

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS, NATURAIS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

CARLOS ALEXANDRE PINHEIRO

**ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
DE *Coffea canephora* PIERRE & FROEHNER CULTIVADOS NO
ESPÍRITO SANTO**

ALEGRE-ES
2018

CARLOS ALEXANDRE PINHEIRO

**ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
DE *Coffea canephora* PIERRE & FROEHNER CULTIVADOS NO
ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito à obtenção do título de *Magister Scientiae* em Agroquímica.

Orientadora: Patrícia Fontes Pinheiro

Coorientadores: Daniela da Silva Oliveira

Aymbiré Francisco Almeida da Fonseca

ALEGRE-ES
2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)
Bibliotecária: Lizzie de Almeida Chaves – CRB-6 ES-000871/O

P654a Pinheiro, Carlos Alexandre, 1970-
Análises físico-químicas e avaliação da qualidade de Coffea
canephora Pierre e Froehner cultivados no Espírito Santo / Carlos
Alexandre Pinheiro. – 2018.
94 f. : il.

Orientador: Patrícia Fontes Pinheiro.

Coorientadores: Daniela da Silva Oliveira ; Aymbiré Francisco
Almeida da Fonseca.

Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal do
Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde.

1. Café conilon. 2. Café – Cultivo. 3. Alimentos – Qualidade. I.
Pinheiro, Patrícia Fontes. II. Oliveira, Daniela da Silva. III. Fonseca,
Aymbiré Francisco Almeida da. IV. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde. V. Título.

CDU: 631.41

CARLOS ALEXANDRE PINHEIRO

**ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE
DE *Coffea canephora* PIERRE & FROEHNER CULTIVADOS NO
ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito à obtenção do título de *Magister Scientiae* em Agroquímica.

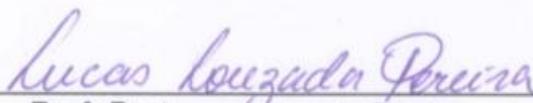
Aprovada em 23 de fevereiro de 2018.



Prof(a). Dr(a). Patrícia Fontes Pinheiro
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



Prof(a). Dr(a). Luciana Alves Parreira
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinadora



Prof. Dr. Lucas Louzada Pereira
Instituto Federal do Espírito Santo
Examinador

Dedico esta dissertação aos meus filhos, Arthur Fontes Pinheiro e Igor Fontes Pinheiro, para que possam sempre valorizar o conhecimento.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que pela sua infinita bondade me proporcionou o dom da vida e forças para chegar até aqui.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica (CCENS-UFES) e aos professores do programa, pela oportunidade de realização do mestrado e por todo aprendizado. À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos. À FAPES, pelo apoio financeiro e incentivo em pesquisas.

À minha orientadora Patrícia Fontes Pinheiro, pelo apoio incondicional e incentivo durante toda minha trajetória acadêmica. Aos meus coorientadores: Daniela da Silva Oliveira (CCENS-UFES) e Aymbiré Francisco Almeida da Fonseca (EMBRAPA/INCAPER), pelo apoio na realização deste trabalho.

À pesquisadora Maria Amélia Gava Ferrão (EMBRAPA/INCAPER) e a toda equipe do INCAPER, pela valiosa parceria e fornecimento das amostras de cafés utilizadas neste trabalho.

Ao professor Lucas Louzada Pereira (UFES, Venda Nova do Imigrante-ES), pela amizade, pelo grande apoio, incentivo e pelo fornecimento de amostras de cafés usadas neste trabalho.

Aos professores Vanessa Moreira Osório e Sérgio Henriques Saraiva, pela amizade, apoio e grande contribuição nas análises de cafés realizadas neste trabalho.

Aos estudantes de mestrado do Programa em Ciência e Tecnologia de Alimentos (CCAUE-UFES), Leandro Levate Macedo, Cíntia Araújo e Wallaf Vimercati pela colaboração em algumas análises de cafés realizadas neste trabalho.

Um agradecimento especial à professora Luciana Alves Parreira Menini (CCENS-UFES), que, gentilmente, participou de todas as bancas avaliadoras deste trabalho.

À Josimar Aleixo da Silva, pela colaboração em toda a parte estatística deste trabalho.

Aos técnicos administrativos da UFES, *Campus* em Alegre, em especial à Sônia Maria da Silva e a Eduardo Lorencetti Fornazier, pela parceria e colaboração dada a este trabalho.

À Rosana, secretária do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, pelas prestações de serviços.

Aos colegas e demais colaboradores, aos estudantes de iniciação científica, José Augusto Macedo Carvalho e Kellen Barelo Corrêa, pela companhia no laboratório e pela amizade.

Aos meus pais, Joaquina Aleixo da Silva Pinheiro e Luiz Corsino Pinheiro (*in memoriam*), pela educação que me deram. Aos meus demais familiares, esposa, filhos, irmãos e sobrinhos, pelo apoio e amor incondicional.

CONTEÚDO

| | |
|---|------------|
| RESUMO | i |
| ABSTRACT | iv |
| LISTA DE FIGURAS | vii |
| LISTA DE TABELAS | ix |
| LISTA DE APÊNDICES | xi |
| LISTA DE ABREVIATURAS | xii |
| | |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVOS | 4 |
| 2.1. Objetivo geral..... | 4 |
| 2.2. Objetivos específicos..... | 4 |
| | |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 5 |
| 3.1. Importância do Café no Setor de Agronegócio Brasileiro..... | 5 |
| 3.2. Aspectos que influenciam a qualidade do café..... | 5 |
| 3.2.1. Face de orientação, perfil do solo, fatores edafoclimáticos..... | 6 |
| 3.2.2. Espécies e fatores genéticos..... | 8 |
| 3.2.3. Colheita..... | 10 |
| 3.2.4. Secagem e armazenamento..... | 11 |
| 3.2.5. Tipos de processamento: via seca e via úmida..... | 12 |
| 3.2.6. Processo de torra..... | 14 |
| 3.3. <i>Coffea canephora</i> : conilon e robusta..... | 16 |
| 3.4. Análise sensorial..... | 18 |
| 3.5. Composição Química e Qualidade do Café..... | 20 |
| 3.5.1. Acidez Titulável Total e pH..... | 20 |

| | |
|--|-----------|
| 3.5.2. Acidez Graxa | 21 |
| 3.5.3. Condutividade Elétrica e Lixiviação de Potássio..... | 21 |
| 3.5.4. Açúcares redutores, não redutores e totais | 22 |
| 3.5.5. Reação de Maillard e formação de Constituintes Voláteis do Café. | 24 |
| 3.5.6. Constituintes Bioativos do Café: Ácidos clorogênicos, trigonelina e cafeína..... | 34 |
| 3.6. Cromatografia aplicada à análise da composição química do café.... | 37 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 42 |
| 4.1. Obtenção das amostras de café | 42 |
| 4.2. Acidez Titulável Total | 42 |
| 4.3. pH a 25 °C e 96 °C..... | 43 |
| 4.4. Acidez Graxa..... | 43 |
| 4.5. Análise de açúcares..... | 44 |
| 4.6. Análise de Condutividade elétrica e Lixiviação de potássio | 44 |
| 4.7. Determinação simultânea de ácido clorogênico, trigonelina e cafeína | 44 |
| 4.8. Análises dos voláteis de café conilon cultivados em diferentes altitudes (240 m, 350 m, 580 m e 720 m) por HS-SPME combinada com CG-EM . | 45 |
| 4.9. Umidade..... | 47 |
| 4.10. Estudo de diferentes solventes para determinação da acidez graxa de café | 48 |
| 4.10.1. Derivatização dos extratos de café conilon (reação de transesterificação) | 48 |
| 4.10.2. Análise por CG-EM dos extratos de café derivatizados..... | 49 |
| 4.11. Análise estatística | 49 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 49 |

5.1. Análises Físico-Químicas de Diferentes Genótipos de *C. canephora* 49

5.2. Avaliação da interferência da altitude na qualidade de café conilon .. 57

6. CONCLUSÕES..... 66

7. REFERÊNCIAS..... 67

8. APÊNDICES 83

RESUMO

PINHEIRO, Carlos Alexandre. **Análises Físico-Químicas e Avaliação da Qualidade de *Coffea canephora* Pierre & Froehner cultivados no Espírito Santo**. 2018. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES. Orientadora: Patrícia Fontes Pinheiro. Coorientadores: Daniela da Silva Oliveira e Aymbiré Francisco Almeida da Fonseca.

O Estado do Espírito Santo é líder na produção de *Coffea canephora* (conilon e robusta) no Brasil. O *C. canephora* é, geralmente, cultivado em altitudes inferiores a 500 m, em regiões de clima quente. Os cafés cultivados em regiões de maiores altitudes apresentam maturação mais lenta, podendo ocorrer maior acúmulo de açúcares nos grãos, sendo possível a obtenção de cafés de qualidade superior. Existem poucos trabalhos relacionados ao cultivo de café *C. canephora* em altitudes acima de 500 m. Dessa forma, um dos objetivos deste trabalho foi avaliar as propriedades físico-químicas de diferentes genótipos de café *C. canephora* cultivados a 720m de altitude, da Fazenda Experimental de Venda Nova do Imigrante-ES, em um projeto coordenado pelo INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural).

As amostras de café *C. canephora* utilizadas neste estudo foram obtidas de cultivares clonais Incaper: Vitória (V1-V13) e Robustão Capixaba (R1-R3, R6-R10), a partir de 21 tratamentos, 4 repetições e 8 plantas/parcela. Para essas amostras de café *C. canephora* (crus) foram realizadas as seguintes análises: acidez titulável total, medidas de pH a 25 e 96°C, teores de açúcares redutores, não redutores e totais, condutividade elétrica e lixiviação de potássio. Os compostos bioativos presentes no café: ácidos clorogênico (5-CQA), trigonelina e cafeína foram quantificados nas amostras de café *C. canephora* por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) pelo método do padrão externo. Os resultados foram analisados pelo teste de agrupamentos de médias *Scott-Knott* ($P < 5\%$).

Os valores médios de acidez titulável total, de pH a 96 °C e os teores de trigonelina não apresentaram diferenças estatísticas. Os valores de pH a 25 °C, apesar de terem sido próximos, apresentaram diferença estatística.

Estes resultados podem ser justificados pelo fato das amostras de café *C. canephora* terem sido obtidas a partir das mesmas condições ambientais, adicionalmente a colheita e secagem foram padronizadas. Os valores de acidez graxa diferiram significativamente para as amostras de café *C. canephora* analisadas, assim como os teores de açúcares redutores, não redutores e totais. Os teores de ácidos clorogênicos foram encontrados na faixa de 2,60 a 3,65%, inferiores aos valores encontrados, normalmente, na literatura para café *C. canephora* (6,10-11,30%). O cultivo do café *C. canephora* a 720m pode ter influenciado neste resultado, o que pode indicar o potencial de obtenção de um café *C. canephora* de boa qualidade. Os teores de cafeína encontrados variaram de (2,06 a 2,89%), sendo o valor médio relatado entre 1,50-2,50%. Com base nos resultados das análises realizadas, o cultivo de café *C. canephora* em altitude de 720m, superior ao tradicional usado no Espírito Santo, pode ser promissor na obtenção de café de qualidade superior.

Outro objetivo do presente trabalho foi pesquisar a composição de constituintes voláteis de café conilon (torrado) cultivado em diferentes altitudes (240 m, 350 m, 580 m e 720 m), utilizando a técnica HS-SPME-GC/MS (microextração em fase sólida, usando o modo *headspace*, combinada à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas). Os índices de Kovats foram calculados e, em todas as amostras, foram identificados os seguintes compostos: 2-hidroximetilfurano, 4-etenil-2-metoxifenol, 2,6-dimetilpirazina, furfural, 2-etil-3-metilpirazina, 5-metilfurfural, 2-metilpirazina e outros. Para essas mesmas amostras de café conilon (C1-C4), grãos crus e moídos, foram determinados os valores de acidez graxa (método convencional, extração com tolueno). Os valores obtidos foram: 2,5; 2,6; 3,4 e 4,3 mL de KOH/100 g de massa seca, respectivamente. Usando como solventes extratores o hexano e o clorofórmio, os valores de acidez graxa foram similares aos apresentados pelo método convencional, indicando que pode ser viável a substituição do solvente tolueno, altamente tóxico, por outros solventes apolares. Alíquotas dos extratos do café conilon (C1-C4) usados na determinação da acidez graxa, obtidos a partir da extração com tolueno, hexano e clorofórmio foram derivatizados e analisadas

por CG-EM (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas). Foi observado o mesmo perfil cromatográfico para todos os extratos, sendo que os ácidos palmítico e linoleico foram os que apresentaram maiores áreas em todos os cromatogramas. Assim, existe um indicativo que a acidez graxa pode ser uma análise útil na determinação da qualidade do café, assim como, a constituição dos ácidos graxos, uma vez que na etapa de torra podem ser degradados termicamente, levando à formação de compostos que atribuem características organolépticas à bebida.

PALAVRAS CHAVE: Café *C. canephora*, altitude, genótipos, composição química, voláteis, acidez graxa.

ABSTRACT

PINHEIRO, Carlos Alexandre. **Physical-Chemical Analyzes and Quality Assessment of *Coffea canephora* Pierre & Froehner grown in Espírito Santo**. 2018. Dissertation (Master in Agrochemistry) - Federal University of Espírito Santo, Alegre-ES. Advisor: Patrícia Fontes Pinheiro. Co-advisors: Daniela da Silva Oliveira and Aymbiré ; Francisco Almeida da Fonseca.

The State of Espírito Santo is the leader in the production of *Coffea canephora* (conilon and robusta) in Brazil. *C. canephora* is generally cultivated at altitudes below 500 m in hot climate regions. Coffees cultivated in regions with higher altitudes present slower maturation, which may lead to a higher accumulation of sugars in the grains, and it is possible to obtain higher quality coffees. There are few works related to the cultivation of *C. canephora* coffee at altitudes above 500 m. Thus, one of the objectives of this work was to evaluate the physicochemical properties of different *C. canephora* coffee genotypes cultivated at 720 m altitude from Experimental Farm of Venda Nova do Imigrante-ES, in a project coordinated by INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural). The samples of *C. canephora* coffees used in this study were obtained from Incaper: Vitória (V1-V13) and Robustão Capixaba (R1-R3, R6-R10) clonal cultivars from 21 treatments, 4 replicates and 8 plants/plot. For the *C. canephora* (raw) coffee samples, the following analyzes were performed: total titratable acidity, pH at 25 and 96 °C, reductive, total and non-reducing sugars, electrical conductivity and potassium leaching. The bioactive compounds present in coffee: chlorogenic acids (5-CQA), trigonelline and caffeine were quantified in the *C. canephora* coffee samples by HPLC using the external standard method. The results were analyzed by the *Scott-Knott* method clustering test ($P < 5\%$). The mean values of total titratable acidity, pH at 96 °C and trigonelline levels did not present statistical differences; pH values at 25 °C, although close, presented a statistical difference. These results can be justified by the fact that *C. canephora* coffee samples were obtained from the same environmental conditions, in addition the harvesting and drying were standardized. The values of acidity grease differed significantly for the samples of *C. canephora* coffees analyzed, as well as the

levels of reducing, non-reducing and total sugars. Chlorogenic acid contents were found in the range of 2.60 to 3.65%, lower than the values found in the literature for *C. canephora* coffees (6.10-11.30%). The cultivation of *C. canephora* coffees at 720 m may have influenced this result, which may indicate the potential of obtaining a good *C. canephora* coffee. Caffeine levels ranged from 2.06 to 2.89%, with a mean value of 1.50-2.50%. Based on the results of the analyzes, the cultivation of *C. canephora* coffee at an altitude of 720 m, superior to the traditional one used in Espírito Santo, can be promising in obtaining superior coffee.

Another objective of the present work was to investigate the composition of volatile constituents of conilon (roasted) coffee grown at different altitudes (240 m, 350 m, 580 and 720 m) to ascertain the differences of these coffees. For this, the HS-SPME-GC/MS technique (solid phase microextraction using the headspace mode, combined with gas chromatography coupled to mass spectrometry) The Kovats indices were calculated and the following compounds were identified: 2-hydroxymethylfuran, 4-ethenyl-2-methoxyphenol, 2,6-dimethylpyrazine, furfural, 2-ethyl-3-methylpyrazine, 5-methylfurfural, 2-methylpyrazine and the like. For these same samples of conilon (C 1 -C 4) coffee, raw and ground grains, the values of acidity grease (conventional method, extraction with toluene) were determined. The values obtained were: 2.5; 2.6; 3.4 and 4.3 ml KOH / 100 g dry mass, respectively. Using extractive solvents such as hexane and chloroform, the acidity values of the grease were similar to those given by the conventional method, indicating that it may be feasible to substitute the highly toxic toluene solvent with other apolar solvents. Aliquots of the conilon (C1-C4) coffee extracts used in the determination of the acidity grease obtained from the extraction with toluene, hexane and chloroform were derivatized and analyzed by GC-MS (gas chromatography coupled to mass spectrometry). The same chromatographic profile was observed for all the extracts, and the palmitic and linoleic acids presented the highest areas in all the chromatograms. Thus, there is an indication that the acidity grease can be a useful analysis in the determination of coffee quality, as well as the constitution of fatty acids, since in the roast stage can be degraded thermally, leading to the

formation of compounds that attribute characteristics organoleptic characteristics.

KEYWORDS: Coffee, *C. canephora*, altitude, genotypes, chemical composition, volatile, acidity grease.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Oxidação da D-Glicose (açúcar redutor) na presença do íon Cu^{2+} | 23 |
| Figura 2. Hidrólise da sacarose e liberação dos açúcares redutores, glicose e frutose, contendo hidroxila anomérica livre..... | 23 |
| Figura 3. Mecanismo das reações iniciais da Reação de Maillard..... | 24 |
| Figura 4. Mecanismo para a formação do Produto de Amadori..... | 25 |
| Figura 5. Formação de α -dicarbonila e de compostos de massa molar menores a partir do Produto de Amadori (Reação de Maillard)..... | 25 |
| Figura 6. Mecanismo da Degradação de Streck..... | 26 |
| Figura 7. Mecanismo de formação de pirazinas pela reação de condensação de duas moléculas de α -aminocetonas..... | 27 |
| Figura 8. Resumo e classes de compostos voláteis que podem ser gerados durante as etapas da Reação de Maillard..... | 28 |
| Figura 9. Estruturas dos precursores dos ácidos clorogênicos..... | 34 |
| Figura 10. Estruturas dos ácidos clorogênicos que podem ser encontrados em café..... | 35 |
| Figura 11. Estrutura da trigonelina..... | 36 |
| Figura 12. Estrutura da cafeína..... | 36 |
| Figura 13. Evolução das técnicas cromatográficas..... | 38 |
| Figura 14. Etapas utilizadas na análise de voláteis por HS-SPME (microextração em fase sólida pelo modo <i>headspace</i>)..... | 41 |
| Figura 15. Valores médios de acidez graxa para as amostras de <i>C. canephora</i> , expressos em mL de KOH $0,1\text{molL}^{-1}$ /100g de café seco. Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste <i>Scott-Knott</i> | |

| | |
|---|----|
| ($P < 5\%$)..... | 51 |
| Figura 16. Retas, equações das retas e valores de R^2 obtidos pelas análises dos padrões de trigonelina (A), ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico, 5-ACQ) (B) e cafeína (C) em diferentes concentrações obtidas por CLAE (HPLC), usando detector UV a 272 nm..... | 54 |
| Figura 17. Cromatograma de íons totais de uma mistura de hidrocarbonetos C_8 - C_{23} | 57 |
| Figura 18. Acidez graxa das amostras de café conilon cultivado em diferentes altitudes: C1 (240 m), C2 (350 m), C3 (580 m) e C4 (720 m), usando como solventes extratores tolueno, hexano e clorofórmio..... | 62 |
| Figura 19. Cromatograma de íons totais do extrato de tolueno (derivatizado) originado do café C4..... | 64 |
| Figura 20. Cromatograma de íons totais do extrato de hexano (derivatizado) originado do café C4..... | 64 |
| Figura 21. Cromatograma de íons totais do extrato de clorofórmio (derivatizado) originado do café C4..... | 64 |
| Figura 22. Espectro de massas do palmitolato de metila (originado do ácido palmítico) identificado em extratos derivatizados de café conilon (T.R. = 8,25 minutos)..... | 65 |
| Figura 23. Espectro de massas do linolato de metila (originado do ácido linoleico) identificado em extratos derivatizados de café conilon (T.R. = 10,11 minutos)..... | 65 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Constituintes químicos ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$ em base seca) em grãos de café crus..... | 09 |
| Tabela 2. Principais classes de compostos voláteis presentes no café..... | 15 |
| Tabela 3. Interpretação de resultados para descrever a qualidade do café conilon..... | 19 |
| Tabela 4. Constituintes voláteis que influenciam o <i>flavor</i> do café: estruturas gerais, classe, precursor(es) e origem, exemplo(s) de moléculas e seus atributos sensoriais..... | 29 |
| Tabela 5. Valores médios de acidez titulável total (A.T.T.), expressos em mL de NaOH $0,1 \text{ molL}^{-1}/100\text{g}$ de café seco, pH a 25°C e 96°C e de acidez graxa (A.G.), expressos em mL de KOH $0,1 \text{ molL}^{-1}/100\text{g}$ de café seco | 50 |
| Tabela 6. Teores médios de açúcares redutores, não redutores e totais para amostras de cafés <i>C. canephora</i> | 52 |
| Tabela 7. Valores médios de condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$) e teores de potássio lixiviado (ppm) das amostras de cafés <i>C. canephora</i> | 53 |
| Tabela 8. Valores médios encontrados para ácido clorogênico (5-ACQ), trigonelina e cafeína ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$ de café em base seca) para amostras de café <i>C. canephora</i> | 55 |
| Tabela 9. Constituintes voláteis encontrados em amostras de café conilon (grãos torrados e moídos) que foram cultivados em diferentes altitudes: C1 (240 m), C2 (350 m), C3 (580 m) e C4 (720 m)..... | 58 |
| Tabela 10. Dados da acidez graxa (AG) de amostras de café conilon cultivados em diferentes altitudes (C1-C4), utilizando metodologia convencional (extração com tolueno) e testes utilizando solventes de polaridades crescentes (hexano, clorofórmio, acetato de etila, éter dietílico e etanol)..... | 61 |

| | |
|---|----|
| Tabela 11. Médias da acidez graxa para amostras de cafés cultivados em diferentes altitudes obtidas a partir de diferentes solventes usados na extração dos constituintes graxos..... | 62 |
|---|----|

LISTA DE APÊNDICES

| | |
|--|----|
| Figura A1. Cromatograma da amostra de café V2 analisada por CLAE..... | 83 |
| Figura A2. Cromatograma do padrão de trigonelina..... | 83 |
| Figura A3. Cromatograma do padrão do ácido clorogênico (5-CQA)..... | 84 |
| Figura A4. Cromatograma do padrão de cafeína..... | 84 |
| Figura A5. Cromatograma de íons totais dos voláteis do café conilon cultivado a 240 m de altitude..... | 85 |
| Figura A6. Cromatograma de íons totais dos voláteis do café conilon cultivado a 350 m de altitude..... | 85 |
| Figura A7. Cromatograma de íons totais dos voláteis do café conilon cultivado a 580 m de altitude..... | 86 |
| Figura A8. Cromatograma de íons totais dos voláteis do café conilon cultivado a 720 m de altitude..... | 86 |

LISTA DE ABREVIATURAS

5-ACQ -ácido 5-O-cafeoilquínico

A.T.T. -Acidez titulável total

AG - Acidez graxa

CG-EM- Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, em inglês CG-MS (*Gas chromatography–mass spectrometry*)

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, em inglês HPLC (*High performance liquid chromatography*)

m/z - Razão massa/carga

HS-SPME - *Headspace Solid Phase Microextraction* (microextração em fase sólida pelo modo *headspace*).

I.K. - índice de Kovats

NI - não identificado

T.R. - tempo de retenção

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e o segundo maior consumidor mundial de café, tendo um consumo médio de 20 milhões de sacas por ano (MAPA, 2017). As espécies de café que apresentam importância econômica no país são: *Coffea arabica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café conilon), essas ocupam em torno de 74% e 26% do parque cafeeiro, respectivamente (CONAB, 2017).

Os estados que lideram a produção de café no Brasil são: Minas Gerais (24,45 milhões de sacas), com produção predominantemente de café arábica, seguido pelo Espírito Santo (8,87 milhões de sacas), maior produtor de café conilon do país (5,91 milhões de sacas) e o terceiro produtor de café arábica (2,92 milhões de sacas), São Paulo (4,41 milhões de sacas), o segundo maior produtor de café arábica, seguido da Bahia (3,36 milhões de sacas), onde são cultivados o café arábica (região do Planalto e Cerrado) e o conilon (Sul do estado), Rondônia (1,94 milhões de sacas), que produz exclusivamente o café conilon e Paraná (1,21 milhões de sacas), produtor de café arábica (CONAB, 2017).

As variedades de *C. canephora* Pierre ex A. Froehner mais comercializadas no Brasil e no mundo são denominadas: 'Conilon' e 'Robusta' (MARCOLAN, et al., 2009). A espécie *C. canephora* ocupa cerca de 30% da produção mundial. Esse café vem sendo muito utilizado no preparo de café solúvel e na produção de *blends*, ao ser adicionado ao café arábica (PERROIS et al., 2014). O *C. canephora* era menos valorizado do que o *C. arabica*, por ser considerado um café de pior qualidade de bebida (FERNANDES et al., 2003). Mudanças vêm ocorrendo em relação à qualidade e a valorização do café *C. canephora* no Brasil. Nos últimos anos, a importância desse café no país vem sendo estabelecida e as oscilações de preços não vêm obedecendo a um padrão histórico que era fundamentado em safras e disponibilidade do produto no mercado (INNOCENTINI, 2015).

A formação de lavouras de *C. canephora* no estado do Espírito Santo teve incentivo político a partir da década de 70. As condições de relevo acidentado, altas temperaturas e umidade favoreceram o estabelecimento desta cultura nas terras capixabas (FREDERICO, 2013). Nos últimos 15

anos, a produtividade do *C. canephora* aumentou mais de 200%, passando da média de 9 para 28 sacas por hectare. Além disso, diversas pesquisas vêm sendo realizadas na difusão de clones de variedades geneticamente superiores (BRAGANÇA et al., 2001; FERRÃO et al., 2008), implantação de jardins clonais nos municípios cafeeiros, renovação do parque cafeeiro (FONSECA et al., 2005) e disseminação da tecnologia de fertirrigação nas propriedades (MAGIERO et al., 2017).

Na última década, o café *C. canephora* vem sendo obtido com maior produtividade e qualidade por diversos produtores, que por meio de premiações e valores acima do mercado, têm sido incentivados a aprimorar os processos de beneficiamento e secagem, em uma crescente preocupação com a qualidade desse grão (THOMAZINI et al., 2011).

O fator genético pode influenciar a qualidade dos grãos e da bebida do café *C. canephora* (RAMALHO et al., 2016). Assim, estudar diferentes genótipos tem sido uma alternativa para contribuir com melhoria da cultura deste café no estado do Espírito Santo e no Brasil (FERRÃO et al., 2008). Existem genótipos que apresentam maiores produtividades, melhor tolerância a pragas e adaptabilidade (RAMALHO, 2009). Conhecer a estrutura genética do café, e a inferência da variabilidade presente na população proporcionam subsídios para prever os ganhos genéticos e o possível sucesso no programa de melhoramento ao qual a nova variedade se submete (FERRÃO et al., 2008).

Além dos aspectos genéticos, outros fatores podem influenciar a qualidade do café. Tais fatores estão sendo pesquisados e são bastante complexos, dentre eles destacam-se: face de orientação da lavoura, solo, espécie, clima (MARTINS et al., 2015), sombreamento (DARDENGO et al., 2013), colheita (FAGAN; HENRIQUE; SOUZA, 2011), secagem, armazenamento do grão cru (CORADI, BORÉM, OLIVEIRA, 2008); processamento via seca e via úmida (GIOMO, 2012); a torra e a moagem (SCHMIDT; MIGLIORANZA; PRUDÊNCIO, 2008).

Dentre os fatores ambientais, o local de plantio pode influenciar de forma particular na produção de café de qualidade superior. Em maiores altitudes o cafeeiro pode ter maior acúmulo de fotoassimilados em suas folhas e frutos

(LAVIOLA et al., 2007). Além disso, a altitude influencia na temperatura e no regime pluviométrico, sendo que em média a cada 180 m de altitude, a temperatura diminui em torno de 1°C e essas regiões apresentam mais chuvas (FRITZSONS; MANTOVANI; AGUIAR, 2008). O café cultivado em regiões de maiores altitudes apresenta maturação mais lenta, por isso pode ocorrer maior acúmulo de açúcares nos grãos (ZAIDAN et al., 2017).

O *C. canephora* no Brasil, geralmente, é cultivado em altitudes inferiores a 500 m de altitude, em regiões de clima quente (MATIELLO, 1991). Existem poucas informações sobre o cultivo do *C. canephora* em regiões de altitudes acima de 700 m.

A origem genética e as condições edafoclimáticas são fatores determinantes na composição química do café que, após a torra, definem a qualidade sensorial da bebida. A análise da qualidade do café é determinada, mundialmente, por um método qualitativo, o chamado teste de xícara (análise sensorial) que é realizada por profissionais treinados, onde são avaliados o aroma, a acidez, o amargor, a doçura, a adstringência e o corpo da bebida. Os aspectos avaliados na análise sensorial estão diretamente relacionados aos constituintes químicos presentes nos grãos de café (SILVA; MINIM; RIBEIRO, 2005).

Parâmetros físico-químicos podem ser utilizados para determinar fatores de qualidade desejáveis para o café, tais como: medidas de pH, acidez titulável total, acidez graxa, condutividade elétrica e lixiviação de potássio (BORÉM et al., 2008). Alguns constituintes podem influenciar nos aspectos relacionados ao sabor do café, como os açúcares redutores, não redutores e totais, bem como os ácidos clorogênicos, a trigonelina e a cafeína (FARAH et al., 2006).

A determinação dos constituintes voláteis do café também pode ser usada como um parâmetro para avaliar a qualidade do produto, uma vez que esses compostos têm grande importância nos atributos sensoriais da bebida, podendo ser originados de açúcares redutores e aminoácidos pela Reação de Maillard, bem como por reações de caramelização (pirólise), por meio de etapas de condensação, desidratação e polimerização (LEE et al., 2015; YANG et al., 2016). Já foram identificados mais de 800 compostos voláteis em café,

pertencentes às seguintes classes: furanos, pirazinas, piridinase pirróis, além de outras classes (ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e outros) (NIJSSEN, 1996). Com base nos fatores apresentados, constitui-se a problemática em questão: qual o efeito da altitude sobre os constituintes químicos de *C. canephora*?

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Analisar quantitativamente as características físico-químicas de diferentes genótipos de *C. canephora*, cultivados a 720m de altitude em grãos crus, determinar os constituintes voláteis do café conilon produzido em diferentes altitudes (240 m, 350 m, 580 m e 720 m) em grãos torrados e moídos, realizando um estudo da acidez graxa desses cafés.

2.2. Objetivos específicos

1. Analisar quantitativamente as características físico-químicas em grãos de cafés crus para diferentes genótipos de *C. canephora*, cultivados a 720 m de altitude, obter os dados das análises de: condutividade elétrica; lixiviação de potássio, pH; acidez total; acidez graxa, açúcares totais, redutores e não redutores; e ácido clorogênico, cafeína e trigonelina;
2. Verificar as diferenças físico-químicas entre os genótipos de *C. canephora*;
3. Determinar os constituintes voláteis do café conilon, após a torra, produzido em diferentes altitudes (240 m, 350 m, 580 m e 720 m) por microextração em fase sólida, pelo modo *headspace* (HS-SPME), combinada com a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM);
4. Realizar um estudo de acidez graxa do café conilon, grãos crus, produzido nas quatro altitudes supracitadas, avaliando diferentes solventes para a realização da análise e determinando a composição graxa após etapa de transesterificação (derivatização) e análise por CG-EM.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Importância do Café no Setor de Agronegócio Brasileiro

Em 2016, o café representou 9,8% das exportações brasileiras, movimentando o montante de US\$ 600,74 milhões de dólares. A cadeia produtiva do café é responsável pela geração de mais de oito milhões de empregos no país, sendo uma das principais fontes de receita para centenas de municípios brasileiros (MAPA, 2017).

O café ocupa uma parte muito importante na história do Brasil. No século XVIII, mais precisamente no ano de 1727, essa cultura chegou ao país pelo estado do Pará, adaptou-se facilmente ao clima brasileiro e se instalou em suas terras. Já em 1830, era o principal produto brasileiro de exportação (ABIC,2017; CONAB, 2017).

Em 2017, a safra brasileira chegou a 44,97 milhões de sacas de 60 kg beneficiadas, sendo 34,25 milhões de sacas de café arábica e 10,72 milhões de sacas de café conilon. Sendo os principais estados produtores: Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia, Paraná, Rio de Janeiro, Goiás e Mato Grosso, que correspondem por cerca de 98,6% da produção nacional, considerando que a safra atual se encontra no ciclo de baixa bionalidade na maioria dos estados. No Espírito Santo as condições climáticas desfavoráveis atravessadas pelas lavouras em 2016 e a falta de mudas para plantio levaram a uma forte redução de área, resultando numa queda de 1,1%, principalmente na produção de café arábica. A produção total alcançou 8,87 milhões de sacas (CONAB, 2017).

Apesar do café ser uma das principais *commodities* do Brasil, a melhoria da qualidade do café é de grande importância na manutenção das exportações, uma vez que o mercado externo está cada vez mais exigente (AMARAL et al., 2017).

3.2. Aspectos que Influenciam a Qualidade do Café

Atualmente, a busca pela melhoria da qualidade do café é um dos desafios dos pequenos e grandes produtores, uma vez que vem crescendo a

exigência do consumidor no mercado interno e por ser um dos fatores chave na expansão das exportações (RIBEIRO et al., 2017).

Os fatores que influenciam a qualidade do café vêm sendo pesquisados e são bastante complexos, a seguir são descritos aspectos relevantes a respeito desse assunto.

3.2.1. Face de orientação, perfil de solo, fatores edafoclimáticos

Um dos fatores que pode influenciar a qualidade do café é o local de plantio. Em maiores altitudes, o cafeeiro pode ter maior acúmulo de fotoassimilados em suas folhas e frutos (LAVIOLA et al., 2007). A altitude influencia na temperatura e no regime pluviométrico; a cada 180 m de altitude, a temperatura diminui em torno de 1 °C e essas regiões apresentam mais chuvas (FRITZSONS; MANTOVANI; AGUIAR, 2008).

O café cultivado em regiões de maiores altitudes apresenta maturação mais lenta, por isso pode ocorrer maior acúmulo de açúcares nos grãos. Recentemente, Zaidan et al. (2017) avaliaram os efeitos da altitude (variação de 600 a 1200 m), orientação da encosta da montanha e variedades de *Coffea arabica* ('catuaí vermelho" e "catuaí amarelo") em 14 municípios da região das Matas de Minas. As amostras foram analisadas sensorialmente e os fatores ambientais e a variedade exerceram conjuntamente influência na qualidade da bebida do café da região. Em outro trabalho, o café arábica da variedade Catuaí (vermelho e amarelo) cultivado na mesma região (Matas de Minas) em diferentes intervalos de altitude (abaixo de 700 m, de 700 a 825 m e de 825 a 950 m), levando em consideração as inclinações de exposição da lavoura (norte e sul), foram analisados sensorialmente. Os frutos de café maduros (cereja) da variedade Catuaí amarelo cultivados em altitudes mais elevadas após processados foram provados e apresentaram melhor qualidade sensorial. Todos os fatores juntos contribuíram para a qualidade da bebida. A altitude foi o fator que mais interferiu nos resultados e a orientação sentido norte contribuiu na obtenção de café de melhor qualidade (SILVEIRA et al., 2016).

Não existem muitos trabalhos sobre a influência da altitude na qualidade do café conilon. Sturm et al. (2010), para averiguar a relação da altitude e

qualidade do *C. canephora*, utilizaram lavouras com diferentes genótipos dessa espécie, a fim de evitar interações dos genótipos com ambientes específicos. As lavouras se localizam nos municípios de Alegre e Mimoso do Sul no Estado do Espírito Santo e, as adubações e as colheitas foram padronizadas de acordo com as necessidades de cada lavoura. Nesse estudo foram usadas amostras de cafés de sete lavouras, plantadas em diferentes altitudes: abaixo de 250 m, de 250 a 500 m e acima de 500 m. Com base nas análises sensoriais e análise estatística, houve influência da altitude na qualidade da bebida do café conilon, quanto maior a altitude, maior qualidade.

Um estudo foi realizado para averiguar a relação do relevo, das propriedades do solo e umidade na produtividade do café Conilon no Estado do Espírito Santo, para isso, foram utilizados geoestatística e Análise de Fatores (AF). Pela AF, o agrupamento F1 (fator 1), verificaram que: as propriedades que agregam o solo (ácidos húmicos e fúlvicos, porcentagem de agregados maior que 2 mm, diâmetro médio ponderado) não tiveram relação com relevo e produtividade. Pelo fator 2 (F2) houve agrupamento das propriedades do solo que têm relação com a retenção de água (microporosidade, teor de argila, umidade), que tiveram aumento conjuntamente com o aumento da altitude e diminuição do declive onde ocorrem regiões de maior produtividade. Pelos resultados, o teor de argila se destacou dos demais, por ter sido o fator que mais influenciou na produtividade do café conilon em relação aos atributos relacionados ao F2 (retenção de água no solo) (BURAK, SANTOS, PASSOS, 2016).

O sombreamento é outro fator que pode influenciar na produtividade e na qualidade dos grãos de café. No Brasil, existe a cultura de plantar café a pleno sol, principalmente em se tratando de *C. canephora*. Em outros países da América Latina, dentre eles: Colômbia, Costa Rica, Equador e Guatemala, o cultivo do *C. arabica* usando sombreamento é uma técnica tradicional na produção de cafés especiais (JARAMILLO-BOTERO; MARTINEZ; SANTOS, 2006).

Alguns trabalhos vêm sendo realizados no Brasil a fim de se averiguar a viabilidade do café ser cultivado em ambientes sombreados. Dardengo et al.

(2013) avaliaram níveis de sombreamento no crescimento e qualidade de mudas de *C. canephora* e constataram que as mudas em condições sombreadas apresentaram maior crescimento e melhor qualidade em relação às mantidas a pleno sol. Em outro trabalho, *C. canephora* foi cultivado em consórcio com *Gliricidia sepium* e *Erythrina poeppigiana* (leguminosas arbóreas) e um sistema foi cultivado a pleno sol. Nesse caso, o sombreamento proporcionou redução das temperaturas do solo, foliar e minimizou amplitude térmica (RICCI et al., 2013).

3.2.2. Espécie e fatores genéticos

A qualidade do café depende de um conjunto de fatores, no entanto são os constituintes químicos que influenciam diretamente o sabor e o aroma da bebida. A composição química dos grãos pode ser influenciada por fatores ambientais, tratos culturais e processamento, mas o fator que contribui de forma particular nessa composição é o genético. As espécies de *C. arabica* e *C. canephora*, assim como outras espécies de *Coffea* apresentam teores distintos em relação aos teores de: cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos e sacarose.

Na Tabela 1 foram apresentados alguns valores percentuais encontrados nos constituintes químicos de 100 g⁻¹ em base seca em grãos de café crus das variedades comerciais: *Coffea arábica* e *Coffea canephora*. Foram apresentados também porcentagens de constituintes químicos de variedades não comerciais, tais como: *Coffea eugenioides*, *Coffea liberica*, *Coffea congensis*, *Coffea kapakata* e *Coffea racemosa*.

Em relação aos teores de cafeína valores distintos são encontrados no *Coffea arabica* (1,2%) e *Coffea canephora* (2,2%). Enquanto *Coffea canephora* e *Coffea congensis* apresentam teores similares de cafeína, as espécies *Coffea kapakata* e *Coffea racemosa* apresentam teores similares desse composto ao descrito para *Coffea arabica* (Tabela 1).

Tabela 1. Constituintes químicos (g 100g⁻¹ em base seca) em grãos de cafés crus

| Componentes | <i>Coffea canephora</i> | <i>Coffea arabica</i> | <i>Coffea eugenioides</i> | <i>Coffea liberica</i> | <i>Coffea congensis</i> | <i>Coffea kapakata</i> | <i>Coffea racemosa</i> |
|-------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| Lipídeos | 10,0 | 16,0 | 16,7 | 13,7 | 10,7 | 16,0 | 11,3 |
| Ácidos: | | | | | | | |
| Clorogênico total | 10,0 | 6,5 | 4,8 | 3,3 | 4,9 | 4,1 | 4,4 |
| Alifáticos | 1,0 | 1,0 | – | – | – | – | – |
| Quínico | 0,4 | 0,4 | – | – | – | – | – |
| Cafeína | 2,2 | 1,2 | 0,93 | 0,5 | 2,0 | 1,1 | 1,3 |
| Trigonelina | 0,7 | 1,0 | 1,9 | 0,5 | 1,3 | 2,1 | 1,3 |
| Cinzas (41% de K) | 4,4 | 4,2 | – | – | – | – | – |
| Polissacarídeos | 48,0 | 44,0 | – | – | – | – | – |
| Açúcares: | | | | | | | |
| Sacarose | 4,0 | 8,0 | – | – | – | – | – |
| Redutores | 0,4 | 0,1 | – | – | – | – | – |
| Aminoácidos | 0,8 | 0,5 | – | – | – | – | – |
| Lignina | 3,0 | 3,0 | – | – | – | – | – |
| Pectina | 2,0 | 2,0 | – | – | – | – | – |
| Proteína | 11,0 | 11,0 | – | – | – | – | – |

Fonte: Adaptada de Martinez et al., 2014.

Entre os valores encontrados de ácidos clorogênicos totais, os maiores valores são relatados em *Coffea canephora*. Quanto aos teores de açúcares, a sacarose é encontrada em dobro em *Coffea arabica* em relação ao *Coffea canephora*, contudo maiores valores de açúcares redutores são descritos para *Coffea canephora*. Ligninas, lectinas e proteínas são encontradas em teores similares, sendo que a trigonelina pode estar em maiores porcentagens em *Coffea kapakata* e *Coffea eugenioides* (MARTINEZ et al., 2014).

O café conilon apresenta maiores teores de cafeína e de ácidos clorogênicos do que o café arábica, o que pode contribuir na adstringência da bebida (SOUZA et al., 2013). O café arábica (*C. arabica*) apresenta bebida de maior suavidade e doçura, por essa razão tem maior aceitação do consumidor e o teor médio de sacarose nos grãos é quase o dobro do apresentado pelo café conilon (*C. canephora*). No entanto, dentro da própria espécie a composição química e as propriedades organolépticas podem variar, indicando que estratégias de melhoramento genético podem contribuir em ganhos de qualidade da bebida (MARTINEZ et al., 2014).

3.2.3. Colheita

Os tratos culturais podem influenciar na qualidade do café, tendo como destaque a etapa de colheita que deve ser realizada de maneira adequada. A principal recomendação nessa etapa é realizar a colheita de maior porcentagem de frutos em estágio cereja, no mínimo 80% em situações de maximização econômica. Nesse estágio, a maioria dos grãos de café apresenta maturação máxima, o que pode contribuir para que haja maiores teores de açúcares e de outros constituintes que poderão favorecer características desejáveis à qualidade da bebida após a torra dos grãos, tais como: doçura, corpo, acidez, aroma e sabor (GIOMO, 2012).

Rogers et al. (1999) encontraram alterações nas concentrações de mono e oligossacarídeos, álcoois, ácidos carboxílicos e inorgânicos em grãos de cafés avaliados em diferentes fases de desenvolvimento dos grãos em três cultivares de *C. arabica* (arábica) e dois de *C. canephora* (robusta) por Cromatografia de Permuta Aniônica de Alto Desempenho Acoplada à Detecção

Eletroquímica Pulsada (sigla em inglês: *HPAE-PED*). Os componentes analisados foram acumulados durante a segunda metade do período de desenvolvimento dos grãos. Foi observado um aumento expressivo na concentração da sacarose, que foi o principal açúcar de translocação no floema, que por meio de reações catabólicas pode gerar energia e fonte de carbono para a biossíntese de outros compostos, dentre eles: fenóis e aldeídos. Dessa forma, o grau de maturação dos grãos de café tem grande importância na obtenção de uma bebida de qualidade, devido ao acúmulo de fotossintatos durante o período de crescimento dos frutos (FAGAN; HENRIQUE; SOUZA, 2011).

Após a etapa de colheita, o café deve ser imediatamente processado e/ou submetido à secagem, para que não ocorram deteriorações por ações dos microorganismos endófitos presentes nos frutos do café.

3.2.4. Secagem e armazenamento

A secagem do café contribui para a preservação dos grãos durante o armazenamento, sendo uma das principais etapas do pós-colheita do café, quando se deseja obter um produto de boa qualidade (RESENDE et al., 2011). Durante a secagem, os teores de água dos grãos para café conilon são reduzidos de 60% para valores na faixa de 11-13%, eliminando riscos de oxidações, e desenvolvimento de fungos e bactérias. Por outro lado, se não forem utilizadas as técnicas adequadas de secagem, a qualidade dos grãos poderá ser prejudicada em decorrência de alterações físicas, químicas e sensoriais indesejáveis (BORÉM et al., 2008).

No Brasil, utilizam-se basicamente os seguintes métodos para secagem de café:

a) Secagem natural em terreiros – espalha-se o produto sobre pisos de cimento, de tijolo, de chão batido ou lama de asfáltica, com o objetivo de expor o produto diretamente à radiação solar. Os grãos são revolvidos continuamente com o auxílio de um rodo ou de outro equipamento similar, objetivando movimentá-los através do ar (LACERDA FILHO; SILVA, 2006).

Esse é o processo mais usado pelos cafeicultores no Brasil. Além dos terreiros convencionais, outra opção são os terreiros suspensos com cobertura, que apresentam como vantagem o não contato dos frutos verdes com o solo, diminuindo os processos de contato com microorganismos do solo e o tempo de secagem (PINHEIRO, 2012).

b) Secagem em secadores mecânicos – o ar aquecido passa através da massa de grãos por meio de um sistema de ventilação forçada podendo, ou não, serem movimentados dentro do secador.

Borém et al. (2008) observaram que o tempo para secagem do café é afetado pelos diferentes tipos de secagem e processamentos. Pinheiro et al. (2012) encontraram os melhores parâmetros de qualidade do café conilon para amostras de café secas em terreiro de cimento suspenso coberto com lona plástica transparente (terreiro com cobertura) quando comparado com amostras secas em secador mecânico. Foram encontrados para essas amostras menores valores de condutividade elétrica, de lixiviação de potássio, de acidez titulável total e maiores teores de açúcares redutores. Maiores valores de acidez graxa foram observados para as amostras secas em terreiros (comum e de estufa).

Após a etapa de secagem, o armazenamento do café pode ser feito na propriedade ou em armazéns, café coco a granel em tulhas de madeira ou em sacarias de estopa com café já beneficiado, respectivamente. Na propriedade, os locais de armazenamento devem ser secos e bem arejados para aumentar o tempo de estocagem e evitar perdas na qualidade. Nos armazéns, os cafés já beneficiados devem ser dispostos em uma estrutura que propicia alta conservação e condições apropriadas (RIBEIRO et al., 2017).

3.2.5. Tipos de Processamento: via seca ou via úmida

O processamento do café pós-colheita pode contribuir na obtenção de bebidas de qualidade distintas. No Brasil, o processamento por via seca é predominante, nesse caso os grãos são secos em coco em terreiros ou em secadores mecânicos, são separadas impurezas, como galhos, torrões e

folhas, através de lavadores podendo ser separados grãos verdes, cereja e seco propiciando lotes uniformes (GIOMO, 2012).

No processamento do café via úmida, a casca é retirada somente de grãos cereja, os boias são separados por diferença de densidade e já vão direto para terreiro de secagem, os verdes são separados e cereja seguem para serem descascados, sendo que somente o café no estágio cereja é descascado, os grãos verdes apresentam cascas mais resistentes. A utilização desse processo pode minimizar os riscos de desenvolvimento de microrganismos responsáveis por fermentações indesejáveis (SANTOS; CHALFOUN; PIMENTA, 2009).

Durante o processamento via úmida na etapa de descascamento são obtidos lotes de cafés verdes de qualidade inferior. Nobre et al. (2011) analisaram frutos verdes (imaturos) de café, processados por via úmida e via seca, submetidos a diferentes períodos de repouso antes do descascamento com presença e ausência de água. A matéria-prima utilizada foi lotes de café arábica verde obtidos na produção do café-cereja descascado. A etapa de descascamento dos frutos imaturos elevou os indicadores fisiológicos e químicos de qualidade dos grãos verdes. Dessa forma, o descascamento dos frutos imaturos logo após a primeira operação de descascamento dos frutos maduros (café cereja), não alterou a qualidade dos grãos. A utilização da água durante o repouso dos frutos imaturos não afetou a qualidade do café.

Filho et al., (2013) realizaram a caracterização físico-química e sensorial do café conilon submetido a três tipos de processamentos: via seca, via úmida sem fermentação ou via úmida com fermentação. Nos processamentos foram utilizados somente grãos cereja e todas as amostras apresentaram padrões de bebida de excelente qualidade. Assim, usando o processamento mais viável economicamente (via seca), a partir de café conilon cereja, fermentações indesejadas podem ser minimizadas e a obtenção de uma bebida de qualidade por ser obtida.

3.2.6. Processo de torra

A etapa de torra tem grande influência na qualidade da bebida do café. A torra do café verde é, geralmente, realizada em temperaturas acima de 200°C, por 10 a 15 minutos. Durante a torra, diversas reações químicas ocorrem e ocasionam à formação dos voláteis que são responsáveis pelos aromas e sabores da bebida do café. Na torra, o volume dos grãos de café aumentam em 50% ou mais, a massa diminui em um quinto, levando à perda de umidade e da produção de voláteis e de gás carbônico (CO₂) que desencadeia um aumento da pressão interna, o grão se expande e ocorrem rachaduras no tecido celular da parede do grão, no fenômeno conhecido como '*crack*'. Após o grau de torra desejado ser alcançado, os grãos devem ser resfriados rapidamente em um resfriador. Esse processo de torra tem que ser bem conduzido, usando períodos longos de torrefação, os compostos voláteis são eliminados ou degradados, assim o café pode ser obtido com atributos sensoriais adulterados ou prejudiciais a qualidade (ILLY; VIANI, 2009).

Morais et al. (2009) analisaram a composição química do café conilon submetido a três tipos de torra: clara, média e escura. O teor de fenóis totais diminuiu de forma significativa com o aumento do grau de torra. A concentração de proantocianidinas aumentou à medida que o grau de torra se acentuou. Os teores de ácidos clorogênicos diminuíram à medida que o grau de torra aumentou, e, para o ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ), as diferenças entre as torras foram significativas. Os teores de 5-ACQ determinados no café conilon foram superiores ao do café arábica nas torras clara e média e inferiores a torra escura.

Constituintes voláteis de café conilon foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), após amostras padronizadas de café terem sido submetidas a três graus de torra: clara, média e escura. O rendimento do óleo essencial do café conilon submetido a torra média foi superior aos outros tipos de torra e os maiores teores de compostos que proporcionam aroma suave no café foram encontrados para o café de torra clara (NASCIMENTO et al., 2007).

Na torrefação do café ocorrem diversas reações e, assim, são gerados os compostos voláteis, nessa etapa ocorre a Reação de Maillard (condensação da carbonila de um glicídio com um grupamento amino de um aminoácido) conhecida como caramelização de açúcares, degradação de ácidos clorogênicos, proteínas e polissacarídeos, reação dos hidroxiaminoácidos que sofrem descarboxilação e dimerização, outras. Os cafés após o processamento contêm vários compostos voláteis, sendo esses componentes superiores a qualquer outro alimento ou bebida (MOREIRA, TRUGO, MARIA, 2000).

Os aromas do café cru e torrado são muito diferentes, o café cru apresenta cerca de 250 compostos voláteis diferentes, enquanto o café torrado pode possuir mais de 800 destes componentes. Esses compostos voláteis do café torrado são formados durante a etapa de torra por diversas reações, conforme supracitado, sendo que são as Reações de Maillard, onde os açúcares redutores se condensam com aminoácidos, responsáveis pela formação das melanoidinas que dão a cor escura aos grãos de café (NIJSSEN et al., 1996). Na Tabela 2 se encontram as principais classes de compostos voláteis presentes no café torrado.

Tabela 2. Principais classes de compostos voláteis presentes no café

| Classe de compostos | Número |
|-------------------------------------|--------------------|
| Hidrocarbonetos | 80 |
| Álcoois | 24 |
| Aldeídos | 37 |
| Cetonas | 85 |
| Ácidos carboxílicos | 28 |
| Ésteres | 33 |
| Pirazinas | 86 |
| Pirróis | 66 |
| Piridinas | 20 |
| Outras bases (quinoxalinas, indols) | 52 |
| Compostos sulfurados | 100 |
| Furanos | 126 |
| Compostos fenólicos | 49 |
| Oxazols | 35 |
| Outros | 20 |
| | Total = 841 |

Fonte: Nijssen et al. (1996).

Além da torra, a moagem pode influenciar no perfil sensorial da bebida, em um estudo realizado no Paraná foram avaliados os tipos de torra e a granulometria de moagem do café preferidas por consumidores. O café obtido em torras mais leves foi o menos aceito. A torra média escura proporcionou um café de aroma e sabor preferido, sendo neste caso similar às torras tradicionais do Brasil. O café obtido pela torra mais escura foi bem aceito apenas pela aparência. A moagem fina foi preferida devido à melhor aparência do produto (SCHMIDT; MIGLIORANZA; PRUDÊNCIO, 2008).

3.3. *Coffea canephora*: **conilon e robusta**

No Brasil, a produção de café de cultivares *Coffea canephora* ocorre em regiões onde há temperaturas mais elevadas e menores altitudes, destacando-se como os maiores produtores do país os Estados do Espírito Santo, Rondônia, Bahia e Mato Grosso (FERNANDES et al., 2012).

Os principais cultivares da espécie *C. canephora* Pierre são: Froehner, Conilon ou Kouillou, Guarini, Robusta, Apoatã e Laurenti. Historicamente, os primeiros materiais da variedade Kouillou (Conilon) foram observados pelos franceses em 1880, em estado selvagem na África entre o Gabão e o Rio Congo, mais precisamente as margens da região onde se encontra o ribeirão Kouillou, tendo sido, tais materiais, cultivados em maior escala em Madagascar, posteriormente. O botânico Louis Pierre, em 1895, fez uma primeira descrição desse material classificando-o como *Coffea canephora*. Já em 1897, o botânico Froehner publicou a descrição da espécie. Segundo Froehner, no ano de 1900, foram enviadas sementes de *Coffea canephora* da República do Congo à casa de horticultura de L. Linden (Bruxelas, Bélgica), que foram colocadas no mercado e receberam o nome de *Coffea robusta*, o qual foi enviado a Java na Indonésia onde obteve grande sucesso por ter se mostrado tolerante a ferrugem. Isto marcou o início do cultivo em grande escala do café robusta na Indonésia. Essa coleção foi enriquecida, posteriormente, com materiais do Gabão e de Uganda, daí a generalização do nome robusta oriundos, portanto, de várias regiões de origem do continente africano (FERRÃO et al., 2007).

No Estado do Espírito Santo, a cafeicultura de café arábica, teve seu início no início do século XIX, a partir de 1850 com o começo da imigração italiana e alemã. Até o ano de 1962, o café arábica ocupava mais de 500 mil hectares de lavouras plantadas. A partir dessa data, devido baixas produtividades, sinais de deficiências nutricionais e devido ao surgimento da "ferrugem", doença até então inexistente em território brasileiro, agravaram e comprometeram a cafeicultura do café arábica no Espírito Santo. Devido a esses fatos, o Governo Federal lançou o plano de erradicação dos cafezais que acabou atingindo 53% da área cafeeira no referido Estado (1962-1970) (FERRÃO et al., 2007).

Na década de 70, devido à inviabilidade de se reimplantar as lavouras de café arábica em regiões de baixa altitude, surgiu como alternativa o café conilon/robusta no estado do Espírito Santo, em pouco tempo, o conilon começou a ocupar os espaços deixados pelo arábica (FERRÃO et al., 2007).

A partir de 1985, com a participação da então EMCAPA, atualmente Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), por meio de pesquisadores, técnicos e extensionistas, houve o desenvolvimento tecnológico da cafeicultura no Espírito Santo, em um amplo projeto de pesquisa aplicada, onde iniciaram a seleção dos melhores materiais genéticos, culminando com o lançamento de novas variedades clonais aptas a altas produtividades e de maturações diferenciadas, que são sugeridas até os dias atuais para o plantio em todo o território capixaba (FERRÃO et al., 2007).

Os resultados do desenvolvimento dos trabalhos relacionados à primeira fase do programa de melhoramento genético de café conilon do INCAPER permitiram a obtenção e a recomendação das variedades melhoradas para o Estado do Espírito Santo: 'Emcapa 8111', 'Emcapa 8121', 'Emcapa 8131' no ano de 1993, 'Emcapa 8142 – Robustão Capixaba' no ano de 1999, 'Emcaper 8151 – Robusta Tropical' e 'Vitória Incaper 8142' no ano de 2000. Essas variedades melhoradas de café conilon foram as primeiras criadas, recomendadas e registradas oficialmente no país. Recentemente, foram lançadas as variedades clonais: 'Diamante - ES8112', 'ES8122 Jequitibá' e 'Centenária ES8132' (INCAPER, 2017).

No Brasil, a espécie *C. canephora* apresenta 17 (dezessete) tipos de cultivares registrados, sendo que para *C. arábica* são 130 registros (MAPA, 2016).

3.4. Análise Sensorial

A análise da qualidade do café é determinada mundialmente por um método qualitativo, o chamado teste de xícara (análise sensorial) que é realizada por profissionais treinados, onde são avaliados o aroma, a acidez, o amargor, a doçura, a adstringência e o corpo da bebida. A prova de xícara surgiu no Brasil no início do século XX e foi adotada pela Bolsa de Café e Mercadorias de Santos a partir de 1917, pouco depois de sua instalação em 1914. A avaliação sensorial é feita pelos degustadores em função, principalmente, dos sentidos do palato, do olfato e do tato (LEITE; SILVA, 2000).

O café arábica como bebida pode ser classificado em sete grupos (FILHO et al., 2013):

- 1- Estritamente: Bebida de sabor suavíssimo e adocicado.
- 2- Mole: Bebida de sabor suave, acentuado e adocicado.
- 3- Apenas mole: Bebida de sabor suave, porém com leve adstringência.
- 4- Dura: Bebida com sabor adstringente, gosto áspero.
- 5- Riada: Bebida com leve sabor de iodofórmico ou ácido fênico.
- 6- Rio: Bebida com sabor forte e desagradável, lembrando iodofórmico ou ácido fênico.
- 7- Rio zona: Bebida de sabor e odor intolerável ao paladar e ao olfato.

Em 2010, foi lançado pela Equipe Conilon Brasil o novo protocolo de degustação de cafés da variedade Robusta (EQUIPE CONILON BRASIL, 2011). Foram testadas algumas amostras de café do estado Espírito Santo para saber como seria o comportamento diante dessa nova metodologia. Foram degustadas amostras de café do Norte do Espírito do Santo oriundas de Vila Valério, e do Sul do Estado: Cachoeiro de Itapemirim, Castelo e Conceição do Castelo. Os degustadores descreveram que houve variações de sabores do

café conilon de acordo com a região de origem dos mesmos, algumas características observadas em amostras de café da Região Sul do Estado não estão presentes no café da Região Norte. Além disso, a variação de processo pós-colheita teve grande influência nas nuances presentes nas amostras de café degustadas.

Para obter a classificação dos cafés, foram calculadas as pontuações de cada atributo primário (são dez quesitos) e, de acordo com a pontuação final, as amostras são descritas conforme mostra a Tabela 3. Nesta classificação, o café com pontuação acima de 80 pontos corresponde ao Robusta fino.

O sabor e o aroma das amostras de café observadas nas análises sensoriais são característicos de um conjunto complexo de constituintes químicos voláteis (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999) e dos compostos solúveis em água quente, tendo como destaque: ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, compostos fenólicos, ácidos clorogênicos, cafeína, trigonelina e outros (MARTINEZ et al., 2014).

Tabela 3. Interpretação de resultados para descrever a qualidade do café conilon

| Pontuação Final | Descrição da Qualidade | Classificação do café |
|------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 90 -100 | Excepcional | Muito Fino |
| 80 - 90 | Fino | Fino |
| 70 - 80 | Muito Bom | Prêmio |
| 60 -70 | Bom | Boa Qualidade Usual |
| 50 - 60 | Médio | Boa Qualidade Usual |
| 40 - 50 | Razoável | Comercial |
| < 40 | | Comercializável |
| < 30 | | Abaixo da Mínima |
| < 20 | | Não Classificável |
| < 10 | | Escolha |

Fonte: Conilon Brasil (2011).

3.5. Composição Química e Qualidade do Café

Diversos trabalhos vêm sendo realizados na tentativa de relacionar a qualidade da bebida do café com sua composição química (DULSAT-SERRA; QUINTANILLA-CASAS; VICHI, 2016; TOLEDO et al., 2017). A análise sensorial (teste de xícara) apresenta subjetividade e, mesmo apresentando aceitabilidade em âmbito internacional na classificação da bebida do café, encontrar relação entre as propriedades físico-químicas e a qualidade da bebida poderá auxiliar a análise sensorial de forma mais padronizada e precisa (BORÉM et al., 2008).

Os aspectos avaliados na análise sensorial podem ser comparados com análises químicas, como por exemplo: a acidez, que pode ser avaliada pelas medidas de pH, acidez titulável total, acidez graxa; a doçura pode ser comparada com os teores de açúcares totais e redutores; o corpo, adstringência pelos conteúdos de cafeína, ácidos clorogênicos, trigonelina; e o aroma e a fragrância pelas análises dos constituintes voláteis, que podem ser analisados por cromatografia gasosa. A contribuição dos constituintes químicos no sabor e na análise sensorial é bastante complexa, no entanto, poucos trabalhos vêm sendo realizados a fim de averiguar as associações dos parâmetros físico-químicos e qualidade do café.

3.5.1. Acidez Titulável Total e pH

A acidez é um atributo importante na análise sensorial do café e a sua intensidade varia em função da espécie (arábica ou conilon), do estágio de maturação dos frutos, local de origem, tipo de colheita, forma de processamento, tipo de secagem e condições climáticas durante a colheita e secagem (FILHO et al., 2015). O aumento da acidez pode estar associado à diminuição da qualidade do café, e os cafés de bebida inferior podem exibir maior acidez (FILHO et al., 2013).

As análises da acidez titulável total podem possibilitar a classificação de cafés quanto à qualidade, dando maior segurança às classificações feitas pela "prova de xícara" (MALTA; SANTOS; MELO SILVA, 2008). O valor do pH é

indicativo de eventuais transformações dos frutos de café, como as fermentações indesejáveis que ocorrem na pré ou pós-colheita, originando defeitos (SIQUEIRA; ABREU, 2006).

3.5.2. Acidez Graxa

Os maiores valores de acidez graxa são encontrados para cafés de pior qualidade. Pinheiro et al. (2012) encontraram altos valores de acidez graxa para café seco em terreiro em relação ao valor do seco em secador. A exposição direta do café ao sol e a presença excessiva de luz podem favorecer reações fotoquímicas e elevar os níveis de acidez graxa do café. Em temperaturas altas, as membranas celulares podem romper e provocar o extravasamento de ácidos graxos, podendo comprometer a qualidade do café devido a possibilidade de oxidações (CORADI, BORÉM, OLIVEIRA, 2008) e reações de rancificação.

Os teores de lipídios nos grãos de café afetam a qualidade da bebida e estão também relacionados com os ácidos graxos, porém existem poucos estudos nesse sentido (BORÉM et al., 2008).

3.5.3. Condutividade Elétrica e Lixiviação de Potássio

Os testes de lixiviação de potássio e condutividade elétrica têm sido usados como possíveis indicadores da integridade de membranas celulares. Cafés que apresentaram bebidas de qualidade inferior (riada e rio) apresentaram os maiores valores de lixiviação de potássio e condutividade elétrica (NOBRE et al., 2011).

Maiores valores de condutividade elétrica e lixiviação de potássio para café conilon seco em secador de fogo direto foram superiores aos encontrados para as amostras de café seco em terreiro de estufa. A maior lixiviação de potássio, maior teor de íons e condutividade elétrica pode estar associado às altas temperaturas utilizadas durante a secagem, o que compromete a estrutura das membranas celulares, influenciando na qualidade da bebida do café (BORÉM et al., 2008).

Os maiores valores de condutividade elétrica e lixiviação de potássio foram observados em consonância com a piora na qualidade da bebida de amostras de café conilon, avaliadas ao serem mantidas em sacos de 0 a 10 dias após a colheita (ABRÃO et al., 2016).

3.5.4. Açúcares Redutores, não redutores e totais

Os açúcares, também conhecidos como carboidratos ou glicídios, são moléculas orgânicas constituídas de carbono, hidrogênio e oxigênio. Os carboidratos podem ser classificados como monossacarídeos, formados por uma unidade de fórmula geral $(CH_2O)_n$, onde “n” corresponde ao número de átomos de carbono, exemplos: glicose, frutose e galactose. Os carboidratos podem também ser classificados como dissacarídeos, formados por duas unidades de monossacarídeos, ligados por uma ligação glicosídica, tendo como exemplo a sacarose (glicose + frutose) e, existem os polissacarídeos, formados pela união de diversos monossacarídeos, tendo como principais exemplos a celulose e o amido (LEHNINGER; NELSON; COX, 2013).

Os açúcares podem também ser classificados como redutores e não redutores, quando há um grupo aldeído livre ou, de uma cetona que pode isomerizar em um aldeído na molécula, o açúcar é considerado redutor. O grupo aldeído na presença de um agente oxidante, como um íon metálico (Cu^{2+} ou Fe^{3+}) pode ser oxidado e o íon metálico ser reduzido, dessa forma, o açúcar funciona como agente redutor. A glicose é um açúcar redutor, devido a presença do grupo aldeído livre, mas existem também exemplos de dissacarídeos que são considerados açúcares redutores (Figura 1) (LEHNINGER; NELSON; COX, 2013).

A sacarose é um exemplo de açúcar não redutor, porém após a hidrólise, em meio ácido, libera a glicose e a frutose que possuem o grupo aldeído e são açúcares redutores. Na forma cíclica, o açúcar redutor é definido como aquele que possui hidroxila anomérica livre, conforme mostrado na Figura 2 (LEHNINGER; NELSON; COX, 2013).

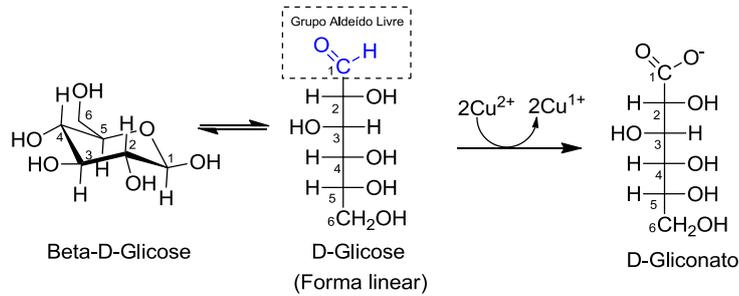


Figura 1. Oxidação da D-Glicose (açúcar redutor) na presença do íon Cu^{2+} .

Fonte: Lehninger; Nelson; Cox, 2013 (adaptação).

Para a determinação do teor de açúcares redutores, não redutores e totais em alimentos, os métodos tradicionais se baseiam na determinação, inicialmente, de açúcares redutores, que são oxidados na presença de sais que contém íons como o cúprico (Cu^{2+}), o férrico (Fe^{3+}) e o cátion prata (Ag^+) (DEMIATE et al., 2002; SILVA et al., 2003). Como nem todos os açúcares presentes nos alimentos encontram-se na forma de monossacarídeos, como por exemplo: a sacarose (frutose e glicose), na obtenção do teor de açúcares totais, a amostra obtida a partir do alimento tem que ser hidrolisada e, em seguida oxidada na presença dos íons mencionados (PAULA et al., 2012).

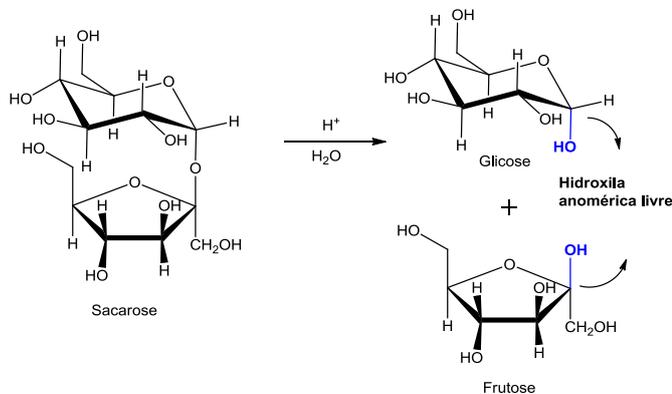


Figura 2. Hidrólise da sacarose e liberação dos açúcares redutores, glicose e frutose, contendo hidroxila anomérica livre.

Fonte: Lehninger; Nelson; Cox, 2013 (adaptação).

Os maiores teores de açúcares no café conferem à bebida um sabor mais adocicado. Durante o processo de torração do café os açúcares redutores, principalmente, reagem com aminoácidos (Reação de Maillard), dando origem a compostos coloridos desejáveis, responsáveis pela cor marrom

do café. Nessas reações são produzidos compostos voláteis que apresentam grande efeito no aroma do produto final, o que lhe atribui uma melhor qualidade (WANG; LIM, 2017).

Os açúcares não redutores, em particular a sacarose, são encontrados em maiores quantidades no café, e possuem grande importância sensorial. Essas substâncias são influenciadas pela torra, atuam como precursores de aromas, além de serem responsáveis pela formação de cor (CREWS, C.; CASTLE, 2007).

3.5.5. Reação de Maillard e formação dos Constituintes Voláteis do Café

Durante a etapa de torra, os constituintes voláteis do café são formados, sendo a sacarose um importante precursor desses compostos, uma vez que, nessa etapa é degradada drasticamente por reações de pirólise (caramelização) e/ou por Reação de Maillard (açúcar redutor + aminoácido) (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999).

A reação de Maillard inicia quando o grupo carbonila (C=O) presente nos açúcares redutores sofre um ataque nucleofílico do grupo amino (-NH₂) presente em aminoácidos ou proteínas, levando à formação de iminas, conhecidas como “Bases de Schiff”, devido à presença do grupo funcional RN=CR’R’), que podem ciclizar e levar à formação da glicosamina, uma substância instável, incolor, que não apresenta sabor e aroma (Figura 3) (NURSTEN, 2005; DAVIDEK et al., 2008).

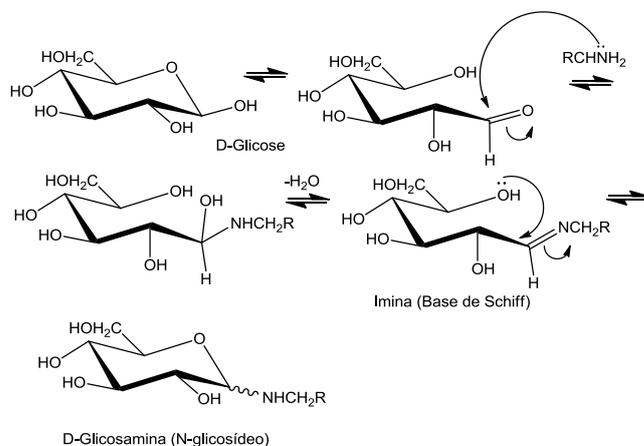


Figura 3. Mecanismo das etapas iniciais da Reação de Maillard.

Fonte: Nursten, 2005; Davidek et al., 2008.

Ao prosseguir as etapas da reação de Maillard, ocorre o rearranjo de Amadori a partir do íon imônio, levando à formação do Produto de Amadori (Figura 4) (NURSTEN, 2005; LI et al., 2014).

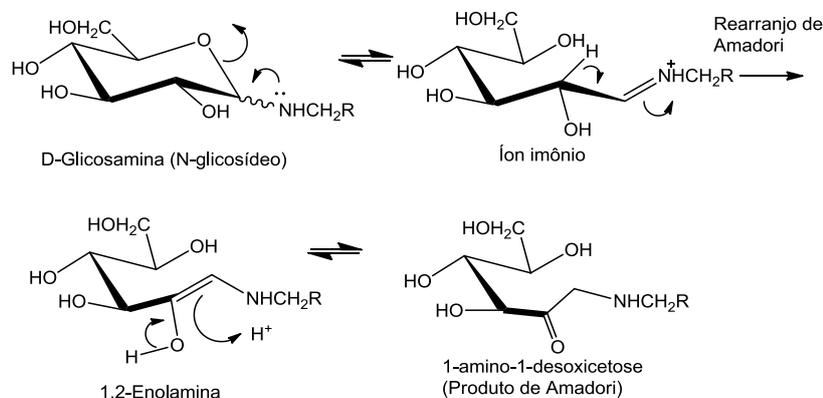


Figura 4. Mecanismo para a formação do Produto de Amadori.

Fonte: Nursten, 2005; Li et al., 2014.

Após enolização e a clivagem oxidativa da aminocetose (produto de Amadori), podem ser formados vários produtos de massas moleculares menores a partir do composto α -dicarbonílico (Figura 5) (NURSTEN, 2005; HALFORD et al., 2010).

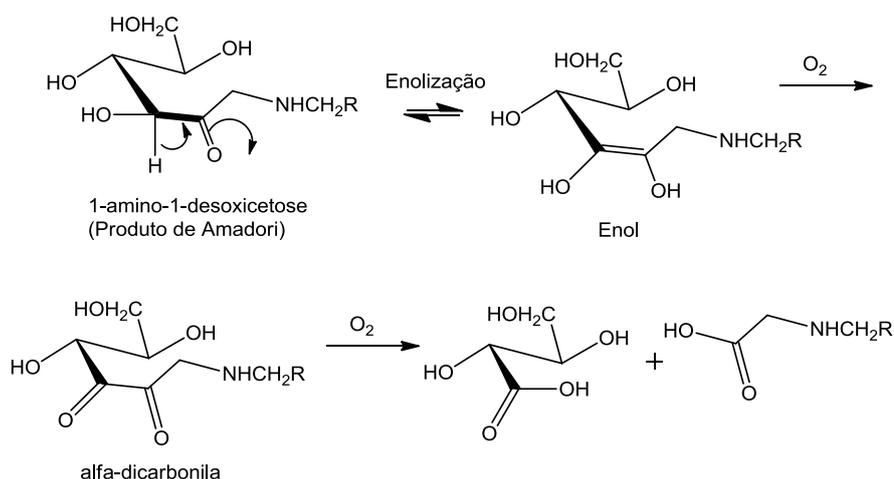


Figura 5. Formação de α -dicarbonila e de compostos de massas molares menores a partir do Produto de Amadori (Reação de Maillard).

Fonte: Halford et al., 2010.

Nas etapas posteriores, os compostos α -dicarbonílicos formados a partir dos Produtos de Amadori podem reagir com aminoácidos, produzindo α -aminocetonas e o aldeído de Strecker, sendo essa etapa da reação de Maillard conhecida como Degradação de Strecker. O mecanismo dessa etapa está posto na Figura 6, a reação entre uma α -dicarbonila e um aminoácido, com perda inicial de água, leva à formação da Base de Schiff, seguida de enolização. Pelo ataque nucleofílico de uma molécula de água obtém-se dois produtos: α -aminocetona e de um α -cetoácido. Esse último ao eliminar uma molécula de CO_2 proporciona a formação do aldeído de Strecker (Figura 6) (NURSTEN, 2005; VAN BA et al., 2012).

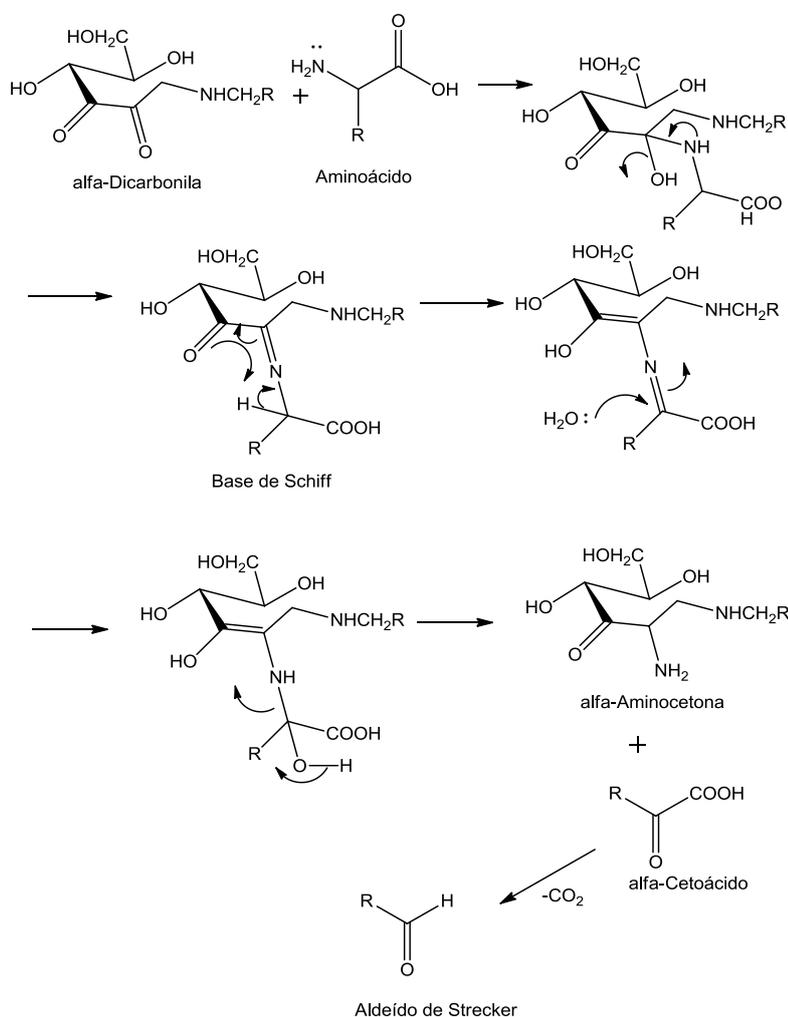


Figura 6. Mecanismo da Degradação de Strecker.

Fonte: Van Ba et al., 2012.

As reações de autocondensação e oxidação das α -aminocetonas (oriundas da degradação de Strecker) podem levar à formação das pirazinas (Figura 7) (NURSTEN, 2005), compostos que podem contribuir para o aroma do café (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999).

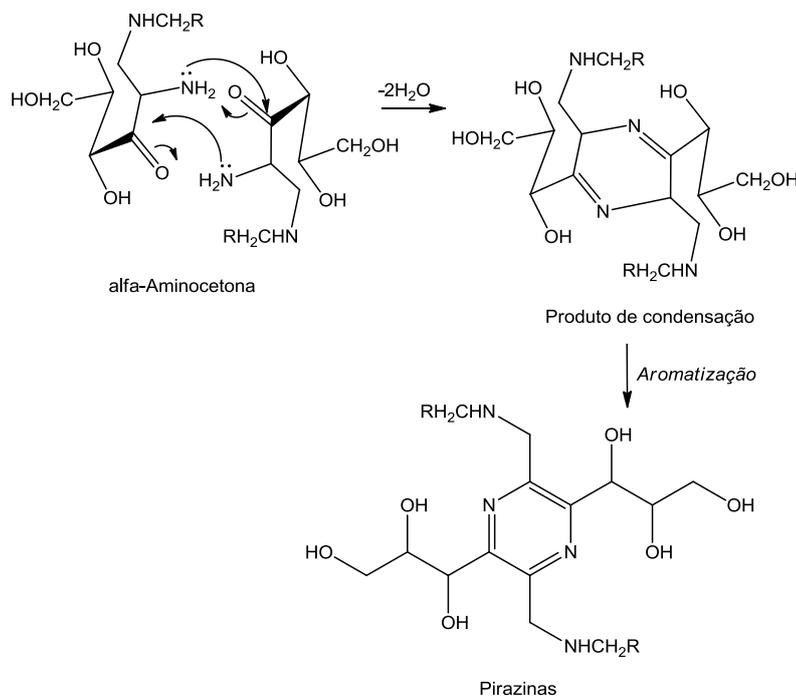


Figura 7. Mecanismo de formação de pirazinas pela reação de condensação de duas moléculas de α -aminocetonas.

Fonte: Nursten, 2005.

Além das pirazinas, durante a torra do café pela reação de Maillard, compostos pertencentes a várias classes são gerados, tais como: furanos, pirróis, piridinas, tiazóis, imidazóis, aldeídos e cetonas. Substâncias com atividades antioxidantes benéficos são geradas, contudo ocorre também a perda de nutrientes e geração de substâncias tóxicas, como: 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) e espécies reativas. A Figura 8 apresenta um esquema contendo um resumo das etapas da reação de Maillard e as classes de compostos voláteis gerados, sendo esses responsáveis pelo aroma e sabor café e de outros alimentos (KOSOWSKA, M.; MAJCHER, M.A.; FORTUNA, 2017).

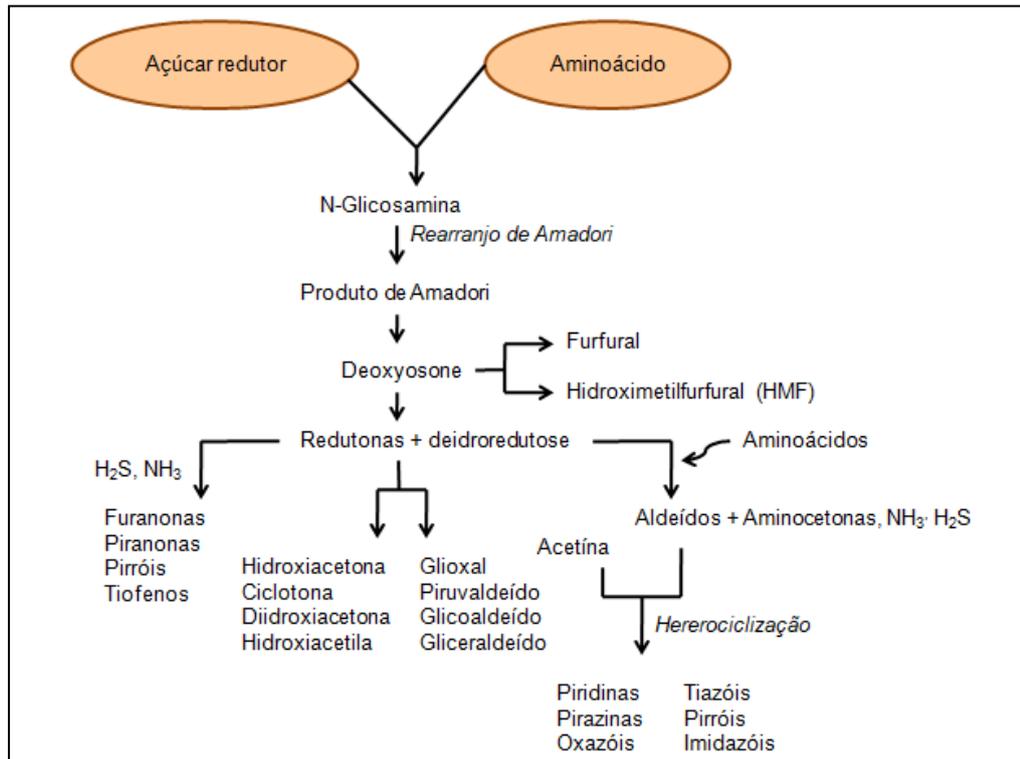


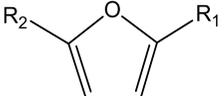
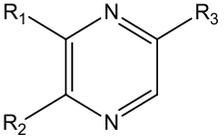
Figura 8. Resumo e classes de compostos voláteis que podem ser gerados durante as etapas da reação de Maillard.

Fonte: Kosowska, Majcher, Fortuna, 2017 (com adaptações).

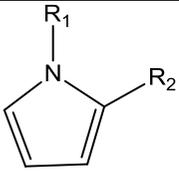
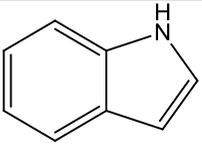
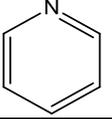
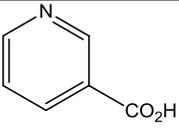
Os constituintes voláteis do café têm grande importância na qualidade da bebida. Conforme relatado esses compostos são obtidos pela reação de Maillard, bem como por reações de pirólise (caramelização), por meio de etapas de condensação, desidratação e polimerização (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999). As classes e estruturas gerais de compostos de baixa massa molecular identificados em voláteis de café estão apresentadas na Tabela 4, assim como seus precursores, o tipo de reação que os originou, exemplos de voláteis de importância e seus atributos sensoriais (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999; LEE et al., 2015; YANG et al., 2016).

A composição dos voláteis do café é bastante complexa, mais de 800 compostos já foram identificados, sendo encontrados em ordem decrescente: furanos (38-45%), pirazinas (25-30%), piridinas (3–7%) e pirróis (2-3%), além de outras classes (ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e outros) (NIJSSSEN et al., 1996; HO, ZHENG, LI, 2015).

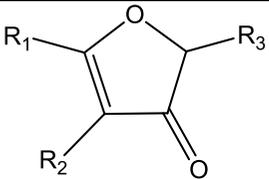
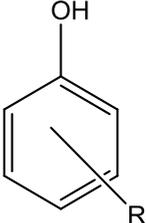
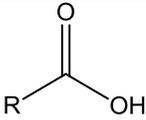
Tabela 4. Constituintes voláteis que influenciam o *flavor* do café: estruturas gerais, classe, precursor(es) e origem, exemplo(s) de moléculas e seus atributos sensoriais

| Estrutura Geral | Classe | Precursor(es) e origem | Exemplo(s) | Atributo Sensorial |
|---|-----------|---|--|--|
|  | Furanos | Açúcares Caramelização | 2-Etilfurano Furan-2-ilmetanotiol Acetato de furfurila 2-vinilfurano 2-hidroximetilfurano 2,5-dimetilfurano 2-Acetilfurano 6-Metil-2,3-diidrotieno[2,3-c]furan (caveofurano) | Adocicado, torrado Torrado Frutado, éster Nota de cacau, rum, eteral Amargo, gosto de queimado Eteral Balsâmico-doce Odor de carne |
|  | Pirazinas | Açúcares redutores + Aminoácidos – Maillard + Degradação de Streck | 2-etilpirazina 2-Etil-3,5-dimetilpirazina 2-etil-5-metilpirazina 2,3,5-Trimetilpirazina 2-Etil-6-metilpirazina 2-Etilpirazina 2,5-Dimetilpirazina 2,6-Dimetilpirazina 2-Metilpirazina 2,3-Dimetilpirazina | Manteiga, torrado Torrado, terroso Nozes, torrado Nozes, café torrado Avelã, torrado Nozes, torrado Nozes, gramado, milho, torrado Nozes, frito, doce Nozes, chocolate, torrado Nozes, verde, torrado |

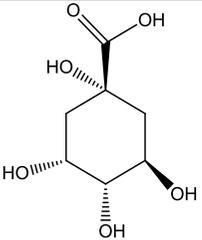
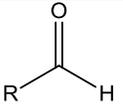
Continuação

| Estrutura Geral | Classe(s) | Precursor(es) origem | e | Exemplo(s) | Atributo Sensorial |
|--|--|---|-------------------------------|--|--|
|  | Pirróis | Açúcares Aminoácidos Maillard Degradação Streck | + - + de ou da | Pirrol 1-Furfurilpirrol N-etil-2-formilpirrol 2-Acetilpirrol N-furil-2-metilpirrol | Nozes, herbal, feno Verde, tipo cogumelo, feno Torrado Caramelo Torrado, velho |
|  | Indol | Degradação trigonelina | | Indol | Queimado |
|  | Piridina | | | Piridina | Adstringente, amargo, queimado, torrado |
|  | Piridina + Ácido carboxílico | Trigonelina Degradação | - | Ácido nicotínico | Ácido fraco |

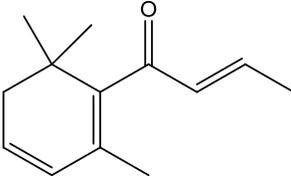
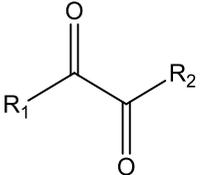
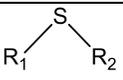
Continuação

| Estrutura Geral | Classe(s) | Precursor(es) e origem | Exemplo(s) | Atributo Sensorial |
|--|------------------------|--|---|---|
|  | Furanonas | Açúcares Caramelização | - 4-Hidroxi-2,5-dimetil-3[2H]-furanona Furaneol | Caramelo Morango doce, abacaxi fresco |
|  | Fenóis | Ácidos clorogênicos- Degradação | Fenol Vanilina | Esfumaçado Baunilha |
|  | Ácidos carboxílicos | Açúcares Fragmentação ou Ácidos graxos - Degradação | 4-Etil-2-metoxifenol Ácido butanoico Ácido hexadecanoico Ácido octanoico | Picante, esfumaçado Azedo Ácido graxo rançoso Doce, mau gosto "cheesy" |

Continuação

| Estrutura Geral | Classe(s) | Precursor(es) e | Exemplo(s) | Atributo Sensorial |
|---|---------------------|---|---|---|
|  | Ácidos carboxílicos | Ácidos clorogênicos-Degradação | Ácido quínico | |
|  | Aldeídos | Açúcares | 2-Metilbutanal 3-Metilbutanal Hexanal | Maltado Maltado Óleo verde, Grama |
| | Aldeído Furano | + redutores Aminoácidos Maillard Degradação Streck | + - + de | Furfural Amêndoa, pão, doce |

Continuação

| Estrutura Geral | Classe(s) | Precursor(es) e origem | Exemplo(s) | Atributo Sensorial |
|--|----------------------------|--|--|---|
|  | Cetona insaturada | α,β -Carotenóides Oxidação | - β -Damascenona | Frutado, mel |
|  | α -Dicetonas | Açúcares redutores Aminoácidos Maillard Degradação Streck | Butano-2,3-diona + Pentano-2,3-diona - Hexano-2,3-diona + de | Manteiga Óleo de manteiga Manteiga, creme, doce |
|  | Compostos contendo enxofre | | 3-Metiltiofeno 2-Furfurilmetildissulfito | 'Ash' Café |

Fonte: De Maria; Moreira; Trugo, 1999; Lee et al., 2015; Yang et al., 2016 (com adaptações).

3.5.6. Constituintes Bioativos do Café: Ácidos clorogênicos, trigonelina e cafeína

O café possui compostos biologicamente ativos, ou seja, que são benéficos à saúde humana, tais como: ácido clorogênico, trigonelina e cafeína (FASSIO et al., 2016). Os ácidos clorogênicos, além de exercerem papéis fisiológicos e farmacológicos, como atividade antioxidante, também se destacam ao contribuir com o sabor e o aroma que caracterizam a bebida de café. Esses ácidos são degradados durante a etapa de torra, originando os compostos: ácido cafeico, lactonas e diferentes fenóis, por meio de Reações de Maillard e Strecker, resultando em maior amargura, adstringência e aroma (AYELIGN; SABALLY, 2013).

Os ácidos clorogênicos são compostos originados da reação de esterificação entre o ácido *trans*-cinâmico (caféico, ferúlico ou *p*-cumárico) com o ácido quínico (Figura 9). Esses ácidos podem estar presentes em frutas vermelhas, maçãs e ocorre de forma mais abundante em grãos de café. Na etapa de torra, os ácidos clorogênicos são responsáveis pela formação dos compostos fenólicos, que podem atribuir aroma e sabor ao café conforme supracitado, conjuntamente com os derivados dos açúcares, aminoácidos e ácidos graxos (MONTEIRO, TRUGO, 2005; OLIVEIRA; BASTOS, 2011).

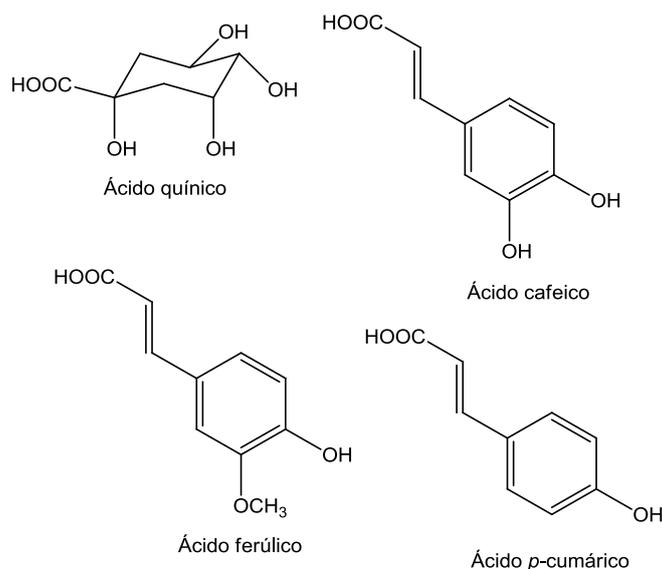


Figura 9. Estruturas dos precursores dos ácidos clorogênicos.

As estruturas dos cinco principais ácidos clorogênicos encontrados em café foram apresentadas na Figura 10. O mais abundante em café é o 5-ACQ (OLIVEIRA, BASTOS, 2011), que é usualmente utilizado como padrão na quantificação de ácidos clorogênicos em extratos aquosos de café por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, em inglês HPLC).

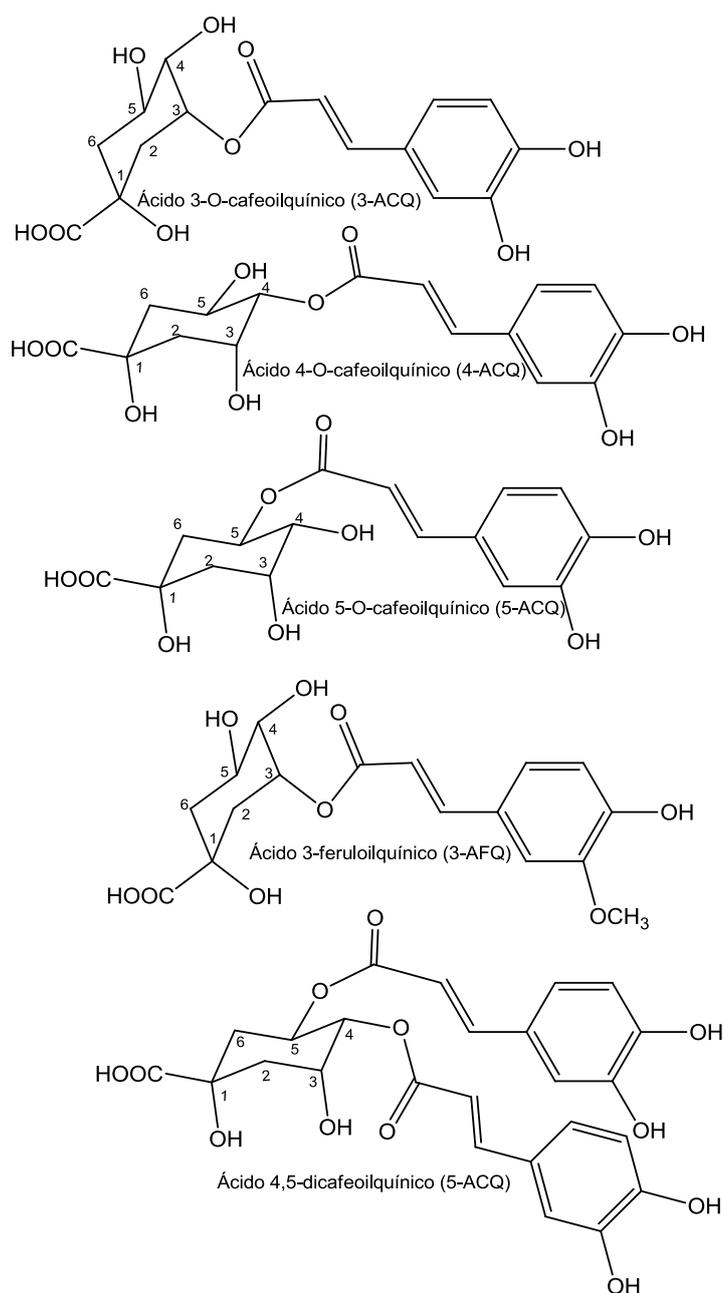


Figura 10. Estruturas dos ácidos clorogênicos que podem ser encontrados em café.

Com a torração, os polifenóis colaboram de forma significativa para o aroma e sabor do produto final e por isso são considerados responsáveis pela adstringência dos frutos (FARAH; DONANGELO, 2006).

A trigonelina corresponde a uma *N*-metil betaína (Figura 11) que está presente em torno de 1% do grão cru de café. Durante a torra, essa substância sofre desmetilação e é responsável pela formação da niacina (Vitamina B3) e de compostos que contribuem para o aroma e sabor do café, dentre eles destacam-se: ospirróis e as piridinas (MONTEIRO; TRUGO, 2005; VIGNOLI et al., 2014).

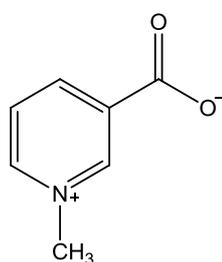


Figura 11. Estrutura da trigonelina.

A cafeína (Figura 12) é um alcalóide presente em uma gama de bebidas (chás, cafés, refrigerantes etc.) sendo que esta atua no organismo humano principalmente como estimulante do sistema nervoso central e diurético. A cafeína encontra-se livre no citoplasma de forma complexada como clorogenato de potássio, sendo este pouco solúvel encontrando por isso certa mobilidade entre os tecidos. A cafeína é bastante estável durante a torração (DENOEUDE et al., 2014).

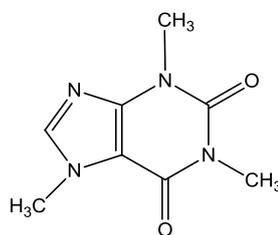


Figura 12. Estrutura da cafeína.

Nas diferentes variedades analisadas, o acúmulo de cafeína é maior nas folhas do que no período de maturação do grão de café, maior em robusta do que na arábica. Em café robusta, as expressões de genes CcXMT1 e CcDXMT são predominantes e a atividade transcricional é maior nas folhas do que em grãos maduros e está altamente correlacionada com o acúmulo de cafeína. No café arábica, o nível de expressão CaXMT1 é rico em folhas e CaDXMT2, em menor grau, enquanto a atividade transcricional global foi fraca durante a maturação dos grãos, sugerindo que o controle transcricional de genes relacionados à cafeína difere em diferentes órgãos e entre os cafés arábica e robusta. Estes resultados indicam que o acúmulo de cafeína nas espécies de *Coffea* foi modulado por uma combinação de regulação transcricional diferencial e evolução do genoma (PERROIS et al., 2015).

3.6. Cromatografia aplicada à análise da composição química do café

A determinação da composição química do café apresenta grande importância, tanto em relação à obtenção de parâmetros para correlacionar com sua qualidade de bebida e, por também ser um produto alimentício. O café atualmente é considerado um alimento funcional, e, quantificar e analisar seus constituintes químicos e suas propriedades antioxidantes é fator não só de interesse acadêmico, mas também são importantes informações a serem obtidas e repassadas aos consumidores da bebida. Dessa forma, os compostos voláteis e não voláteis do café vêm sendo analisados e quantificados por técnicas cromatográficas (MONTEIRO; TRUGO, 2005; VIGNOLI et al., 2014; YASHIN, 2017).

A cromatografia é um método físico-químico utilizado na separação de componentes de uma mistura, através da distribuição destes componentes em duas fases, que estão em contato íntimo (fase móvel e fase estacionária). Os componentes que são fortemente retidos pela fase estacionária movem devagar com o fluxo da fase móvel. Enquanto, os componentes que interagem fracamente com a fase estacionária movem mais rapidamente. Como consequência dessas migrações diferenciadas, os vários componentes da mistura se separam em bandas discretas e podem ser analisados

qualitativamente ou quantitativamente (COLLINS, BRAGA, BONATO, 2006; LANÇAS, 2009).

Cromatografia vem do grego (*chroma*, cor e *grafein*, grafia). No início do Séc. XX, a técnica foi criada por Mikhail S. Tswett (botânico russo) que estudava pigmentos de folhas extraído de plantas usando uma coluna de vidro contendo carbonato de cálcio (CaCO_3) e o solvente usado foi o éter de petróleo. A partir da cromatografia em coluna, as técnicas cromatográficas foram evoluindo (Figura 13) e atualmente existem diferentes técnicas cromatográficas acopladas a vários detectores que são usados conforme a natureza da análise. A escolha da técnica adequada depende da natureza química e complexidade da mistura que será fracionada (COLLINS, BRAGA, BONATO, 2006; PACHECO et al., 2015).

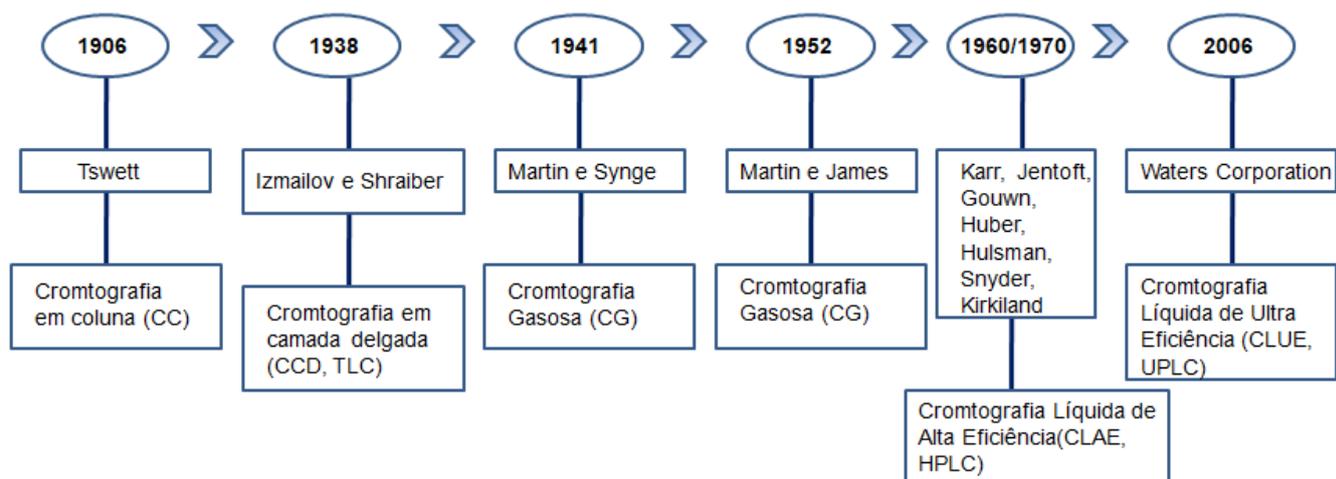


Figura 13. Evolução das Técnicas cromatográficas.

Fonte: Collins, Braga, Bonato, 2006; Pacheco et al., 2015.

Os cromatógrafos modernos apresentam automação, colunas modernas preenchidas por filmes finos onde contém a fase estacionária, detectores sensíveis e seletivos. O cromatógrafo a gás (CG) que apresenta como fase móvel um gás inerte é composto por: injetor, coluna (espessura em micrometros), que fica em um forno de aquecimento (a temperatura é controlada), detector (DIC ou FID, MS, MS/MS), os dados são registrados e

analisados no computador, gerando o cromatograma. O cromatógrafo líquido de alta eficiência é composto por um injetor, bomba para solventes, misturador e os mais modernos têm desagaseificador, detector (UV, fluorescência, DAD, MS, MS/MS), os dados são registrados e analisados no computador, gerando o cromatograma (PACHECO et al., 2015).

As colunas e os detectores são utilizados conforme a natureza dos analitos. Os métodos analíticos são criados variando as condições cromatográficas visando otimizar a corrida, de modo a obter melhor separação, resolução, menor tempo de análise, linearidade, seletividade e repetitividade (COLLINS, BRAGA, BONATO, 2006; PACHECO et al., 2015).

Os constituintes não voláteis, que são termosensíveis, geralmente são analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (fase móvel líquida, interage com o analito) e os constituintes voláteis por cromatografia gasosa (gás inerte, usado como fase móvel), nesse caso as amostras são injetadas a altas temperaturas no equipamento. A cromatografia pode ser utilizada para a identificação de compostos, por comparação com padrões previamente existentes; para a purificação de compostos, separando-se as substâncias indesejáveis; e para a separação dos componentes de uma mistura (COLLINS, BRAGA, BONATO, 2006; LANÇAS, 2009; PACHECO et al., 2015).

O uso de técnicas cromatográficas na determinação da composição química de café teve início na década de 80. Trugo (1984) realizou uma análise de constituintes não voláteis (ácidos clorogênicos) por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (HPLC-MS/MS) em amostras de cafés. A partir desse trabalho, as análises em HPLC passaram a ser usadas na quantificação de importantes constituintes de cafés, tais como: ácidos clorogênicos (CLIFFORD, 2000; FARAH et al., 2005; PYRZYNSKA, SENTKOWSKA, 2015), cafeína (CASAL et al., 2000; SHRESTHA et al., 2016), trigonelina (CASAL et al., 2000; MONTEIRO; TRUGO, 2005; VIGNOLI et al., 2014), açúcares (PAULI, CRISTIANO, NIXDORF, 2011), aminoácidos (ARNOLD et al.; 1994; MURKOVIC, DERLER, 2006), ácidos orgânicos (JHAM et al., 2002) e outros.

Os constituintes voláteis do café vêm sendo analisados por cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Essa análise tem grande importância, pois esses compostos de baixas massas moleculares são os principais responsáveis pelo aroma e sabor do café. Além disso, a técnica de SPME (*Solid Phase Micro Extraction*) combinada com CG-EM vem sendo utilizada em análise dos voláteis de café, tendo como principais vantagens: a alta sensibilidade nas análises e por ser isenção de solventes orgânicos (PETISCA et al., 2014; VÁRVÖLGYI et al., 2015; BRESSANELLO et al., 2017).

A microextração em fase sólida (SPME) é uma técnica utilizada no preparo miniaturizado de amostras (extração de constituintes orgânicos), sem usar solventes, para análise por cromatografia ou espectrometria. Nessa técnica, os analitos são extraídos em fase gasosa ou líquida por adsorção ou absorção utilizando um revestimento de polímero fino fixado à superfície sólida de uma fibra, dentro de uma agulha de injeção ou dentro de um capilar (PRAGST, 2007).

As etapas utilizadas na análise por SPME foram apresentadas na Figura 14. Uma quantidade conhecida de amostra (líquida ou sólida) é colocada dentro de um vial (frasco de vidro) (I), que nesse caso é vedada por um septo de borracha contido dentro de uma rosca; esse vial é aquecido dentro de uma incubadora (II), na temperatura desejada e, então a fibra é colocada dentro do vial e é exposta só após essa etapa (III). A fibra pode entrar em contato com a amostra, por imersão, método utilizado para análise de urina, pesticidas ou de substâncias semi-voláteis ou pode ser usado o modo *headspace* (HS-SPME), onde a fibra não entra em contato com a amostra e adsorve somente os voláteis liberados pela amostra em uma determinada temperatura e tempo de extração (PRAGST, 2007). Após essa etapa, a fibra é colocada dentro do injetor do cromatógrafo a gás e os constituintes voláteis são dessorvidos e injetados diretamente na coluna (IV). Utilizando condições cromatográficas adequadas, os compostos podem ser separados e quando a análise é realizada pela combinação SPME-CG-EM, são obtidos os espectros de massas, que permitem a identificação dos compostos por comparação com os

existentes na biblioteca e ou realizando os cálculos de índice de retenção ou injeções de padrões, para corroborar com as informações.

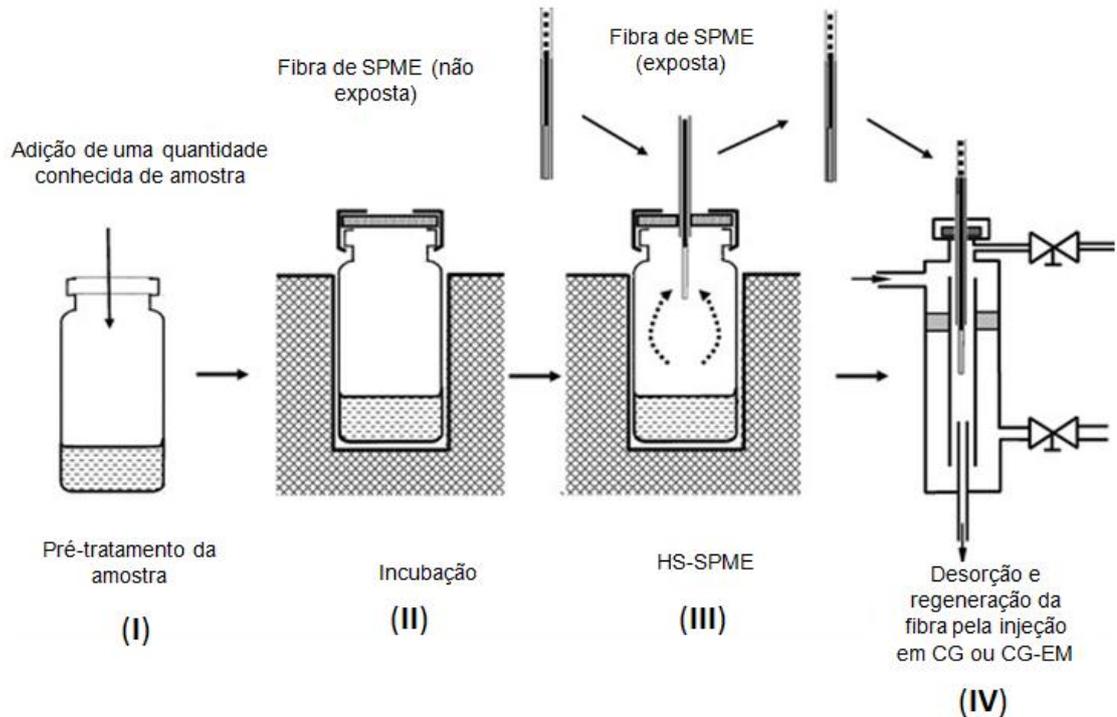


Figura 14. Etapas utilizadas na análise de voláteis por SPME pelo modo *headspace* (HS-SPME).

Fonte: Pragst et al., 2007 (traduzido e com modificações).

As análises dos constituintes voláteis de café, geralmente, são realizadas pela técnica HS-SPME combinada com CG-EM (BUDRY et al., 2011; CAPRIOLI et al., 2012; BRESSANELLO et al.; 2017), sendo que já foram identificados mais de 800 compostos voláteis em café torrado (KIM et al., 2018).

Dessa forma, as técnicas cromatográficas têm sido de grande importância nos estudos da composição química de constituintes não voláteis (HPLC) e voláteis do café (CG, CG-EM e combinação da HS-SPME-CG-EM).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção das amostras de café

As amostras de café *C. canephora* foram cultivadas na Fazenda Experimental de Venda Nova do Imigrante, em 720 m de altitude, obtidas de cultivares clonais Incaper: Vitória (V1-V13) e Robustão Capixaba (R1-R3, R6-R10), a partir de 21 tratamentos, 4 repetições e 8 plantas/parcela.

Essas amostras de café *C. canephora* foram obtidas na safra de 2015, pela colheita do café cereja entre julho-agosto/2016. O processamento das 21 amostras foi realizado por via seca (processamento natural), na Fazenda Experimental de Venda Nova do Imigrante, onde as amostras de café em coco de cada tratamento foram secadas em terreiro coberto até atingirem umidade de 11-12%. Após a etapa de secagem, foram armazenadas em sacolas fechadas e beneficiadas no mês de fevereiro/2017. As quatro repetições foram agrupadas e as 21 amostras de café *C. canephora* obtidas foram usadas nas análises físico-químicas, que foram realizadas na Central Analítica e no Laboratório de Química do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde (CCENS) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), em Alegre-ES.

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com 21 tratamentos e quatro repetições, avaliando-se as seguintes características: acidez titulável total, medidas de pH a 25 e 96°C, teores de açúcares redutores, não redutores e totais, condutividade elétrica e lixiviação de potássio. Os teores de ácidos clorogênico (5-CQA), trigonelina e cafeína foram quantificados nas amostras de café *C. canephora* por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), pelo método do padrão externo.

4.2. Acidez Titulável Total

A acidez titulável total foi determinada por titulação utilizando uma solução de NaOH 0,1 molL⁻¹. Foram pesados 2g de café moído e foram adicionados 50 mL de água destilada, a mistura foi agitada por 1h. Em seguida, procedeu-se uma filtração simples, retirou-se uma alíquota de 5 mL dessa solução, que foi colocada em um erlenmeyer contendo 50 mL de água

destilada. Antes da titulação foram adicionadas 3 gotas de fenolftaleína e, em seguida, realizou-se a titulação até a viragem, com NaOH 0,1 mol L⁻¹. O resultado foi expresso em mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹ por 100g de amostra (AOAC, 1990).

4.3. pH a 25 °C e 96 °C

Para a determinação do pH, foram colocados 5,00 g de café moído e adicionados 50,00 mL de água Mili-Q, a 25 °C, que foi agitado por 30 minutos. Após esse tempo, a mistura foi deixada em repouso por 10 minutos. O líquido sobrenadante foi decantado para um frasco seco e o pH foi determinado por meio de um pHmetro de bancada da marca Digimed DM-22. Para a determinação do pH após fervura a 96 °C, foi usada uma nova amostra de café, à qual foram adicionados 50,00 mL de água Mili-Q e a mistura fervida por 1 minuto nessa temperatura. A seguir, procedeu-se de forma análoga ao procedimento anterior. A leitura do pH foi realizada quando a amostra atingiu a temperatura ambiente (IAL, 1985).

4.4. Acidez Graxa

Para a determinação da acidez graxa foram utilizados 40 g de cada amostra de café moído e 100 mL de tolueno. Essa mistura foi agitada por 1h e 30 min. Após esse tempo, procedeu-se uma filtração simples. O filtrado (25 mL) foi misturado a 25 mL de álcool etílico e 3 gotas de fenolftaleína e, então, foi realizada a titulação com uma solução alcoólica de KOH 0,1 mol L⁻¹. O resultado da acidez graxa foi expresso em mL de KOH por 100g de massa seca, calculado de acordo com as Equações 1 e 2 (AACC, 1995).

$$PS = (1 - U(b.u.)) \times 40g \quad (1)$$

em que: PS = peso da amostra seca (g); e U(b.u.) = umidade base úmida %

$$AG = (V \times 100) / PS \quad (2)$$

em que: V = volume gasto de KOH na titulação da mistura (extrato + indicador) em mL; e AG = acidez graxa (mL de KOH/100 g de massa seca).

4.5. Análise de açúcares

Os açúcares totais e redutores foram extraídos pelo método de Lane-Enyon, citado pela AOAC (1990) e determinados pela técnica de Somogy, adaptada por Nelson (1944). Os açúcares não redutores foram encontrados pela diferença entre os açúcares totais e redutores. Os valores foram expressos em porcentagem.

4.6. Análise de Condutividade elétrica e Lixiviação de potássio

A determinação da condutividade elétrica (CE) nos grãos crus de café foi realizada adaptando-se a metodologia proposta por Krzyzanowski, França Neto e Henning (1991). Foram separados 50 grãos de café sem defeitos visíveis e as massas aferidas (precisão de 0,001 g). Subsequentemente, estas amostras foram imersas em 75 mL de água deionizada. Após um período de 5 horas de embebição, as soluções sem os grãos de café foram vertidas para outro recipiente, onde foi realizada a leitura da condutividade elétrica em condutivímetro da marca Digimed DM32. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de amostra.

Após a leitura da condutividade elétrica, as soluções foram submetidas à determinação da quantidade de potássio lixiviado. A leitura foi feita em fotômetro de chama DM-62 da marca Digimed. Com os dados obtidos, foi calculada a concentração de potássio lixiviado com os resultados expressos em ppm (PRETE, 1992).

4.7. Determinação simultânea de ácido clorogênico, trigonelina e cafeína

Para a determinação simultânea dos teores de ácido clorogênico, trigonelina e cafeína, foram utilizados 0,5 g de café moído e 100 mL de água Mili-Q a 80 °C, sob agitação magnética por 15 minutos. Após esse tempo, procedeu-se uma filtração simples; o filtrado foi coletado em balão volumétrico de 100 mL. Em seguida, após esfriar em temperatura ambiente, foi realizada uma filtração usando uma seringa contendo um filtro com membrana de 0,45 μm e os extratos aquosos de café foram colocados em vials de 1mL. Esses

extratos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) no cromatógrafo da marca Shimadzu (modelo Prominence), usando coluna de fase reversa C-18 Slim-pack VP-ODS Shimadzu (250 mm de comprimento x 4,6 mm DI). O sistema é acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Shimadzu (modelo SPD-20A), conectado por interface (CBM-20A) a um microcomputador para processamento de dados. As condições de análise utilizadas foram: fluxo de 1 mL min⁻¹; fase móvel: metanol grau HPLC, água Mili-Q e ácido acético grau HPLC, na proporção de 20:80:1; temperatura da coluna 40 °C e comprimento de onda de 272 nm (ABRAHÃO et al., 2008).

O método de padrão externo foi utilizado na quantificação simultânea dos teores de ácido clorogênico, trigonelina e cafeína nas amostras de café *C. canephora*. Para isso, foram preparadas soluções de concentrações conhecidas dos padrões dessas substâncias, adquiridos da Sigma Aldrich, que foram analisadas nas condições supracitadas. Através das áreas dos picos de cada amostra nos cromatogramas e concentrações conhecidas, foram obtidas as retas de calibração com R²>0,99; as equações foram usadas nos cálculos, por meio das áreas desses constituintes obtidas dos cromatogramas das análises dos extratos dos cafés.

As soluções de trigonelina (cloridrato de 1-metilpiridínio-3-carboxilato) foram preparadas a 12,5; 25; 50; 100 µg mL⁻¹, as soluções do ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico, 5-ACQ) utilizadas na obtenção da reta de calibração foram preparadas nas concentrações de 25, 50, 100, 150 e 300 µg mL⁻¹(ppm), e as soluções do padrão de cafeína (1,2,7-trimetilxantina) foram utilizadas nas concentrações de 40, 60, 80, 100 e 200 µg mL⁻¹.

4.8. Análises dos voláteis de café conilon cultivados em diferentes altitudes (240 m, 350 m, 580 m e 720 m) por HS-SPME cominada com CG-EM

As amostras de café conilon cultivadas em diferentes altitudes (240 m, 350 m, 580 m e 720 m) foram cedidas pelo Prof. Lucas Pereira Louzada do IFES Venda Nova-ES. As quatro amostras de café conilon foram denominadas de C1-C4, respectivamente. Essas amostras foram torradas, moídas e

submetidas à extração por HS-SPME combinada com CG-EM. Para isso foram pesadas 3 g dessas amostras de cafés (torrados e moídos), que foram colocadas em vial apropriado para *headspace* (frasco de vidro de 20 mL), com tampa magnética de rosca e septo de silicone, que foi submetido a aquecimento a 70 °C por 30 minutos. Os voláteis foram coletados por HS-SPME pela fibra DVB/CAR/PDMS (Divinilbenzeno/Carboxeno/Poldimetilsiloxano, espessura do filme de 50 µm) e injetados no cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM) QP-PLUS-2010 da *Shimadzu*. A coluna capilar de sílica fundida usada foi a Rtx-5MS (30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno), o hélio foi usado como gás de arraste, com fluxo de 1,67 mL/min. A temperatura do injetor foi de 250 °C e do detector de 300 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 40 °C, sendo programada para ter acréscimos de 3 °C a cada minuto, até atingir a temperatura máxima de 125 °C na qual permaneceu por um minuto, depois a temperatura foi aumentada a 10°C por minuto até atingir a temperatura de 245 °C, que foi mantida por 3 minutos. Para determinar os constituintes químicos, os espectros de massas obtidos foram comparados com os da biblioteca do aparelho, com dados de outros trabalhos e com os índices de Kovats (ADAMS, 2007). Para realizar o cálculo dos índices de Kovats (IK), foi injetada no cromatógrafo uma mistura de alcanos lineares (C₈ a C₂₃) nas mesmas condições usadas na análise dos referidos voláteis de café (FRANCA et al., 2009, PEREIRA, 2017).

Os índices de retenção (IK) foram calculados usando a equação 3 (ADAMS, 2007).

$$KI = 100Z + \frac{100[(\log t'_{RX}) - (\log t'_{RZ})]}{(\log t'_{RZ} + 1) - (\log t'_{RZ})} \quad (3)$$

em que:

X = composto analisado;

Z = número de átomos de carbono do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente anterior ao tempo de retenção de X;

t'_{RX} = tempo de retenção ajustado de X;

t'_{RZ} = tempo de retenção ajustado de Z;

$t'_{RZ} + 1$ = tempo de retenção ajustado do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente posterior ao tempo de retenção de X.

4.9. Umidade

A determinação do grau de umidade das amostras de café conilon C1-C4 foi realizada usando grãos inteiros por método de estufa de acordo com Ministério da Agricultura, Pesca e Abastecimento do Brasil (MAPA, 2009). Para cada amostra foi utilizado um béquer de vidro, que foi seco em estufa a 105°C. Após o período de 30 minutos, o béquer foi retirado da estufa e resfriado em um dessecador contendo sílica gel submetido a vácuo constante, por também, 30 minutos e então pesou-se em uma balança com sensibilidade de 0,001g. Distribuiu-se uniformemente cada amostra de café no béquer (em torno de 3g), que foi pesado novamente com os grãos. O béquer contendo a amostra de cada café foi deixado na estufa a 105°C por 24 horas. Depois desse tempo, retirou-se e em seguida foi resfriado no dessecador a vácuo constante por 30 minutos e realizou-se a pesagem. O grau de umidade de cada amostra de café foi obtido de acordo com a equação 4. O procedimento foi realizado em triplicata para cada amostra de café e o grau de umidade foi determinado pelo cálculo da média aritmética.

$$\% \text{ de Umidade (U)} = [100 \times (P2 - P1)] / (P2 - t) \quad (4)$$

em que:

P1 = peso inicial, peso do béquer mais o peso dos grãos de café úmidos (g);

P2 = peso final, peso do béquer mais o peso dos grãos de café secos (g); e t = tara, peso do béquer (g).

4.10. Estudo de diferentes solventes para determinação da acidez graxa de café

Para as quatro amostras de café conilon C1-C4 foram determinados os valores de acidez graxa conforme o protocolo convencional, descrito no item 4.4. Neste caso, as amostras de café crus foram moídas para serem utilizadas nesta análise. Além desta metodologia foi testada a mesma análise utilizando outros solventes extratores para a análise de acidez graxa de café. O tolueno foi substituído pelos seguintes solventes: hexano, clorofórmio, éter dietílico, acetato de etila e etanol. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Alíquotas de cada extrato obtido pelos seis solventes citados na extração dessas amostras de café foram derivatizados e analisados por CG-EM.

4.10.1. Derivatização dos extratos de café conilon (reação de transesterificação)

Inicialmente, em um erlenmeyer de 25 mL, dissolveu-se 0,03 g de hidróxido de potássio (KOH) em 10 mL de metanol sob agitação magnética e aquecimento em banho-maria a 45 °C. Os extratos de café obtidos pelas análises de acidez graxa descritas acima, utilizando os solventes de diferentes polaridades: tolueno, hexano, clorofórmio, éter dietílico, acetato de etila e etanol, foram submetidos à reação de transesterificação (derivatização) para análise em CG-EM. Para isso, foram retirados 100 µL de cada extrato, que foram colocados em vidro cônico e secados na presença de nitrogênio gasoso. Após essa etapa foram submetidos à reação de transesterificação, pela adição de 35 µL da solução metanólica de KOH, preparada previamente, que foi submetido a aquecimento por 10 minutos a 45 °C em banho-maria (AL-HAMAMRE et al., 2012, com modificações).

Após esse tempo, o material foi esfriado à temperatura ambiente, transferido para um funil de separação, pela adição de 5 mL de hexano e 5 mL e, após decantação por 10 minutos, a fase inferior (glicerol e impurezas) foi retirada. A fase superior foi lavada 3 vezes com 5mL de solução de HCl (0,5%, v v⁻¹). A fase aquosa foi recolhida juntamente com a anterior.

A fase superior foi lavada com 5 mL de solução saturada de NaCl e, em seguida, lavada com 5 mL de água destilada. Foi medido o pH da fase aquosa com papel universal indicador de pH. O processo de lavagem com água destilada foi realizado até obtenção do pH neutro. A fase superior foi coletada e secada com sulfato de sódio anidro, posteriormente realizou-se uma filtração (AL-HAMAMRE et al., 2012, com modificações) e foi retirado 10 µL do filtrado, que foi colocado em um vial de 2 mL, onde o volume foi completado com hexano para análise em CG-EM.

4.10.2. Análise por CG-EM dos extratos de café derivatizados

As análises dos produtos de transesterificação dos extratos de café obtidos pela extração com os solventes supracitados foram realizadas no equipamento CG-EM, QP-PLUS-2010 da *Shimadzu*, utilizando coluna capilar de sílica fundida usada foi a Rtx-5MS (30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno), a temperatura inicial da coluna foi de 40 °C, sendo programada para ter acréscimos de 3 °C a cada minuto, até atingir a temperatura máxima de 240 °C. A temperatura do injetor foi de 240 °C e do detector foi de 250 °C. O hélio foi utilizado como gás de arraste. Foi injetado 1 µL da mistura preparada de acordo com o item 4.10.1.

4.11. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância para cada variável resposta e, para os casos de F significativo ($P < 5\%$), aplicou-se o teste de agrupamentos de médias *Scott-Knott* ($P < 5\%$). As análises foram realizadas no *software* GENES (CRUZ, 2016).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análises Físico-Químicas de Diferentes Genótipos de *C. canephora*

Os resultados das análises de acidez das 21 amostras de *C. canephora* provenientes do Incaper estão na Tabela 5. Os valores de acidez titulável total (A.T.T.) e de pH a 96°C não apresentaram diferença estatística. As diferenças observadas foram em relação aos valores pH a 25°C de acidez graxa (A.G.).

Tabela 5. Valores médios de acidez titulável total (A.T.T.), expressos em mL de NaOH 0,1 mol L⁻¹/100g de café seco, pH a 25 °C e 96 °C e de acidez graxa (A.G.), expressos em mL de KOH 0,1 mol L⁻¹/100g de café seco

| Cultivar - Café <i>C. canephora</i> | A.T.T. | pH | | A.G. |
|--|---------|-------|-------|-------|
| | | 25 °C | 96 °C | |
| V1 | 201,67a | 5,92b | 5,74a | 3,33j |
| V2 | 146,67a | 5,92b | 5,82a | 2,92k |
| V3 | 146,67a | 5,99b | 5,83a | 3,89h |
| V4 | 183,33a | 6,02a | 5,82a | 3,33j |
| V5 | 201,67a | 5,94b | 5,86a | 2,22l |
| V6 | 143,67a | 5,93b | 5,75a | 7,08a |
| V7 | 165,00a | 6,11a | 5,75a | 3,89h |
| V8 | 183,33a | 6,07a | 5,99a | 4,17g |
| V9 | 146,67a | 5,87b | 6,00a | 4,17g |
| V10 | 128,33a | 5,91b | 5,87a | 4,17g |
| V11 | 183,33a | 6,08a | 6,05a | 6,67b |
| V12 | 183,33a | 6,11a | 5,93a | 5,28e |
| V13 | 183,33a | 6,17a | 5,84a | 4,17g |
| R1 | 183,33a | 6,03a | 5,92a | 5,55d |
| R2 | 201,67a | 6,10a | 5,92a | 5,83c |
| R3 | 165,00a | 6,00b | 5,90a | 3,51i |
| R6 | 201,67a | 6,00b | 5,83a | 4,03g |
| R7 | 146,67a | 6,06a | 5,79a | 4,17g |
| R8 | 238,33a | 5,89b | 5,76a | 4,72f |
| R9 | 183,33a | 5,83b | 5,75a | 4,22g |
| R10 | 220,00a | 5,98b | 5,73a | 6,67b |
| CV(%) | 21,31 | 1,23 | 1,97 | 1,61 |

Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste *Scott-Knott* (P<5%).

A acidez do café na análise sensorial é um atributo de grande importância, em termos de qualidade, o aumento da acidez pode estar associado ao café de bebida inferior (FILHO et al., 2013). Os valores de acidez titulável total são medidos a partir de extratos aquosos de amostras de café e podem ser usados como indicadores de qualidade. No presente trabalho, estes valores não apresentaram diferença significativa para as 21 amostras de *C. canephora*. Os valores de pH a 25°C foram muito próximos para todas as

amostras, apesar da diferença estatística apresentada e os valores de pH a 96°C não apresentaram diferença significativa. Estes resultados podem ter sido pelo fato das amostras de café *C. canephora* usadas nas análises terem sido cultivadas no mesmo ambiente, sendo ainda, a colheita, o processamento e a secagem realizados de forma padronizada.

A acidez graxa apresentou um excelente parâmetro para diferenciar a acidez das 21 amostras de *C. canephora*. Os dados foram apresentados na Figura 15.

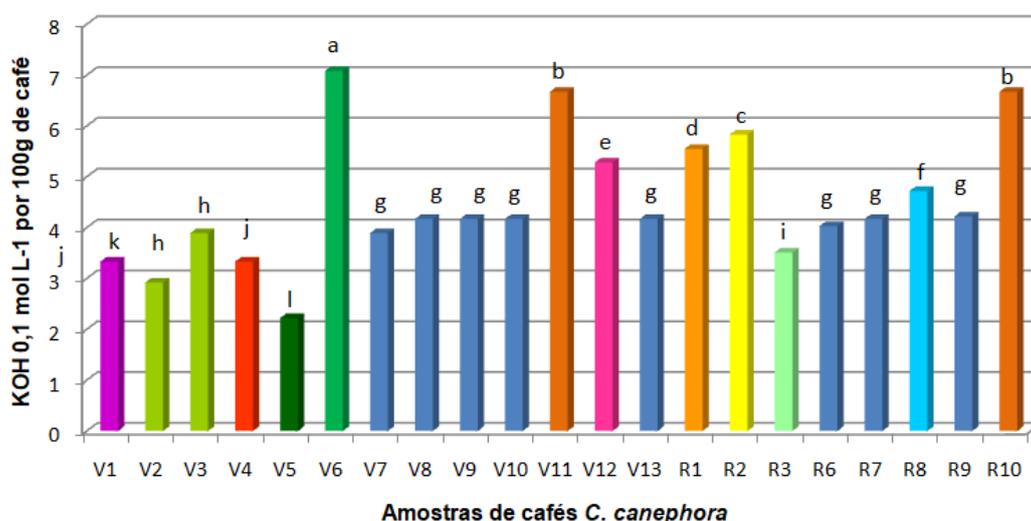


Figura 15. Valores médios de acidez graxa para as amostras de *C. canephora*, expressos em mL de KOH 0,1 mol L⁻¹/100g de café seco. Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste *Scott-Knott* ($P < 5\%$).

Para determinar a acidez graxa, utiliza-se um solvente orgânico apolar (tolueno), sendo extraídos do café os fenóis, os ácidos orgânicos de baixa massa molecular e os ácidos graxos presentes no café; esses compostos reagem com KOH e contribuem para os valores de acidez graxa. Os maiores valores de acidez graxa, geralmente, são observados para as amostras de café de qualidade inferior. Esses valores podem indicar deteriorações nas membranas celulares, que ao romperem, podem provocar o extravasamento de ácidos graxos, podendo comprometer a qualidade do café, devido a possibilidade de ocorrerem reações de oxidações (MARQUES et al., 2008), bem como reações de rancificação. Alguns ácidos orgânicos podem produzir efeitos indesejáveis à qualidade do café, sendo eles: ácido acético, ácido

lático, ácido propanoico e ácido butanoico. Contudo, os ácidos cítrico e málico podem contribuir em melhoria na qualidade da bebida (MARTINEZ et al., 2014).

Os teores de açúcares redutores, não redutores e totais encontrados para as amostras de café *C. canephora* variaram de: 0,66 a 0,39%; 1,32 a 2,31% e 2,02 a 2,83%; conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6. Teores médios de açúcares redutores, não redutores e totais para amostras de cafés *C. canephora*

| Cultivar - Café C. canephora | Açúcares Redutores (%) | Açúcares não redutores (%) | Açúcares totais(%) |
|---|-----------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| V1 | 0,66a | 2,00a | 2,66a |
| V2 | 0,52d | 1,70b | 2,21b |
| V3 | 0,44f | 1,64b | 2,09b |
| V4 | 0,44f | 1,91a | 2,34b |
| V5 | 0,47f | 1,54b | 2,02b |
| V6 | 0,73b | 1,65b | 2,38b |
| V7 | 0,47e | 1,93a | 2,40b |
| V8 | 0,55d | 1,9a | 2,45a |
| V9 | 0,85a | 1,32b | 2,15b |
| V10 | 0,62a | 1,58b | 2,21b |
| V11 | 0,43f | 1,97a | 2,39b |
| V12 | 0,52d | 2,31a | 2,83a |
| V13 | 0,46e | 2,20a | 2,67a |
| R1 | 0,54d | 1,96a | 2,50a |
| R2 | 0,68c | 1,59b | 2,26b |
| R3 | 0,46e | 1,69b | 2,15b |
| R6 | 0,65c | 1,99a | 2,64a |
| R7 | 0,43f | 1,9a | 2,33b |
| R8 | 0,73b | 1,89a | 2,61a |
| R9 | 0,57d | 2,05a | 2,62a |
| R10 | 0,39f | 1,64a | 2,03b |
| CV(%) | 4,9 | 9,82 | 7,33 |

Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste *Scott-Knott* ($P < 5\%$).

Os açúcares não redutores, em particular a sacarose, são encontrados em maiores quantidades no café, e possuem grande importância sensorial. Os maiores teores de açúcares no café conferem à bebida um sabor mais

adocicado. Durante o processo de torração, os açúcares redutores, principalmente, reagem com aminoácidos (Reação de Maillard), dando origem a compostos coloridos desejáveis, responsáveis pela cor marrom do café. Nessas reações são produzidos compostos voláteis, que apresentam grande efeito no aroma do produto final o que lhe atribui uma melhor qualidade (WANG; LIM, 2017).

Os valores de condutividade elétrica e lixiviação de potássio para as 21 amostras de café *C. canephora* estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Valores médios de condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$) e teores de potássio lixiviado (ppm) das amostras de café *C. canephora*

| Cultivar - Café <i>C. canephora</i> | Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$) | Lixiviação de potássio (ppm) |
|---|---|---|
| V1 | 62,28d | 86,33d |
| V2 | 98,9b | 145,67c |
| V3 | 117,10a | 130,83c |
| V4 | 121,60a | 232,33b |
| V5 | 125,05a | 126c |
| V6 | 85,62c | 83,33d |
| V7 | 99,59b | 127,67 |
| V8 | 114,56a | 151,67c |
| V9 | 99,25b | 211,83b |
| V10 | 108,53b | 135,17c |
| V11 | 99,59b | 152,83c |
| V12 | 106,58b | 185,33b |
| V13 | 104,74b | 159,17c |
| R1 | 129,27a | 285,00a |
| R2 | 58,38d | 71,00d |
| R3 | 99,57b | 108,33d |
| R6 | 126,55a | 150,33c |
| R7 | 85,82c | 119,83c |
| R8 | 96,84b | 131,00c |
| R9 | 111,90a | 140,17c |
| R10 | 86,65c | 114,67c |
| CV(%) | 8,53 | 19,05 |

Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste *Scott-Knott* ($P < 5\%$).

Os valores de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio podem ser usados como possíveis indicadores da integridade de membranas

celulares. Os maiores valores desses parâmetros podem estar associados a cafés de qualidade inferior (BORÉM et al., 2008). Pinheiro et al. (2012) encontraram para amostras de café conilon secos em diferentes condições valores médios de condutividade elétrica variando de 86,0 a 202,3 $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ e de condutividade elétrica valores na faixa de 38 a 132,3 ppm para lixiviação de potássio. No presente trabalho, foram encontrados valores de condutividade elétrica e lixiviação de potássio nessas faixas e alguns valores bastante superiores, tendo como destaque as amostras V4, V9 e R1.

Os teores de ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico, 5-ACQ), trigonelina e cafeína foram obtidos simultaneamente pelas análises por CLAE, pelo método do padrão externo, para isso os padrões de cada um desses compostos, separadamente, foram preparados em diferentes concentrações e foram obtidas as retas de calibração, as equações e os valores de R^2 . Os cálculos desses constituintes nas amostras de cafés *C. canephora* foram realizados a partir de tais retas de calibração apresentadas na Figura 16.

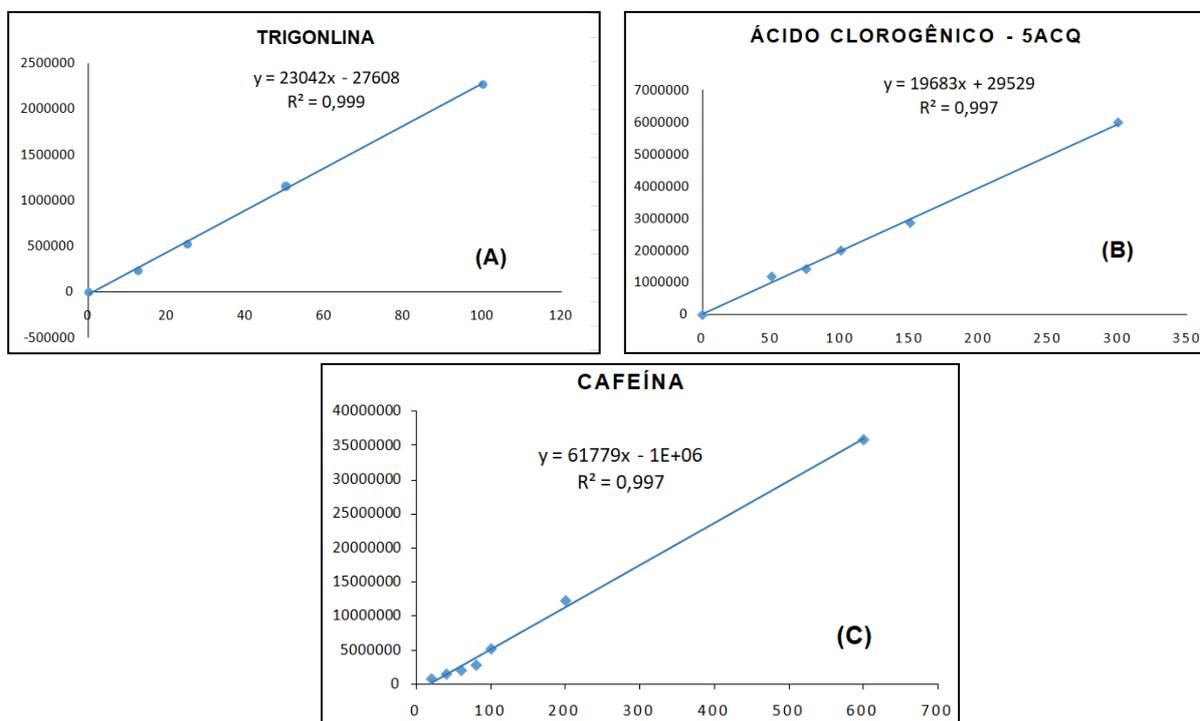


Figura 16. Retas, equações das retas e valores de R^2 obtidos pelas análises dos padrões de: trigonelina (A), ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico, 5-ACQ) (B) e cafeína (C), em diferentes concentrações, obtidas por CLAE (HPLC), usando detector UV a 272 nm.

Os valores médios encontrados para ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico, 5-ACQ), trigonelina e cafeína nas amostras de café *C. canephora* foram apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Valores médios encontrados para ácido clorogênico (5-ACQ), trigonelina e cafeína ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$ de café em base seca) para amostras de café *C. canephora*

| Cultivar - Café <i>C. canephora</i> | g 100g^{-1} de café em base seca | | |
|--|---|---------------------------|---------|
| | Trigonelina | Ácido Clorogênico (5-ACQ) | Cafeína |
| V1 | 1,02a | 3,13b | 2,46b |
| V2 | 0,94a | 2,94b | 2,23c |
| V3 | 0,96a | 3,46a | 2,60b |
| V4 | 0,95a | 3,02b | 2,49b |
| V5 | 0,90a | 2,60c | 2,06c |
| V6 | 0,96a | 3,58a | 2,89a |
| V7 | 0,85a | 3,43a | 2,49b |
| V8 | 0,88a | 3,65a | 2,75a |
| V9 | 0,91a | 3,44a | 2,48b |
| V10 | 0,91a | 3,38a | 2,51b |
| V11 | 1,01a | 3,20a | 2,43b |
| V12 | 0,96a | 3,37a | 2,59b |
| V13 | 0,94a | 3,05b | 2,32c |
| R1 | 0,95a | 3,33a | 2,51b |
| R2 | 0,87a | 3,51a | 2,51b |
| R3 | 0,89a | 3,08b | 2,45b |
| R6 | 0,89a | 2,65c | 2,21c |
| R7 | 0,84a | 3,06b | 2,35c |
| R8 | 0,96a | 3,19a | 2,31c |
| R9 | 1,02a | 2,83c | 2,41c |
| R10 | 0,85a | 3,42a | 2,35c |
| CV(%) | 8,55 | 7,62 | 5,76 |

Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste *Scott-Knott* ($P < 5\%$).

Os ácidos clorogênicos, trigonelina e cafeína são compostos biologicamente ativos presentes em cafés, esses constituintes apresentam importância na qualidade da bebida. (ABRAHÃO et al., 2008). Os teores de

ácido clorogênico (5-ACQ) encontrados para as amostras de café *C. canephora* apresentaram diferença estatística. Os valores encontrados variaram de 2,60 a 3,65%, sendo esses valores bastante inferiores ao relatados por Farah (2012) que foi de 6,10-11,30 g 100g⁻¹ de café. O fator altitude pode ter influenciado nestes resultados, visto que as amostras de café deste trabalho foram cultivadas a 720 m de altitude. Para a qualidade do café, menores teores de ácidos clorogênicos são desejáveis, pois essas substâncias são degradadas durante a etapa de torra, originando os compostos: ácido cafeico, lactonas e diferentes fenóis, por meio de reações de Maillard e Strecker, resultando em maior amargura, adstringência e aroma (SHAN et al, 2017).

Para os valores de trigonelina encontrados para as 21 amostras de café *C. canephora* não houve diferença significativa, o valor médio total encontrado foi de 0,93%, que está de acordo com a literatura, em grão cru de café o teor de trigonelina ocorre em torno de 1%. A trigonelina é responsável pela formação de produtos de degradação no processo de torra e, entre tais produtos, destacam-se os pirróis e as piridinas, os quais são altamente importantes para o aroma do café (MONTEIRO; TRUGO, 2005; MORAIS et al., 2008; VIGNOLI et al., 2014). Além desses compostos, durante a torra a trigonelina é precursora de vitamina do complexo B, a niacina, que apresenta importância nutricional (FARAH et al., 2006).

O teor médio de cafeína encontrado em cafés *C. canephora* é, em torno, de 2,20%, quase o dobro do valor encontrado para os *C. arabica*, que apresenta, em média, 1,20% dessa substância (MARTINEZ et al., 2014). No presente trabalho, os teores de cafeína apresentaram diferenças significativas entre as amostras de *C. canephora* e os valores encontrados foram na faixa de 2,06 a 2,89%. A cafeína é um alcalóide presente em chás, refrigerantes e no café, que atua no organismo humano no sistema nervoso central, tendo efeito estimulante e diurético. Durante a etapa de torra, a cafeína é muito estável, apesar de ser uma substância inodora, apresenta amargor, podendo contribuir com essa característica sensorial na bebida do café (MONTEIRO; TRUGO, 2005).

5.2. Avaliação da interferência da altitude na qualidade de café conilon

Tendo como propósito verificar a influência da altitude na qualidade do café conilon, foram obtidas quatro amostras da referida espécie cultivada em altitudes diferentes: C1 (240 m), C2 (350 m), C3 (580 m) C4 (720 m) que foram submetidas a etapa de torra, análise sensorial e, posteriormente, análise por HS-SPME combinada com CG-EM. Além das amostras, foi injetada uma mistura de hidrocarbonetos (C_8 - C_{23}) para os cálculos dos Índices de Kovats (IK). A análise foi realizada utilizando as mesmas condições cromatográficas utilizadas nas análises do café (Figura 17).

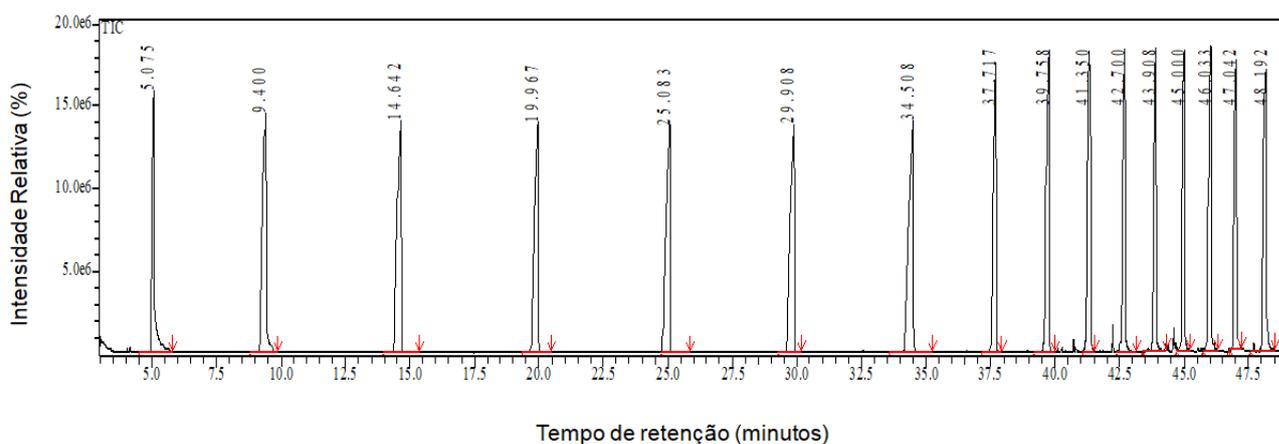


Figura 17. Cromatograma de íons totais de uma mistura de hidrocarbonetos C_8 - C_{23} .

Os constituintes voláteis encontrados para as amostras de café conilon cultivadas em diferentes altitudes (C1-C4) estão descritos na Tabela 9. Os compostos foram identificados pela análise dos espectros de massas comparando com os dados da biblioteca do equipamento (Willey 7), com os Índices de Kovats (ADAMS, 2007) e com dados da literatura (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999; LEE et al., 2015; YANG et al., 2016).

Tabela 9. Constituintes voláteis encontrados em amostras de café conilon (grãos torrados e moídos) que foram cultivados em diferentes altitudes: C1 (240 m), C2 (350 m), C3 (580 m) e C4 (720 m)

| TR (min.) | Composto | IK cal | IK tab | Área (%) | | | |
|-----------|---|--------|--------|------------|------------|------------|------------|
| | | | | C1 (240 m) | C2 (350 m) | C3 (580 m) | C4 (720 m) |
| 5,84 | 2-Metilpirazina | 825 | 826 | 4,00 | 5,34 | 3,81 | 6,18 |
| 6,23 | Furfural | 836 | 830 | 9,87 | 8,88 | 10,66 | 11,82 |
| 7,37 | 2-Hidroximetilfurano | 863 | 866 | 15,61 | 12,00 | 16,07 | 18,03 |
| 9,73 | 2,6-Dimetilpirazina | 908 | 912 | 10,39 | 11,08 | 9,29 | 16,70 |
| 12,47 | 5-Metilfurfural | 965 | 962 | 6,54 | 5,01 | 7,55 | 6,79 |
| 14,50 | 2-etil-3-metilpirazina | 998 | 1001 | 6,97 | 7,54 | 6,97 | 11,03 |
| 15,27 | 2-Pirrolcarboxaldeído | 1014 | 1023 | 1,90 | 1,70 | 1,72 | 0,80 |
| 15,48 | NI | 1018 | — | 1,21 | 1,33 | 1,10 | 1,91 |
| 17,88 | 2-Acetilpirrol | 1065 | 1060 | 2,04 | 1,40 | 1,71 | 1,64 |
| 18,59 | 2-Etil-3,6-dimetilpirazina | 1077 | 1072 | 2,60 | 3,78 | 2,48 | 4,27 |
| 19,13 | NI | 1086 | — | 1,37 | 1,25 | 1,31 | 1,56 |
| 20,36 | NI | 1109 | — | 2,20 | 1,86 | 2,03 | 2,18 |
| 20,61 | 1-(6-Metil-2-pirazinil)etanona | 1114 | 1093 | 1,55 | 1,50 | 1,06 | 1,79 |
| 21,99 | 2,3-Diidro-3,5-diidroxil-6-metil-4H-piran-4-ona | 1143 | 1144 | 1,68 | 1,51 | 0,50 | 1,81 |
| 22,65 | 3,5-dietil-2-metilpirazina | 1155 | 1153 | 1,20 | 1,11 | 0,81 | 0,84 |
| 23,94 | N-Furfurilpirrol | 1180 | 1166 | 1,59 | 1,09 | 1,46 | 1,24 |
| 24,10 | NI | 1183 | — | 1,42 | 1,05 | 1,99 | 1,13 |
| 26,54 | 5-(Hidroximetil)furfural | 1232 | 1224 | 1,76 | 1,60 | 2,12 | 0,64 |
| 28,61 | NI | 1275 | 1297 | 2,18 | 1,65 | 2,20 | 0,83 |
| 29,35 | NI | 1289 | 1354 | 1,21 | 0,83 | 1,00 | 0,00 |
| 29,76 | NI | 1297 | — | 1,30 | 0,67 | 1,00 | 0,00 |
| 30,37 | 4-Etenil-2-metoxifenol | 1311 | 1311 | 14,80 | 19,09 | 13,59 | 6,52 |

Continuação

| TR (min.) | | Composto | IK cal | IK tab | Área (%) | | | |
|-----------|-----------------------------|----------|--------|--------|------------|------------|------------|------------|
| | | | | | C1 (240 m) | C2 (350 m) | C3 (580 m) | C4 (720 m) |
| 31,94 | NI | | 1346 | — | 1,53 | 1,51 | 1,51 | 0,25 |
| 33,43 | trans- β -Damascenona | | 1378 | 1380 | 0,73 | 0,80 | 0,90 | 0,23 |
| 33,53 | NI | | 1380 | — | 0,63 | 0,80 | 0,69 | 0,04 |
| 34,82 | NI | | 1406 | — | 1,11 | 0,55 | 1,03 | 0,13 |
| 43,39 | Cafeína | | 1858 | 1840 | 2,60 | 4,61 | 4,88 | 1,59 |
| 44,49 | Ácido palmítico | | 1954 | 1954 | 0,00 | 0,47 | 0,57 | 0,05 |

*TR = Tempo de retenção (min.), IK = Índice de Kovats, cal= calculado, tab= tabelado (ADAMS, 2007; e sites: PUBCHEM e THE PHEROBASE: DATABASE OF PHEROMONES AND SEMIOCHEMICALS), % em Área obtida nas análises por CG-EM, usando a coluna DB5.

As amostras C1 (240 m) e C3 (580 m) apresentaram um perfil de constituintes voláteis similar. Os compostos majoritários encontrados nessas amostras de café foram: 2-hidroximetilfurano (sabor amargo e gosto de queimado), 4-etenil-2-metoxifenol (picante ao paladar), 2,6-dimetilpirazina (sabor de nozes, fritura, doce) e furfural (gosto de amêndoa, pão, doce), sendo os dois citados por último, desejáveis ao café de bebida superior.

A amostra C2 (350 m) foi a que apresentou maior % em área para o composto 4-etenil-2-metoxifenol e a menor para 2-hidroximetilfurano, quando comparado com as outras amostras, o contrário foi observado para a amostra C4 (720 m).

O composto 2-hidroximetilfurano (álcool furfurílico) é encontrado em quantidades significativas em alimentos que passam por processamentos térmicos, tais como: alimentos cozidos, sucos de frutas e café, pode estar presente também na manteiga e no caramelo, quando o álcool furfurílico é usado como agente aromatizante. Esse composto pode ser formado a partir de ácido quínico ou de 1,2-enodióis, como precursores durante o aquecimento de alimentos. Em grãos de café é formado durante a etapa de torra (OKARU; LACHENMEIER, 2017).

A formação do 4-etenil-2-metoxifenol (4-etilguaiacol) ocorre pela degradação dos compostos fenólicos durante a torra do café. O aumento do teor desse composto quanto maior o grau de torra do café foi relatado por Czerny, Grosch (2000).

As pirazinas e o furfural encontrados nas amostras C1-C4 podem conferir qualidade à bebida do café. O 2,6-dimetilpirazina foi encontrado em maior % em área em C4 do que para as outras amostras de café. Os compostos 2-metilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2-etil-3-metilpirazina, 2-etil-3,6-dimetilpirazina e 3,5-dietil-2-metilpirazina são pertencentes à classe das alquilpirazinas, foram encontrados nas amostras C1-C4, são compostos desejáveis e atribuem sabor ao café (KORHOŇOVÁ et al., 2009).

Para as amostras C1-C4 (café crus) foram determinados os teores de acidez graxa e, as mesmas amostras foram também usadas em um estudo visando encontrar outros solventes para a realização dessa análise. Para isso,

as unidades das amostras C1-C4 foram obtidas pelo método da estufa (MAPA, 2009) e os valores encontrados foram de: 11,9%, 12,3%, 12,7% e 11,4%, respectivamente.

Os dados da acidez graxa determinados para C1-C4 estão apresentados na Tabela 10. Neste estudo foi utilizada a metodologia convencional (40g de amostra de café + 100 mL de tolueno) e foram testados solventes de polaridade crescente na etapa de extração (hexano, clorofórmio, acetato de etila, éter dietílico e etanol).

Tabela 10. Dados da acidez graxa (AG) de amostras de café conilon cultivados em diferentes altitudes (C1-C4), utilizando metodologia convencional (extração com tolueno) e testes utilizando solventes de polaridade crescente (hexano, clorofórmio, acetato de etila, éter dietílico e etanol)

| Amostras (cafés conilon) | Acidez Graxa (mL de KOH/100 g de massa seca) | | | | | |
|--------------------------|--|--------|-------------|------------------|----------------|--------|
| | Tolueno | Hexano | Clorofórmio | Acetato de etila | Éter dietílico | Etanol |
| C1 (240 m) | 2,5 | 2,0 | 2,6 | — | — | — |
| C2 (350 m) | 2,6 | 2,9 | 2,9 | — | — | — |
| C3 (580 m) | 3,4 | 3,4 | 3,2 | — | — | — |
| C4 (720 m) | 4,3 | 4,5 | 4,5 | — | — | — |

Não foi possível calcular a acidez graxa a partir dos extratos obtidos usando o acetato de etila, o éter dietílico e o etanol, pois não foi possível observar o ponto de viragem do indicador durante a titulação. Os testes de comparações múltiplas (Tukey a 5% de significância) foram realizados somente para os dados obtidos pela acidez graxa obtida pelos extratos de tolueno, hexano e clorofórmio (Tabela 11).

Esses resultados podem ser visualizados na Figura 18 a seguir. Na altitude de 240 m, a acidez medida pelo hexano apresentou uma média significativamente menor que os demais solventes. Na altitude de 350 m, a acidez medida pelo tolueno apresentou uma média significativamente menor que os demais solventes. Na altitude de 580 m, a acidez medida pelo clorofórmio apresentou uma média significativamente menor que os demais

solventes. Na altitude de 720 m, os três solventes apresentam médias estatisticamente iguais. Com relação ao efeito da altitude, nota-se uma tendência de aumento da acidez com o aumento da altitude, sendo a única exceção à acidez medida pelo tolueno nas altitudes de 240 m e 350 m, cujas médias foram estatisticamente iguais.

Tabela 11. Médias da acidez graxa para amostras de cafés cultivados em diferentes altitudes obtidas a partir de diferentes solventes usados na extração dos constituintes graxos

| | C1 = 240 m | C2 = 350 m | C3 = 580 m | C4 = 720 m |
|-------------|------------|------------|------------|------------|
| Tolueno | 2,47aA | 2,60aA | 3,43aB | 4,33aC |
| Hexano | 1,97bA | 2,90bB | 3,37abC | 4,53aD |
| Clorofórmio | 2,57aA | 2,90bB | 3,17bC | 4,43aD |

Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, em uma mesma coluna, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey. Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, em uma mesma linha, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey.

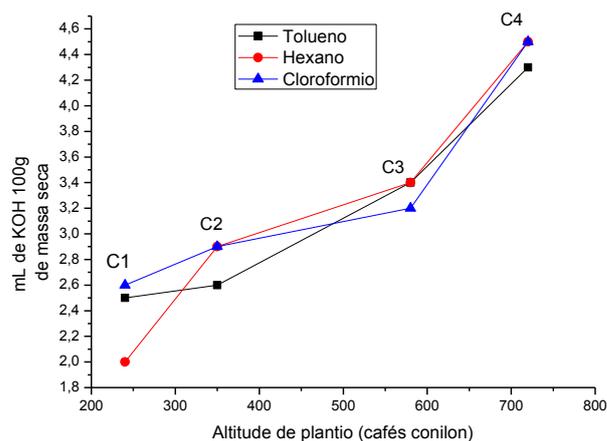


Figura 18. Acidez graxa de amostras de café conilon cultivado em diferentes altitudes: C1 (240 m), C2 (350 m), C3 (580 m) e C4 (720 m), usando como solventes extratores tolueno, hexano e clorofórmio.

O intuito de utilizar outros solventes na análise de acidez graxa deve-se aos problemas relacionados à alta toxicidade do tolueno, conhecido também como toluol. A inalação do tolueno pode causar dependência, assim como uma droga, se for inalado de forma prolongada pode provocar dor de cabeça, náuseas, tonteados, sonolência e, em altas concentrações, perda de consciência (EPA, 2005).

Todos os solventes orgânicos são tóxicos e devem ser usados somente dentro de capelas de exaustão. Os procedimentos que utilizam esses compostos também devem ser realizados dentro dessas capelas ligadas, porém existem solventes com maior grau de toxicidade, que nesse caso é o tolueno.

A média da acidez graxa das 21 amostras de *C. canephora* foi 4,5 mL de KOH/100 g de massa seca, dados apresentados na Tabela 5. A amostra C4 foi cultivada na mesma altitude e apresentou o valor similar (4,3 mL de KOH/100 g de massa seca). Os ácidos carboxílicos, ácidos graxos livres, fenóis e outros compostos podem contribuir no valor da acidez graxa, logo existe uma importância em estudar a constituição química do extrato orgânico da amostra de café, para que não seja levado em consideração somente o valor de AG em mL de KOH/100 g de massa seca. Conhecendo a constituição química do extrato graxo do café pode ser entendido melhor sua influência na qualidade da bebida.

Tendo em vista esse fato, cada extrato obtido para a realização das análises de acidez graxa descritas acima foram derivatizados (reação de transesterificação) e analisados por CG-EM. Os perfis cromatográficos dos extratos do café C4 (720 m) obtidos a partir do tolueno, hexano e clorofórmio estão apresentados nas Figuras 19, 20 e 21, respectivamente.

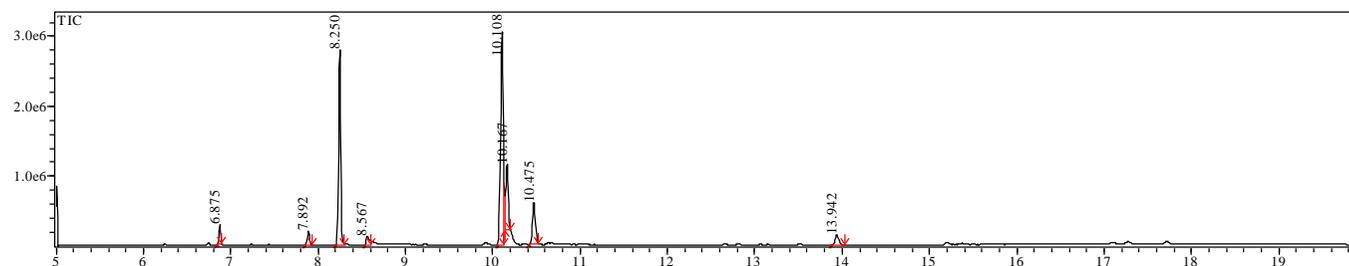


Figura 19. Cromatograma de íons totais do extrato de tolueno (derivatizado) originado do café C4.

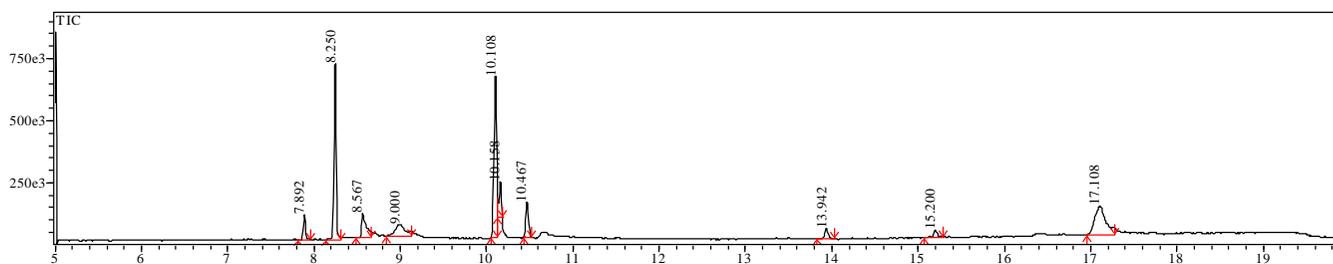


Figura 20. Cromatograma de íons totais do extrato de hexano (derivatizado) originado do café C4.

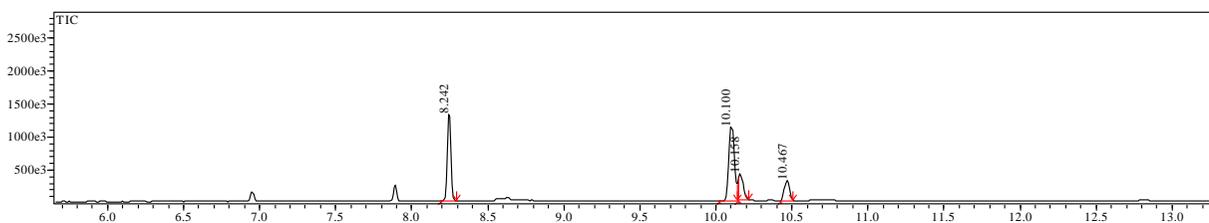


Figura 21. Cromatograma de íons totais do extrato de clorofórmio (derivatizado) originado do café C4.

Pelos cromatogramas dos extratos derivatizados de café (C4) obtidos a partir do tolueno, hexano e clorofórmio, foi possível observar dois constituintes majoritários, de tempos de retenção de 8,25 e 10,11 minutos, respectivamente. Além dos valores de acidez graxa ter sido compatíveis quando esses solventes foram usados na referida análise, o perfil cromatográfico delas também foi similar. E, ainda, pelas análises cromatográficas e análise dos espectros de massas foi possível identificar os dois principais ácidos graxos presentes no café, sendo eles: ácido palmítico (TR = 8,25 minutos) e o ácido linoleico (TR = 10,11 minutos). Os espectros de massas obtidos na análise são referentes aos derivados desses ácidos, palmitolato de metila (ion molecular $m/z = 270$) e linolato de metila (ion molecular $m/z = 294$), Figuras 22 e 23, respectivamente.

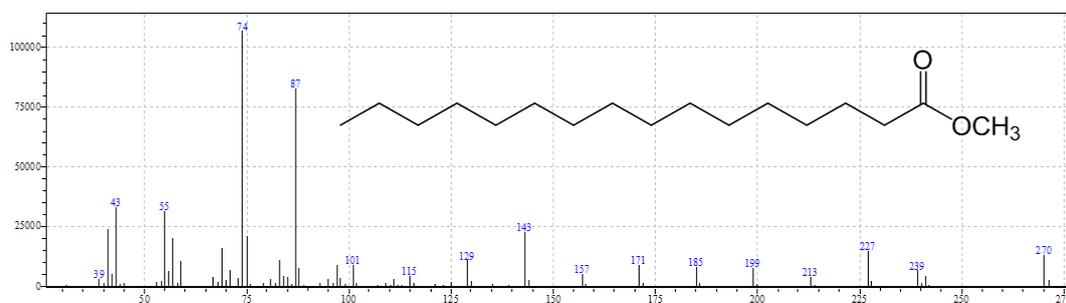


Figura 22. Espectro de massas do palmitolato de metila (originado do ácido palmítico) identificado em extratos derivatizados de café conilon (TR = 8,25 minutos).

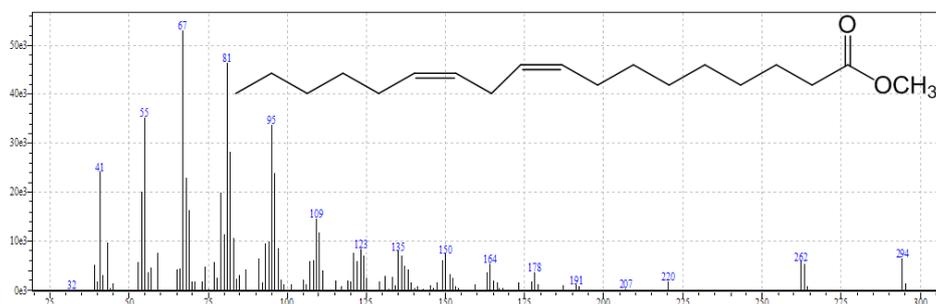


Figura 23. Espectro de massas do linolato de metila (originado do ácido linoleico) identificado em extratos derivatizados de café conilon (TR = 10,11 minutos).

Os lipídeos são constituintes importantes em grãos de café, representam, em torno, de 17% em massa no café arábica e 14% em conilon. O teor de ácidos graxos livres em grãos café verdes ocorre em torno de 1-2% em arábica e 1-3% em conilon. No final da etapa de torra ocorre diminuição desses compostos (FLAMENT, 2002; GLOESS et al., 2018).

Os principais ácidos graxos identificados em café (arábica e conilon) são: ácido linoleico (C18:2) e ácido palmítico (C16:0), que ocorrem em concentrações similares, seguido dos ácidos esteárico e oleico (C18:0 e C18:1). Os ácidos araquídicos e linolênicos são encontrados em menores concentrações (GLOESS et al., 2018). Em altas temperaturas, pode ocorrer degradação térmica oxidativa desses ácidos graxos que podem levar à formação de moléculas menores, como aldeídos, que podem influenciar na formação de voláteis heterocíclicos. Dessa forma, existe a hipótese que o conteúdo de ácidos graxos pode ter influência na qualidade do café. Mais estudos são necessários para esclarecer e elucidar esta informação.

6. CONCLUSÕES

As 21 amostras de café *C. canephora* cultivadas a 720 m de altitude apresentaram valores médios similares de acidez titulável total, pH a 96°C e teores de trigonelina, que não apresentaram diferenças significativas. Os valores de acidez graxa foram distintos para os genótipos, da mesma forma, os teores de açúcares redutores, não redutores e totais. Os teores do ácido clorogênico (5-ACQ) encontrados para todas as amostras de café *C. canephora* foram inferiores aos relatados na literatura. As porcentagens de cafeína encontradas foram próximas ao valor médio para a referida espécie. Dessa forma, o cultivo de café *C. canephora*, em altitude de 720 m pode ser viável na obtenção de café de qualidade superior.

As amostras de café conilon cultivadas em diferentes altitudes C1 (240 m) e C3 (580 m) apresentaram perfil similar em relação aos constituintes voláteis; ambas apresentaram como majoritários os compostos: 2-hidroximetilfurano (álcool furfurílico), 4-etenil-2-metoxifenol (4-etilguaiacol), 2,6-

dimetilpirazina e furfural. A amostra C2 (350 m) apresentou maior teor do 4-etenil-2-metoxifenol do que do 2-hidroximetilfurano, sendo que para a amostra C4 (720 m) foi observado o contrário. Alquilpirazinas (2-metilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2-etil-3-metilpirazina, 2-etil-3,6-dimetilpirazina e 3,5-dietil-2-metilpirazina), que contribuem para um café de qualidade, foram encontradas em todas as amostras analisadas. Neste caso os resultados corroboram para a influência da altitude na composição química dos voláteis de café, pois foram observadas particularidades na composição dos compostos de baixa massa molecular nas quatro amostras C1-C4.

Além dos voláteis, outra análise que teve resultados diferentes para o café conilon cultivado em diferentes altitudes (C1-C4) foi a acidez graxa, cujos valores encontrados foram de: 2,5; 2,6; 3,4 e 4,3 mL de KOH/100 g de massa seca, respectivamente. Os valores da acidez graxa para as mesmas amostras usando como solventes extratores o hexano e o clorofórmio foram similares a esses, assim existe uma possibilidade de substituir o tolueno na referida análise.

Para os extratos de café usados na análise de acidez graxa obtidos pela extração com tolueno, hexano e clorofórmio, após derivatização e análise por CG-EM, foi observado o mesmo perfil cromatográfico. Os ácidos palmítico e linoleico foram os que apresentaram maiores áreas em todos os cromatogramas. A acidez graxa e os constituintes químicos apolares podem ser indicadores de qualidade de café, pois esses compostos quando degradados termicamente podem dar origem a voláteis que contribuem para o aroma e sabor da bebida.

7. REFERÊNCIAS

ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café. **Indicadores da Indústria de Café No Brasil**, 2017. Acesso em 23/08/2017. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=38>

ABRAÃO, C.V.F.; PAULO, S.V.; RODRIGUES, W.N.; TAFAREL, V.COLODETTI; ALDO, L.M.; FERRÃO, R.G.; FONSECA, A.F.A. da; FERRÃO,

M.A.G.; MARTINS, L.D.; SEBASTIAO, V.B.B.; TOMAZ, M.A.; COMERIO, M.; SAUL, de A.J.; PINHEIRO, C.A. The beverage quality of Conilon coffee that is kept in the field after harvesting: Quantifying daily losses. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, p.3134-3140, 2016.

ABRAHÃO, S.A.; PEREIRA, R.G.F.A.; LIMA, A.R.; FERREIRA, E.B.; MALTA, M.R. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.12, 2008.

ADAMS, R.P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**, Allured Publishing Corporation, Carol Stream: Illinois, USA, 4 ed., 2007, 804 p.

AL-HAMAMRE, Z., A; FOERSTER, S.; HARTMANN, F.; KRÖGER, M.; KALTSCHMITT, M. Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. **Fuel**, v.96, p.70-76, 2012.

AMARAL, A.M.S. do; SILVA, A.B. da; ANGELOCCI, M.A.; PUTTI, F.F.; COELHO, T.L. de A.; CORSINI, W.T.C.; CORSINI, F. dos S. Influência do Certifica Minas Café nas Lavouras Cafeeiras de Alfenas - Sul de Minas Gerais. **Coffee Science**, v.12, n.1, p.114–123, 2017.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. AACC methods 02- 02A: fat acidity: rapid method, for grain. In: _____. Approved methods of the American Association of the Cereal Chemists. Saint Paul, 1995. v. 1, paginação irregular.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15. ed. Washington, 1990.

ARNOLD, U.; LUDWIG, E.; KÜHN, R.; MÖSCHWITZER, U. Analysis of free amino acids in green coffee beans. Determination of amino acids after precolumn derivatization using 9-fluorenylmethylchloroformate. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, v.199, p.22-25, 1994.

AYELIGN, A.; SABALLY, K. Determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee

beans using HPLC. **American Journal of Research Communication**, v.1, n. 2, p. 78-91, 2013.

BORÉM, F.M.; CORADI, P.C.; SAATH, R.; OLIVEIRA, J.A. Qualidade do café natural e despulpado após secagem em terreiro e com altas temperaturas. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.5, p.1609-1615, 2008.

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

BRESSANELLO, D.; LIBERTO, E.; CORDERO, C.; RUBIOLO, P.; PELLEGRINO, G.; RUOSI, M.R.; BICCHI, C. Coffee aroma: Chemometric comparison of the chemical information provided by three different samplings combined with GC–MS to describe the sensory properties in cup, **Food Chemistry**, v.214, p. 218-226, 2017.

BUDRYN, G., NEBESNY, E., KULA, J., MAJDA, T. AND KRYSLAK, W. HS-SPMJME/GC/MS profiles of convectively and microwave roasted Ivory Coast Robusta Coffee brews. **Czech Journal of Food Science**, v.29, n.2, p.151-160, 2011.

BURAK, D.; SANTOS, D. A.; PASSOS, R. R. Variabilidade espacial de atributos físicos: relação com relevo, matéria orgânica e produtividade em café Conilon. **Coffee Science**, v.11, n.4, p.455-466, 2017.

CAPRIOLI, G.; CORTESE, M. ;CRISTALLI, G.; MAGGI, F.; ODELLO, L.; RICCIUTELLI, M.; SAGRATINI, G.; SIROCCHI,V.; TOMASSONI, G.; VITTORI, S. Optimization of espresso machine parameters through the analysis of coffee odorants by HS-SPME–GC/MS. **Food Chemistry**, v.135, n.3, p.1127-1133, 2012.

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

CLIFFORD, M.N. Review Chlorogenic acids and other cinnamates - nature,

occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.1033-1043, 2000.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia**. Editora: UNICAMP, Campinas, 2006.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: Café**. Brasília, v.4, n.4, Quarto Levantamento, Dezembro de 2017. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/18_01_08_09_06_29_cafe_dezembro.pdf> Acesso em: 15/01/2018.

CORADI, P.C.; BORÉM, F. M.; OLIVEIRA, J. A. Qualidade do café natural e despulpado após diferentes tipos de secagem e armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.2, p. 181-188, 2008.

CREWS, C.; CASTLE, L. A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, n.7, p. 365-372, 2007.

CRUZ, C.D. Genes Software-extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.38, n.4, p. 547-552, 2016.

CZERNY, M.; GROSCH, W. Potent Odorants of Raw Arabica Coffee. Their Changes during Roasting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.3, p. 868-872, 2000.

DANDENGO, M.C.J.; SOUSA, E.F. de; REIS, E.F. dos; AMARAL GRAVINA, G. de. Crescimento e qualidade de mudas de café conilon produzidas em diferentes recipientes e níveis de sombreamento. **Coffee Science**, v.8, n.4, p.500-509, 2014.

DAVIDEK, T.; GOUÉZEC, E.; DEVAUD, S.; BLANK, I. Origin and yields of acetic acid in pentose-based Maillard reaction systems. **Annals of the New York Academy of Sciences**, n.1, p.241-243, 2008.

DEMIATE, I.M.; WOSIACKI, G.; CZELUSNIACK, C.; NOGUEIRA, A. Determinação de açúcares redutores e totais em alimentos. Comparação entre

método colorimétrico e titulométrico. **Publicatio UEPG** - Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias, v.8, n.1, p.65-78, 2002.

DENOEUD, F.; CARRETERO-PAULET, L.; DEREPPER, A.; DROC, G.; GUYOT, R.; PIETRELLA, M.; ZHENG, C.; ALBERTI, A.; ANTHONY, F.; APREA, G.; AURY, J.M.; BENTO, P.; BERNARD, M.; BOCS, S.; CAMPA, C.; CENCI, A.; COMBES, M.C.; CROUZILLAT, D.; SILVA C. da; DADDIEGO, L.; DE BELLIS, F.; DUSSERT, S.; GARSMEUR, O.; GAYRAUD, T.; GUIGNON, V.; JAHN, K.; JAMILLOUX, V.; JOËT, T.; LABADIE, K.; LAN, T.; LECLERCQ, J.; LEPELLEY, M.; LEROY, T.; LI, L.T.; LIBRADO, P.; LOPEZ, L.; MUÑOZ, A.; NOEL, B.; PALLAVICINI, A.; PERROTTA, G.; PONCET, V.; POT, D.; PRIYONO, RIGOREAU, M.; ROUARD, M.; ROZAS, J.; TRANCHANT-DUBREUIL, C.; VANBUREN, R.; ZHANG, Q.; ANDRADE, A.C.; ARGOUT, X.; BERTRAND, B.; KOCHKO, A. de; GRAZIOSI, G., HENRY, R.J.; JAYARAMA, MING, R.; NAGAI, C.; ROUNSLEY, S., SANKOFF, D.; GIULIANO, G.; ALBERT, V.A.; WINCKER, P.; LASHERMES, P. The coffee genome provides insight into the convergent evolution of caffeine biosynthesis. **Science**, v.345, n.6201, p.1181-1184, 2014.

DULSAT-SERRA, N.; QUINTANILLA-CASAS, B.; VICHI, S. Volatile thiols in coffee: A review on their formation, degradation, assessment and influence on coffee sensory quality. **Food Research International**, v.89, p.982-988, 2016.

EPA, Environmental Protection Agency. **Toxicological Review of Toluene**. 2005. Disponível em: <https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/0118tr.pdf>. Acesso em: 10 de janeiro de 2018.

EQUIPE CONILON BRASIL. Novo protocolo de degustação de robustas é testado: Cafés capixabas obtiveram resultados animadores. **Revista Conilon Brasil**. Vitória, ES. v.8, p 10-11. 2011.

FAGAN, E. B.; HENRIQUE, C.; SOUZA, E. DE. Efeito do tempo de formação do grão de café (*Coffea sp*) na qualidade da bebida. **Bioscience Journal**, n. 1961, p. 729–738, 2011.

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

FARAH, A.; MONTEIRO, M.C.; CALADO, V.; FRANCA, A.S.; TRUGO, L.C. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, v.98, n. 2, p.373-380, 2006.

FARAH, A.; PAULIS, T. De; TRUGO, L.C.; MARTIN, P.R. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p.1505-1513, 2005.

FASSIO, L. de O.; MALTA, M.R.; CARVALHO, G.R.; LISKA, G.R.; LIMA, P.M. de; PIMENTA, C.J. Sensory description of cultivars (*Coffea arabica* L.) resistant to rust and its correlation with caffeine, trigonelline, and chlorogenic acid compounds. **Beverages**, v. 2, n. 1, p. 1, 2016.

FERNADES, S.M.; PEREIRA, R.G.F.; PINTO, N.A.V.D.; NERY, M.C.; de PÁDUA, F.R.M. Constituintes químicos e teor de extrato aquoso de cafés arábica (*Coffea arabica* L.) e conilon (*Coffea canephora* Pierre) torrados. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.5, p.1078-1081, 2003.

FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A. da; BRAGANÇA. S. M.; FERRÃO, M. A. G.; MUNER, L. H. **Café Conilon**. Vitória: Incaper, 2007. 702p.

FERRÃO, R.G.; CRUZ, C.D.; FERREIRA, A.; CECON, P.R.; FERRÃO, M.A.G.; FONSECA, A.F.A. da; CARNEIRO, P.C. de S.; SILVA, M.F. da. Parâmetros genéticos em café Conilon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.1, p. 61-69, 2008.

FILHO, T.L.; DELLA LUCIA, S.M.; SARAIVA, S.H.; LIMA, R.M. Características físico-químicas de bebidas de café tipo expresso preparadas a partir de blends de café arábica e conilon. **Revista Ceres**, v.62, n.4, p. 333-339, 2015.

FILHO, T.L.; DELLA LUCIA; S.M.; SARAIVA, S.H.; SARTORI, M.A. Composição físico-química e qualidade sensorial de café conilon produzido no Estado do Espírito Santo e submetido a diferentes formas de processamento. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.4, p. 1723-1730, 2013.

FLAMENT, I. **Coffee Flavor Chemistry**. John Wiley and Sons, Ltd., 2002.

FONSECA, A.F.A. da; FERRÃO, R.G. ;FERRÃO, M.A.G. ; BRAGANÇA, S.M. ; SILVEIRA, J.S.M. Jardins clonais de café Conilon no Estado do Espírito Santo. In *Embrapa Café-Artigo em anais de congresso*. In: Simpósio de pesquisa dos cafés do Brasil, 4., 2005, Londrina. Anais... Brasília, DF: **Embrapa Café**, 2005.

FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S.; OLIVEIRA, R.C.S.; MANCHAAGRESTI, P.C.;AUGUSTI, R.A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment. **Journal of Food Engineering**, v.92, n.3, p.345-352, 2009.

FREDERICO, S. Cafeicultura Científica Globalizada e as Montanhas Capixabas: a produção de café Arábica nas regiões do Caparaó e Serrana do Espírito Santo. **Revista Sociedade & Natureza**, v. 25, n. 1, p. 7–20, 2013.

FRITZSONS, E.; MANTOVANI, L.E.; AGUIAR, A.V. de. Relação entre altitude e temperatura: uma contribuição ao zoneamento climático no Estado do Paraná. **Revista de Estudos Ambientais**, v.10, n.1, p.49-64, 2008.

GIOMO, G. S. Uma boa pós-colheita é segredo da qualidade. **A Lavoura**, p. 12-21, 2012.

GLOESS, A.N.; YERETZIAN, C.; KNOCHENMUSS, R.; GROESSL, M.On-line analysis of coffee roasting with ion mobility spectrometry-mass spectrometry (IMS-MS). **International Journal of Mass Spectrometry**, v.424, p.49-57, 2018.

HALFORD, N.; CURTIS, T.Y.; MUTTUCUMARU, N.; POSTLES, J.; MOTTRAM, D.S. Sugars in crop plants. **Annals of Applied Biology**, v.158, n.1, p.1-25, 2010.

HO, C.-T.; ZHENG, X.; LI, S. Tea aroma formation. **Food Science and Human Wellnes**, v.1, p.9-27, 2015.

IAL. INSTITUTO ADOFLO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**.v 1: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. São Paulo: IMESP, 3. ed. 1985. p. 190.

ILLY, A.; VIANI, R.; **Espresso Coffee: the Science of Quality**; 2nd ed., Elsevier Academic Press: London, 2005.

INCAPER. **Cafeicultura:** Tecnologias. Disponível em: <<https://incaper.es.gov.br/cafeicultura-tecnologias>>. Acesso em: 15 de setembro de 2017.

INNOCENTINI, M. Política brasileira do agronegócio do café Desafios e propostas¹. **Revista de Política Agrícola**, Ano XXIV, p.5-16, 2015.

JARAMILLO-BOTERO, C.; MARTINEZ, E. H. P.; SANTOS, R. H. S. Características do café (*Coffea arabica* L.) sombreado no norte da América latina e no Brasil: análise comparativa. **Coffee Science**, v.1, n.2, p.94–102, 2006.

JHAM, G, N; FERNANDES, S, A; GARCI C, F.; SILVA, A.A. da. Comparison of GC and HPLC for the quantification of organic acids in coffee. **Phytochemical Analysis**, v.13, n.2, p.99-104, 2002.

KIM, S.Y.; KO, J.-A.; KANG, B.-S.; PARK, H.J. Prediction of key aroma development in coffees roasted to different degrees by colorimetric sensor array. **Food Chemistry**, v.240, p.808-816, 2018.

KORHOŇOVÁ, M.;HRON, K.;KLIMČÍKOVÁ, D.;MÜLLER, L.; BARTÁK, P.; BEDNÁŘ, P. Coffee aroma-Statistical analysis of compositional data. **Talanta**, v.80, n.2, p.710-715, 2009.

KOSOWSKA, M.; MAJCHER, M.A.; FORTUNA, T. Volatile compounds in meat and meat products. **Food Science and Technology**, v.37, n.1, p.1-7, 2017.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. **Relatos dos testes de vigor disponíveis as grandes culturas**. Informativo ABRATES, v.1, n.2, p. 15-50, 1991.

LACERDA FILHO, A.F. de; SILVA, J. de S.E. Secagem de café em combinação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 671–678, 2006.

LANÇAS, F.M. **Cromatografia Líquida Moderna**. Editora Átomo: Campinas, 2009.

LAVIOLA, B.G.; MARTINEZ, H.E.P.; SALOMÃO, L.C.C.; CRUZ, C.D.;

MEDONÇA, S.M.; NETO, A.P. Alocação de fotoassimilados em folhas e frutos de cafeeiro cultivado em duas altitudes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n.1, p.1521-1530, 2007.

LEE, L.W.; CHEONG, M.W.; CURRAN, P.; YU, B.; LIU, S.Q. Coffee fermentation and flavor - An intricate and delicate relationship. **Food Chemistry**, v.185, p.182-191, 2015.

Lehninger, A. L., Nelson, D. L., Cox, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. New York: W.H. Freeman, 2013.

LEITE, C.A.M.; SILVA, O.M. DA. **Demanda de cafés especiais**. In: ZAMBOLIM, L. Café : produtividade, qualidade e sustentabilidade. Viçosa: UFV, 2000. p.51-74.

LI, C.; WANG, H.; JUÁREZ, M.; RUAN, E.D. Structural Characterization of Amadori Rearrangement Product of Glucosylated *N*- α -Acetyl-Lysine by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **International Journal of Spectroscopy**, p1-6, 2014.

MAGIERO, M.; BONOMO, R.; PARTELLI, F.L.; SOUZA, J.M. de. Crescimento vegetativo do cafeeiro Conilon fertirrigado com diferentes parcelamentos e doses de nitrogênio e potássio. **Revista Agro@ mbiente On-line**, v. 11, n. 1, p. 31-39, 2017.

MALTA, M.R.; SANTOS, M.L. dos; SILVA, F.A.M. de. Qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro (*Coffea arábica* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v.24, n.5, p.1385, 2008.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Acesso em: 23/08/2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira>.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pesca e Abastecimento do Brasil. **Regras para Análises de Sementes**. 2009. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf>. Acesso em: 05 de janeiro de 2018.

MARCOLAN, A.L.; RAMALHO, A.R.; MENDES, A.M.; TEIXEIRA, C.A.D.; FERNANDES, C.F.; COSTA, J.N.M.; VIEIRA JÚNIOR, J.R.; OLIVEIRA, S.J.M.; FERNANDES, S.R. **Cultivo dos cafeeiros conilon e Robusta para Rondônia**. Embrapa Rondônia-Sistema de Produção (INFOTECA-E), 3ª ed., 2009, 69p.

MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. Volatile components in roasted coffee. Part I: heterocyclic compounds. **Química Nova**, 1999.

MARQUES, E.R.; BOREM, F.M.; PEREIRA, R.G.F.A.; BIAGGIONI, M.A.M. Eficácia do teste de acidez graxa na avaliação da qualidade do café arábica (*Coffea arabica* L.) submetido a diferentes períodos e temperaturas de secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.5, p.1557-1562, 2008.

MARTINEZ, H.E.P.; CLEMENTE; J.M.; LACERDA, J.S. de; NEVES, Y.P.; PEDROSA, A.W. Nutrição mineral do cafeeiro e qualidade da bebida. **Revista Ceres**, v. 61, p. 838–848, 2014.

MARTINS, E.; APARECIDO, E. De O.; SANTOS, L.S.; MENDONÇA, J.M.A. de; SOUZA, P.S. de. Weather influence in yield and quality coffee produced in South Minas Gerais region. **Coffee Science**, v. 10, n. 4, p. 499-506, 2015.

MATIELLO, J. B. **Clima e solos para o cafeeiro**. In: O café : do cultivo ao consumo. São Paulo: Globo, Cap.2, p.26-39, 1991.

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

MORAIS, S.A.L. de; AQUINO, F.J.T. de; NASCIMENTO, E.A. do; OLIVEIRA, G.S. de; CHANG, R.; SANTOS, N.C. dos; ROSA, G.M. Bioactive compounds, acids groups and antioxidant activity analysis of arabic coffee (*Coffea arabica*) and its defective beans from the Brazilian savannah submitted to different roasting degrees. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 198-207, 2008.

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

MURKOVIC, M.;DERLER, K. Analysis of amino acids and carbohydrates in green coffee. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v.69, p.25-32, 2006.

NASCIMENTO, E.A. do; AQUINO, F.J.T. de; NASCIMENTO, P.M. do; CHANG, R.; MORAIS, S.A.L. de. Constituintes voláteis e odorantes potentes do café conilon em diferentes graus de torra. **Ciencia y Engenharia/ Science and Engineering Journal**, v.16, p.23-30, 2007.

NELSON, N. A photometric adaptation of Somogy method for determination of glucose. **Journal of Biological Chemists**, Baltimore, v.153, n.1, p. 375- 384, 1944.

NIJSSEN, L.M., VISSCHER, C.A., MAARSE, H., WILLEMSSENS, L.C.; BOELEN, M.H. **Volatile Compounds in Food. Qualitative and Quantitative**. Data, 7th edn, pp. 72. 1-72.23. TNO Nutrition and Food Research Institute, Zeist, The Netherlands, 1996.

NOBRE, G.W.; BORÉM, F.M.; ISQUIERDO, E.P.; PEREIRA, R.G.F.A.; OLIVEIRA, P.D. de. Composição química de frutos imaturos de café arábica (*Coffea arabica* L.) processados por via seca e via úmida. **Coffee Science**, v.6, n.2, p.107-113, 2011.

NURSTEN, H.E.The **Maillard reaction** [electronic resource]: chemistry, biochemistry, and implications. Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry, 2005, 214 p.

OKARU, A.O.; LACHENMEIERD, W. The Food and Beverage Occurrence of Furfuryl Alcohol and Myrcene - two Emerging Potential Human Carcinogens? **Toxics**, v.5, n.1, p.2-8, 2017.

OLIVEIRA, D.M. de; BASTOS, D.H.M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, v.34, n.6, p.1051-1056, 2011.

PACHECO, S.; BORGUINI, R.G.; SANTIAGO, M.C.P.A.; NASCIMENTO, L.S.M.; GODOY, R.L.O. História da Cromatografia Líquida. **Revista Virtual de Química**, v.7, n.4, p.1225-1271, 2015.

PAULA, B.D.; CARVALHO FILHO, C.D.; MATTA, V.M.D.; MENEZES, J.D.S.; LIMA, P.D.C.; PINTO, C.O.; CONCEIÇÃO, L.E.M.G. Production and physicochemical characterization of fermented umbu. **Ciência Rural**, v.42, p.1688-1693, 2012.

PAULI, E.D.; CRISTIANO, V.; NIXDORF, S.L. Método para determinação de carboidratos empregado na triagem de adulterações em café. **Química Nova**, v.34, n.4, p.689-694, 2011.

PERROIS, C.; STRICKLER, S.R.; MATHIEU, G.; LEPELLEY, M.; BEDON, L.; MICHAUX, S.; HUSSON, J.; MUELLER, L.; PRIVAT, I. Differential regulation of caffeine metabolism in *Coffea arabica* (Arabica) and *Coffea canephora* (Robusta). **Planta**, v.241, n.1, p.179-191, 2014.

PETISCA, C.; PALACIOS, T.P.; PINHO, O.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O. Optimization and Application of a HS-SPME-GC-MS Methodology for Quantification of Furanic Compounds in Espresso Coffee. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v.40, p.125-133, 2015.

PEREIRA, L.L. **Novas abordagens para produção de cafés especiais a partir do processamento via-úmida**. 2017. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2017.

PINHEIRO, P.F.; COSTA, A.V.; QUEIROZ, V.T. de; ALVARENGA, L.M.; PARTELLI, F.L. Qualidade do café conilon sob diferentes formas de secagem. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15, p.1481-1489, 2012.

PRAGST, F. Application of solid-phase microextraction in analytical toxicology. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.388, n.7, p.1393-1414, 2007.

PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. 1992. 125 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

PUBCHEM. **Kovats**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>> . Acesso em: 11 de janeiro de 2018.

PYRZYNSKA, K.; SENTKOWSKA, A. Recent developments in the HPLC separation of phenolic food compounds. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v.45, p.41-51, 2015.

RAMALHO, A. R., VENEZIANO, W., ROCHA, R., OLIVEIRA, C., CASSARO, J. **Cultivares de cafeeiros Conilon e Robusta indicadas para o Estado de Rondônia**. Embrapa Rondônia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2009, p.1-10.

RAMALHO, A.R.; ROCHA, R.R.; SOUZA, F.F.; VENEZIANO, W.; TEIXEIRA, A.L. Progresso genético da produtividade de café beneficiado com a seleção de clones de cafeeiro “Conilon”. **Revista Ciência Agronômica**, v.47, n.3, p.516-523, 2016.

RESENDE, O.; AFONSO JÚNIOR, P.C.; CORRÊA, P.C.; SIQUEIRA, V.C. Conilon coffee quality submitted to drying in hybrid terrace and concrete yard. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n.2, p.327-335, 2011.

RICCI, M. dos S.F.; COCHETO JUNIOR, D.G.; ALMEIDA, F.F. de. Condições microclimáticas, fenologia e morfologia externa de cafeeiro em sistemas arborizados e a pleno sol. **Coffee Science**, v.8, n.3, p.379-388, 2013.

RIBEIRO, B.B.; NUNES, C.A.; SOUZA, A.J. de J.; MONTANARI, F.F.; SILVA, V.A. da; MADEIRA, R.A.V.; PIZA, C. de. Profile coffee cultivars sensory processed in dry and humid via after storage. **Coffee Science**, v.12, n.2, p.148-155, 2017.

ROGERS, W.J.; MICHAUX, S.; BASTIN, M.; BUCHELI, P. Changes to the content of sugars, sugar alcohols, myo-inositol, carboxylic acids and inorganic anions in developing grains from different varieties of Robusta (*Coffea canephora*) and Arabica (*C. arabica*) coffees. **Plant Science**, v. 149, n. 2, p. 115–123, 1999.

SANTOS, M.A.; CHALFOUN, S.M.; PIMENTA, C.J. Influência do processamento por via úmida e tipos de secagem sobre a composição, físico química e química do café (*Coffea arabica* L). **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.1, p. 213–218, 2009.

SANTOS; E. de S. M. Dos; DELIZA, R.; FREITAS, D. de G.C.; CORRÊA, F.M. Efeito de grãos conilon no perfil sensorial e aceitação de bebidas de café. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 5, p. 2297–2306, 2013.

SCHMIDT, C.A.P.; MIGLIORANZA, E.; PRUDÊNCIO, S.H. Interação da torra e moagem do café na preferência do consumidor do oeste paranaense. **Ciência Rural**, v.38, p.1111-1117, 2008.

SHAN, J.; WANG, X.; HAN, S.; KONDO, N. Application of Curve Fitting and Wavelength Selection Methods for Determination of Chlorogenic Acid Concentration in Coffee Aqueous Solution by Vis/NIR Spectroscopy. **Food Analytical Methods**, v.10, n.4, p.999-1006, 2017.

SHRESTHA, S.; RIJAL, S.K.; POKHREL, P.; RAI, K.P. A Simple HPLC Method for Determination of Caffeine Content in Tea and Coffee. **Journal of Food Science and Technology Nepal**, v.9, p.74-78, 2016.

SILVA, A.F. da; MINIM, V.P.R.; RIBEIRO, M.M. Análise sensorial de diferentes marcas comerciais de café (*Coffea arabica* L.) orgânico. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.6, p.1224-1230, 2005.

SILVA, R.N.; MONTEIRO, V.N.; ALCANFOR, J.D.X.; ASSIS, E.M.; ASQUIERI, E.R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.337-341, 2003.

SILVEIRA, A. de S.; PINHEIRO, A.C.T.; FERREIRA, W.P.M.; SILVA, L.J. da; RUFINO, J.L. dos S.; SAKIYAMA, N.S. Sensory analysis of specialty coffee from different environmental conditions in the region of Matas de Minas, Minas Gerais, Brazil. **Revista Ceres**, v.63, n.4, p.436–443, 2016.

SIQUEIRA, H. H. DE; ABREU, C. M. P. DE. Composição Físico-Química e Qualidade do Café Submetido a Dois Tipos de Torração e com Diferentes Formas de Processamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.1, p.112-117, 2006.

STURM, G.M.; COSER, S.M.; SENRA, J.F. de B.; FERREIRA, M.F. da S.; FERREIRA, A. Qualidade Sensorial de Café Conilon em Diferentes Altitudes. **Enciclopédia Biosfera**, v.6, p.1-7, 2010.

THE PHEROBASE: DATABASE OF PHEROMONES AND SEMIOCHEMICALS. **Kovats**. Disponível em: <<http://www.pherobase.com/time-down/>> Acesso em: 11 de janeiro de 2018.

THOMAZINI, A.; TOMAZ, M.A.; MARTINS, L.D.; RODRIGUES, W.N. Abordagem sobre qualidade da bebida no café conilon. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 1–16, 2011.

TOLEDO, P.R.A.B. de; MELO, M.M.R. de; PEZZA, H.R.; TOCI, A.T.; SILVA, C.M. Discriminant analysis for unveiling the origin of roasted coffee samples: A tool for quality control of coffee related products. **Food Control**, v. 73, p. 164–174, 2017.

VAN BA, H.; HWANG, I.; JEONG, D.; TOUSEEF, A. **Principle of Meat Aroma Flavors and Future Prospect**. 2012. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/latest-research-into-quality-control/principle-of-meat-aroma-flavors-and-future-prospect>>. Acesso em: 08 de janeiro de 2018.

VÁRVÖLGYI, E.; GERE, A.; SZÖLLŐSI, D.; SIPOS, L.; KOVÁCS, Z.; KÓKAI, Z.; CSÓKA, M.; MEDNYÁNSZKY, Z.S.; FEKETE, A.; KORÁNY, K. Application of Sensory Assessment, Electronic Tongue and GC-MS to Characterize Coffee Samples. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v.40, n.1, p.125-133, 2015.

VIGNOLI, J.A.; VIEGAS, M.C.; BASSOLI, D.G.; BENASSI, M. De T. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International**, v. 61, p. 279-285, 2014.

WANG, X.; LIM, L-T. Investigation of CO₂ precursors in roasted coffee. **Food Chemistry**, v. 219, p. 185-192, 2017.

YANG, N.; LIU, C.; LIU, X.; DEGN, T.K.; MUNCHOW, M.; FISK, I. Determination of volatile marker compounds of common coffee roast defects. **Food Chemistry**, v.211, p.206-214, 2016.

YASHIN, A.; YASHIN, Y XIA, X.; NEMZER, B. Chromatographic Methods for Coffee Analysis: A Review. **Journal of Food Research**; v.6, n.4; p.60-82, 2017

ZAIDAN, U.R.; CORRÊA, P.C.; FERREIRA, W.P.M.; CECON, P.R. Ambiente e variedades influenciam a qualidade de cafés das Matas de Minas. **Coffee Science**, v.12, n.2, p.93-100, 2017.

8. APÊNDICES

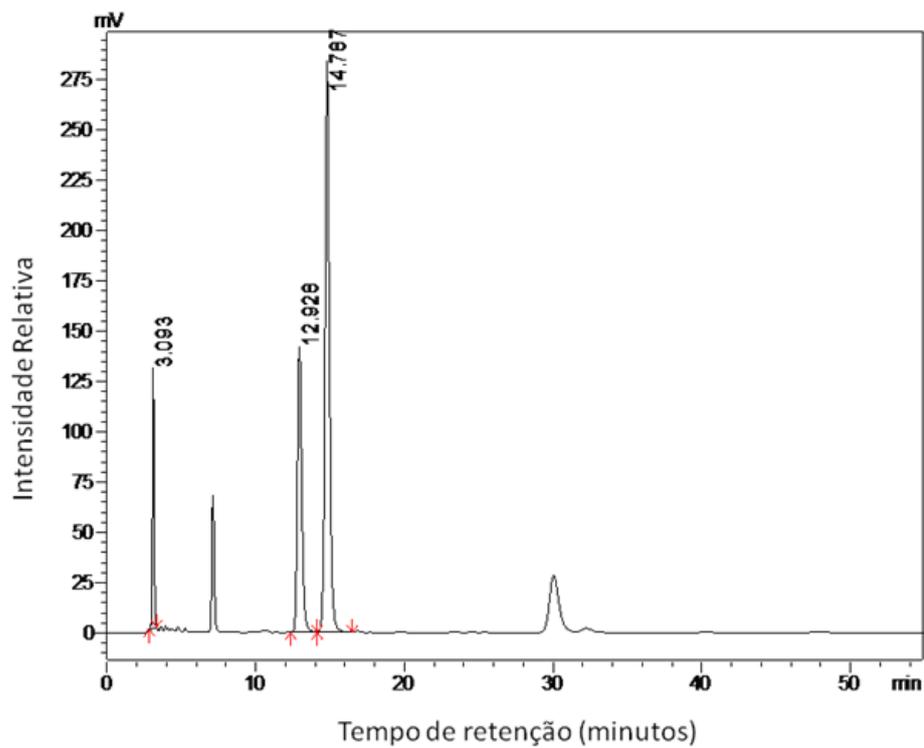


Figura A1. Cromatograma da amostra V2 analisada por CLAE-HPLC.

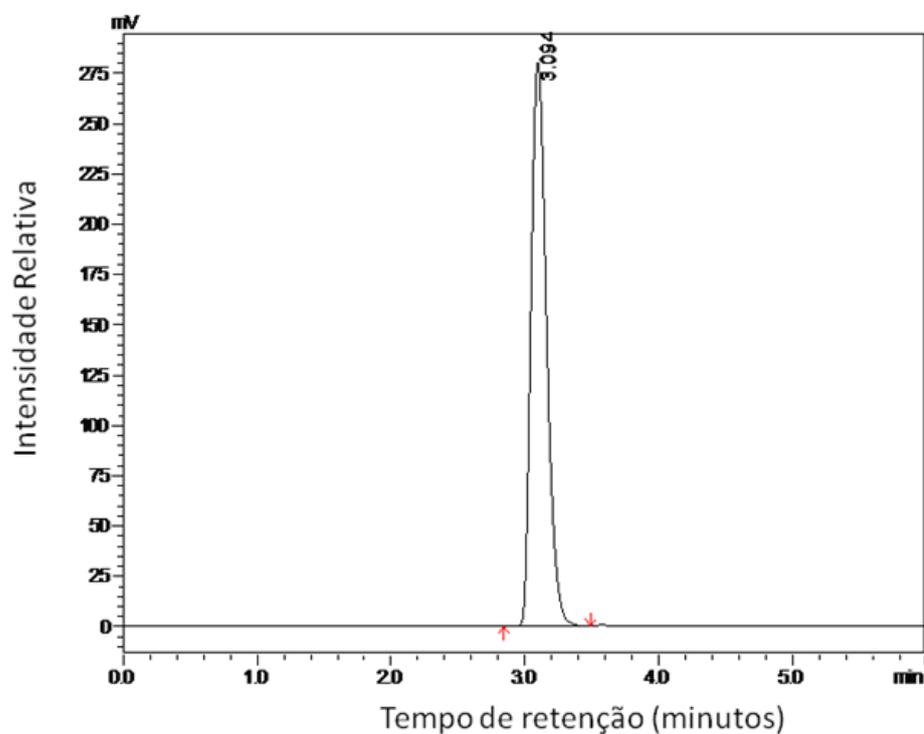


Figura A2. Cromatograma do padrão de trigonelina.

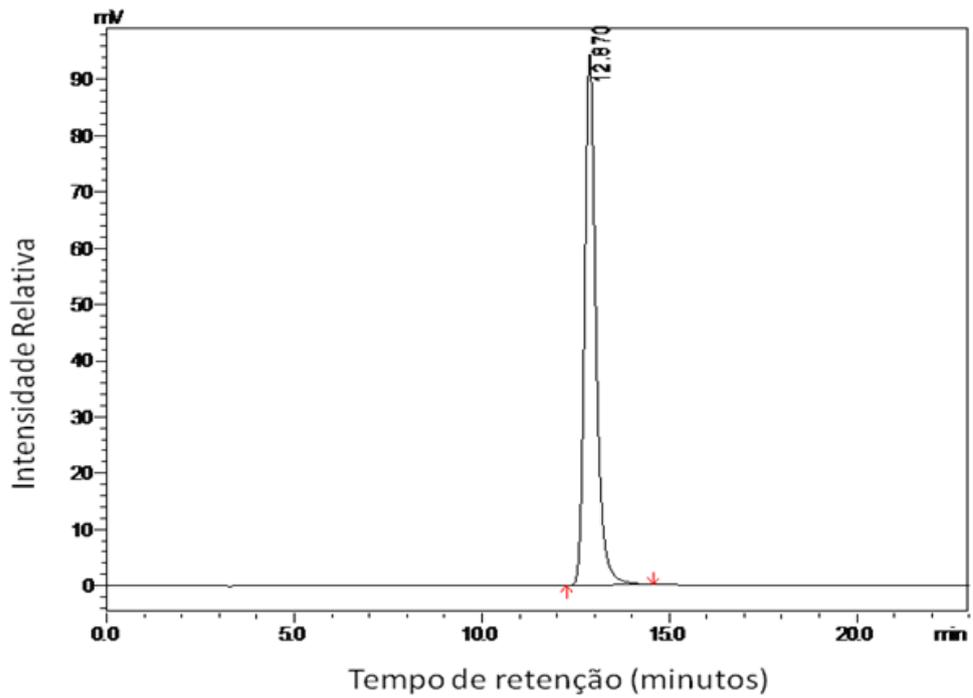


Figura A3. Cromatograma do padrão do ácido clorogênico (5-ACQ).

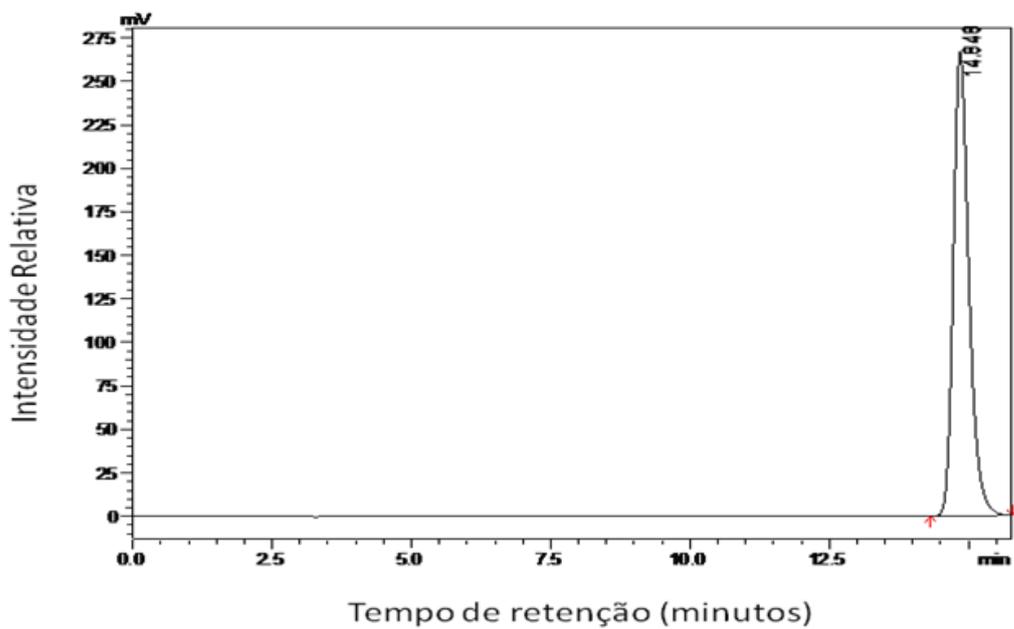


Figura A4. Cromatograma do padrão de cafeína.

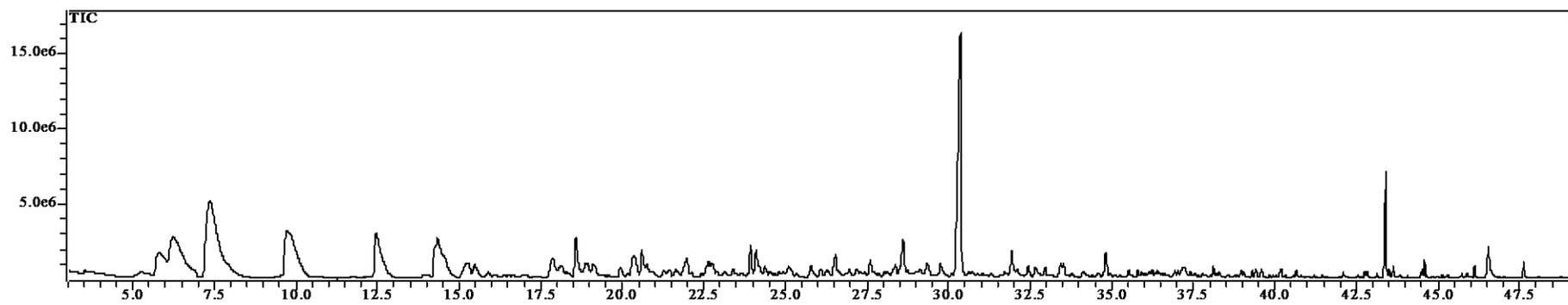


Figura A5. Cromatograma de íons totais dos voláteis do café conilon cultivado a 240 m de altitude.

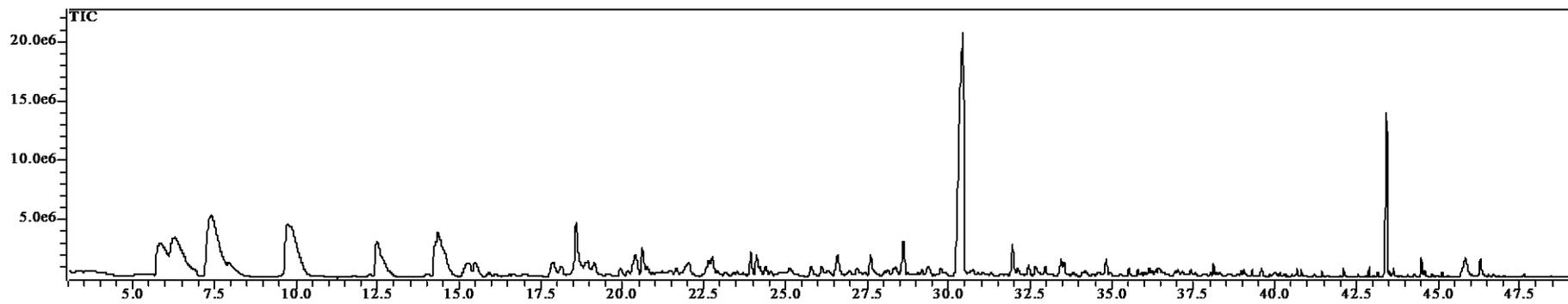


Figura A6. Cromatograma de íons totais dos voláteis do café conilon cultivado a 350 m de altitude.

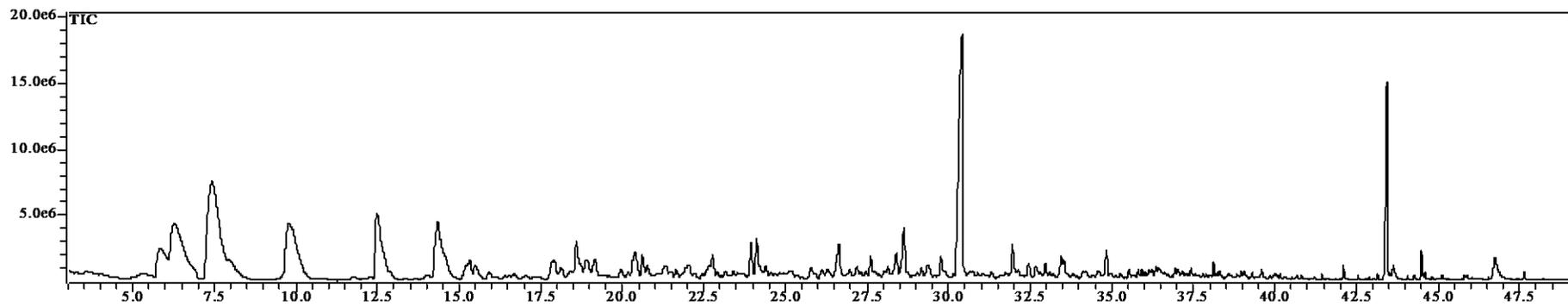


Figura A7. Cromatograma de íons totais dos voláteis do café conilon cultivado a 580 m de altitude.

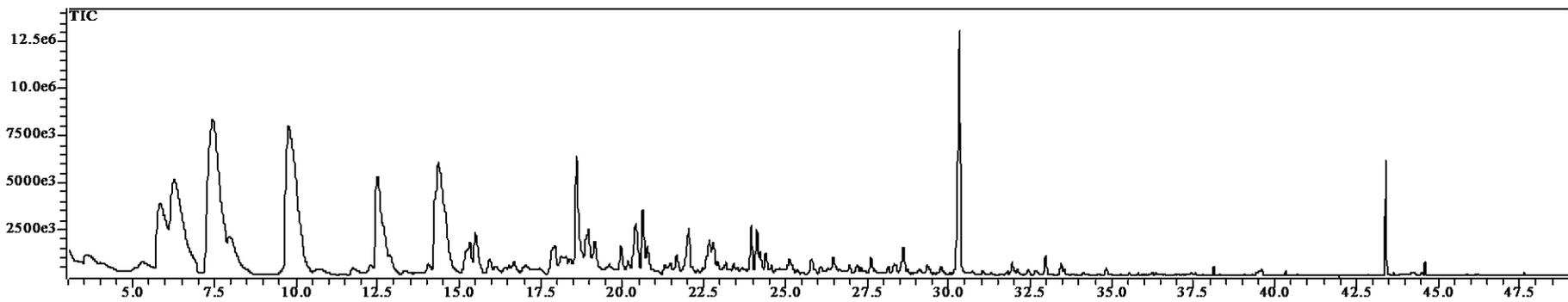


Figura A8. Cromatograma de íons totais dos voláteis do café conilon cultivado a 720 m de altitude.