; SHIMABAYASHI, Y. Trigonelline content in coffee beans and the thermal conversion of trigonelline into nicotinic acid during the roasting of coffee beans. **Agricultural Biology Chemistry**, Japão, v. 49, n. 12, p.3467-3471, 1985.

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

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

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

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

TRUGO, L.C.; NOGUEIRA, M. Distribuição de isômeros de ácido clorogênico e teores de cafeína e trigonelina em cafés solúveis brasileiros. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.2, p. 296-299, 2003.

TZOUROS, N. E.; ARVANITOYANNIS, I. S. Quality control methods for the authentication of foods and application of chemometrics for the classification of foods according to their variety or geographical origin. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, New York, v. 41, n. 4, p. 287–319, 2001.

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.

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

VITORINO, M.D.; FRANÇA, A.S. Variação de características físicas e químicas de café durante a torra. In: **Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, 2., 2001, Vitória. Anais... Brasília: Embrapa Café, 2001, p. 1588-1604. (CD-ROM).

WU, X.; SKOG, K.; JÄGERSTAD, M. Trigonelline, a natural occurring constituent of green coffee beans behind the mutagenic activity of roasted coffee? **Mutation research**, London, v. 391, n. 3, p.171-177, 1997.

WURZIGER, J. Coffee oil and roast coffee quality. **Fette Seifen Anstrichmittel**, Hamburgo, v. 87, n. 2, p. 334-339, 1977.

WURZIGER, J. Evaluation of raw coffee type and processing method, on the basis of the diterpenes in coffee oils. **Fette Seifen Anstrichmittel**, Hamburgo, v. 79, n. 8, p. 82-87, 1985.

ANEXOS

ANEXO A – Comparação entre Determinação de Umidade por Estufa a 105°C e Equipamento de análise de umidade por Infra-Vermelho

Método	Condições		Umidade (perda de peso mg/100 g)
Estufa	105°C por 5,5 h (até peso constante)		4,4
Equipamento Infra- Vermelho	Normal Mode	- Temp. inicial: 25°C - Duração: 7 min - Temp. do processo: atingiu 105°C em tempo não especificado	4,4
		- Temp. inicial: 25°C - Duração: 8 min - Temp. do processo: atingiu 105°C em tempo não especificado	4,4
	Auto Dry Mode	- Temp. inicial: 25°C - Duração: 5 min - Temp. do processo: atingiu 105°C em 2 min. Até o fim seguiu constante	4,5
		- Temp. inicial: 54°C - Duração: 4 min - Temp. do processo: atingiu 105°C em 2 min. Até 4 min seguiu constante	3,7
	Multi Temp Program (Auto Dry Off)	- Temp. inicial: 48°C - Duração: 6 min - Temp. do processo: 0-2 min, 70°C; 2-4 min, 90°C; 4-6 min, 105°C	3,2
		- Temp. inicial: 49°C - Duração: 8 min - Temp. do processo: 0-2 min, 80°C; 2-5 min, 95°C; 5-8 min, 105°C	3,9

ANEXO B – Esquema empregado para análise de variância para parcela subdividida de luminosidade.

Causa de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr>F
Repetição	2	0,028	0,014	0,157	0,8574
Espécie (parcela)	4	312,863111	78,215778	876,095	0,0000
Resíduo 1	8	0,714222	0,089278		0,0000
Torra (sub-parcela)	2	2327,988	1163,994	5644,367	0,0000
Interação espécie x torra	8	27,574222	3,446778	16,714	
Resíduo 2	20	4,124444	0,206222		
Total	44	2673,292			
CV 1 (%) (parcelas) = 1,39					
CV 2 (%) (sub-parcelas) = 2,11					
Média geral = 21,480000			Número de observações: 45		