



MARCELLA NUNES DE FREITAS

**MÉTODOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E
ANÁLISE DE IMAGEM PARA AVALIAR A
QUALIDADE DO CAFÉ**

LAVRAS – MG

2013

MARCELLA NUNES DE FREITAS

**MÉTODOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E ANÁLISE DE IMAGEM
PARA AVALIAR A QUALIDADE DO CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa

Coorientadores

Dr. André Vital Saúde

Dr. Flávio Meira Borém

Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho

LAVRAS – MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Freitas, Marcella Nunes de.

Métodos fisiológicos, bioquímicos e análise de imagem para
avaliar a qualidade do café / Marcella Nunes de Freitas. – Lavras :
UFLA, 2013.

165 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa.

Bibliografia.

1. *Coffea arabica* L. 2. Análise sensorial. 3. Sementes. 4. Teste
de tetrazólio. 5. Processamento digital de imagens. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.7321

MARCELLA NUNES DE FREITAS

**MÉTODOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E ANÁLISE DE IMAGEM
PARA AVALIAR A QUALIDADE DO CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 01 de fevereiro de 2013.

Dr. André Vital Saúde	UFLA
Dra. Marcela Carlota Nery	UFVJM
Dr. Marcelo Ribeiro Malta	EPAMIG

Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa

Orientadora

LAVRAS – MG

2013

Aos meus pais, pelo apoio incondicional, exemplos de força e dedicação, bases da minha educação, que semearam e cuidaram com atenção e carinho do meu crescimento pessoal e profissional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua presença constante na minha vida, pelo auxílio nas minhas escolhas e me confortar nas horas difíceis;

Aos meus pais; Saulo Nunes de Freitas e Maria Conceição Noronha de Freitas, meus irmãos; Mariana Nunes de Freitas e Saulo Nunes de Freitas Júnior e minha cunhada Tamara Prudente, pela família, amor e compreensão nos momentos difíceis, por estarem sempre presentes, mesmo quando ausentes;

Ao Thiago Finotti de Moraes, pelas palavras e conversas que foram muito importantes nos momentos difíceis;

Agradeço à Pesquisadora da Embrapa Café, Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa, pela oportunidade, orientação, compreensão, amizade, confiança e todos os ensinamentos agregados ao longo do curso;

Ao coorientador, professor André Vital Saúde, pela coorientação nas análises digitais de imagens;

Ao coorientador, professor Flávio Meira Borém, pela concessão de amostras de grãos de café;

Ao Laboratório de Qualidade do Café “Dr. Alcides Carvalho”, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, na pessoa do pesquisador, Marcelo Ribeiro Malta, pelo auxílio com as análises físico-químicas;

À pós-doutoranda, Aline da Consolação Sampaio Clemente, pela ajuda nas análises bioquímicas;

Ao pós-doutorando, Adriano Delly Veiga, pelas contribuições dadas durante o exame de qualificação;

Às minhas queridas amigas do mestrado, que foram essenciais durante o curso, fazendo parte destes dois anos, com momentos de muita alegria e que permanecerão pelo resto de nossas vidas;

Aos meus familiares, pelo apoio;

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realização do curso;

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos;

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), pelo financiamento das análises sensoriais;

Aos professores; João Almir Oliveira, Édila Vilela de Resende Von Pinho, Renato Mendes Guimarães e Maria Laene Moreira de Carvalho, pelos esclarecimentos e conhecimentos transmitidos durante o curso;

Aos funcionários do Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, pela amizade e apoio;

Aos bolsistas de iniciação científica e aos estagiários do Laboratório de Sementes, pela ajuda prestada, principalmente durante a fase de coleta e preparo das amostras de café;

Agradeço, em especial, à aluna de iniciação científica, Cristiane Carvalho Pereira, pelo auxílio na execução dos trabalhos, cuja ajuda foi muito importante para a conclusão do experimento;

À Marli, secretária da pós-graduação do DAG, pela atenção e ajuda;

A todos que, de algum modo, contribuíram para a realização deste trabalho.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

RESUMO GERAL

O interesse dos produtores pela produção de café com alta qualidade tem crescido em grandes proporções, para acompanhar as exigências do mercado consumidor. Neste sentido, existe grande interesse em estudos de marcadores que possam ser associados à análise sensorial da bebida, conferindo maior segurança aos resultados. Assim, objetivou-se neste trabalho investigar o potencial de análises fisiológicas e bioquímicas e ainda avaliar a aplicação do princípio do teste de tetrazólio na coloração do endosperma dos grãos de café para a determinação da qualidade do café. Foram utilizados 10 lotes de grãos de café, os quais foram armazenados em câmara fria a 10 °C, procedendo as avaliações antes do armazenamento e após 3 e 6 meses, constituindo um esquema de fatorial 10 x 3. Os grãos de café foram submetidos à análise sensorial, avaliação fisiológica, por meio do teste de germinação, de tetrazólio, de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio e ao teste de tetrazólio modificado com processamento digital e avaliação visual das imagens. Foi também realizada a análise eletroforética das isoenzimas superóxido dismutase, esterase, catalase, álcool desidrogenase e malato desidrogenase e foi determinada a atividade da enzima endo- β -mananase. Aos seis meses de armazenamento foi realizada a análise química dos grãos, determinando-se os componentes de acidez titulável, extrato etéreo, sólidos solúveis, açúcares totais, redutores e não redutores, presentes nos grãos de café. Os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de correlação. Conclui-se que os testes fisiológicos apresentam elevada correlação com a qualidade de bebida de café, avaliada por meio de análise sensorial. Os testes de protrusão radicular, tetrazólio e condutividade elétrica foram mais sensíveis em detectar alterações da qualidade do grão quando comparados à análise sensorial de bebida. Os sistemas enzimáticos estudados não foram eficientes na aferição da qualidade da bebida do café. As avaliações da composição do grão aos seis meses de armazenamento apresentaram baixa correlação com a análise sensorial. O teste de tetrazólio modificado, utilizando o processamento digital de imagens, mostrou-se como uma ferramenta promissora para complementar a análise sensorial do café, sendo de grande interesse a execução de pesquisas adicionais para viabilizar o seu uso.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L. Análise sensorial. Teste de tetrazólio. Processamento Digital de Imagens.

GENERAL ABSTRACT

The interest of producers for the production of high quality coffee has grown largely to follow the demands of the consumer market. In this sense, there is great interest in studies of markers that may be associated with sensory analysis of this beverage, giving greater security to the results. Thus, this study aimed to investigate the potential of the physiological and biochemical analyzes, and to assess the application of the tetrazolium staining in the endosperm of the coffee beans to determine the coffee quality. 10 batches of coffee beans were used, which were stored in a cold chamber at 10 ° C, doing assessments before storage and after 3 and 6 months, constituting a 10 x 3 factorial design. The coffee beans were subjected to sensory analysis, physiological assessment through the germination test, tetrazolium, electrical conductivity and leaching of potassium and tetrazolium test modified with digital processing and visual assessment of the images. It was also performed electrophoretic analysis of isoenzymes, such as superoxide dismutase, esterase, catalase, alcohol dehydrogenase and malate dehydrogenase, it was also determined the endo- β -mannanase activity. At 6 months of storage chemical analysis of the grain was performed, determining the components of acidity titratable, ethereal extract, soluble solids, total sugars, reducing and non-reducing sugars present in grains of coffee. Os results were submitted to analysis of variance and correlation test. We conclude that physiological tests show high correlation with the quality of coffee beverage, evaluated by means of sensory analysis. Radicle protrusion tests, tetrazolium and electrical conductivity were more sensitive in detecting changes in coffee grain quality when compared to the sensory analysis of the beverage. Enzyme systems studied were not effective in measuring the quality of the coffee drink. Assessments of the composition of the grain at 6 months of storage showed low correlation with sensory analysis. The tetrazolium test modified, using the digital image processing, appeared as a promising tool to complement the coffee sensory analysis, it is of great interest to run additional research to facilitate its use.

Keywords: *Coffea arabica* L. Sensory analysis. Tetrazolium test. Digital Image Processing.

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 2		
Figura 1	Coeficientes de correlação entre os resultados de Nota Total da análise sensorial e os testes de lixiviação de potássio (LK), condutividade elétrica (CE), tetrazólio (TTC), massa seca de hipocótilo (MSH), massa seca de raiz (MSR), folhas cotiledonares (FC), germinação (PN) e protrusão radicular (PR) de grãos de <i>Coffea arabica</i> L., antes do armazenamento (A) e, após 3 (B) e 6 meses de armazenamento (C). UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	78
Figura 2	Aspectos de embriões de <i>Coffea arabica</i> L., de melhor qualidade (esquerda) e de pior qualidade (direita), evidenciados no teste de tetrazólio, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	80
Figura 3	Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima superóxido dismutase (SOD), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	88
Figura 4	Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima esterase (EST), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	90
Figura 5	Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima catalase (CAT), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	92
Figura 6	Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima álcool desidrogenase (ADH), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	93
Figura 7	Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima malato desidrogenase (MDH), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	94
Figura 8	Médias da atividade enzimática da endo- β -mananase (pico mol.min ⁻¹) em grãos de <i>Coffea arabica</i> L., ao 0, 3 e 6 meses de armazenamento. ¹ Médias seguidas de mesma letra não diferenciam os lotes, em cada determinação da endo- β -mananase, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	95
CAPITULO 3		
Figura 1	Ilustração da etapa de isolamento das imagens de cada repetição, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	119

Figura 2	Ilustração da separação das imagens nas bandas do vermelho (R-red), verde (G-green) e azul (B-blue). UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	120
Figura 3	Aspecto das imagens após a fase de segmentação. Setas indicam os “buracos” nas partes dos grãos de café, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	121
Figura 4	Seleção da área de interesse. Imagem após a fase de segmentação e o tratamento com a utilização da morfologia matemática, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	122
Figura 5	Otsu na banda do vermelho no threshold 3. A área em vermelho corresponde ao valor $area(th,i)$, e o valor $area(segmentacao,i)$ corresponde a área total da parte seccionada de cada grão de i , UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	123
Figura 6	Nota 0, endosperma completamente róseo a vermelho brilhante; Nota 1, endosperma colorido por vermelho intenso e pontuações enegrecidas; Nota 2, endosperma com 1 a 25% de área branca; Nota 3, endosperma com 26 a 50% de área branca; Nota 4, endosperma com 51 a 75% de área branca e Nota 5, endosperma com 76 a 100% de área branca, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	124
Figura 7	Áreas correspondentes às imagens obtidas na primeira época de avaliação de grãos de café após coloração em sal de tetrazólio, dos Lotes 1, 2 e 3, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	139
Figura 8	Áreas correspondentes às imagens obtidas na primeira época de avaliação de grãos de café após coloração em sal de tetrazólio, dos Lotes 4, 5 e 6, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	139
Figura 9	Áreas correspondentes às imagens obtidas na primeira época de avaliação de grãos de café, após coloração em sal de tetrazólio, dos Lotes 7, 8 e 9, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	139
Figura 10	Áreas correspondentes às imagens obtidas na primeira época de avaliação de grãos de café após coloração em sal de tetrazólio, do Lote 10, UFLA. Lavras, MG, Brasil, 2013.....	140

LISTA DE QUADROS

	CAPITULO 1	
Quadro 1	Escala de qualidade pela Metodologia SCAA, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	37
	CAPITULO 2	
Quadro 1	Quadro 1 Resultados da análise de correlação entre a atividade enzimática da endo- β -mananase e a análise sensorial de grãos de <i>Coffea arabica</i> L., aos 0, 3 e 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	96
Quadro 2	Resultados da análise de correlação entre os dados da composição química e da análise sensorial de grãos de <i>Coffea arabica</i> L., após 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	97

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2	
Tabela 1	Teor de água (%) dos grãos de <i>Coffea arabica</i> L., durante o período de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013..... 69
Tabela 2	Resultados das notas obtidas para os atributos uniformidade, ausência de defeitos e doçura, da análise sensorial dos grãos de <i>Coffea arabica</i> L., ao longo do armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013..... 70
Tabela 3	Tabela 3 Resultados das notas obtidas para os atributos sabor, acidez, finalização e equilíbrio da análise sensorial dos grãos de <i>Coffea arabica</i> L., ao longo do armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013..... 72
Tabela 4	Resultados das notas obtidas para os atributos fragrância/aroma, corpo e nota final da análise sensorial dos grãos de <i>Coffea arabica</i> L., ao longo do armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013..... 73
Tabela 5	Resultados de protrusão radicular (PR), germinação (G), tetrazólio (TZ), folhas cotiledonares expandidas (FC), plântulas normais fortes (PNF), massa seca de raízes (MSR), massa seca de hipocótilos (MSH), lixiviação de potássio (LK) e nota total da análise sensorial, de grãos de <i>Coffea arabica</i> L., antes do armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013..... 75
Tabela 6	Resultados de protrusão radicular (PR), germinação (G), tetrazólio (TZ), folhas cotiledonares expandidas (FC), plântulas normais fortes (PNF), massa seca de raízes (MSR), massa seca de hipocótilos (MSH), lixiviação de potássio (LK) e nota total da análise sensorial, de grãos de <i>Coffea arabica</i> L., após 3 meses de armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013..... 76
Tabela 7	Resultados de protrusão radicular (PR), germinação (G), tetrazólio (TZ), folhas cotiledonares expandidas (FC), plântulas normais fortes (PNF), massa seca de raízes (MSR), massa seca de hipocótilos (MSH), lixiviação de potássio (LK) e nota total da análise sensorial, de grãos de <i>Coffea arabica</i> L., após 6 meses de armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013..... 77

Tabela 8	Resultados de condutividade elétrica, de grãos de <i>Coffea arabica</i> L., ao longo do armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	83
Tabela 9	Resultados da acidez total titulável (ACT), dos sólidos solúveis (SOS), do extrato etéreo (EXE), dos açúcares redutores (AÇR), açúcares não redutores (AÇNR) e açúcares totais (AÇT) de grãos de <i>Coffea arabica</i> L., após 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	97
CAPITULO 3		
Tabela 1	Resultados das notas obtidas para os atributos uniformidade, ausência de defeitos e doçura, da análise sensorial dos grãos de <i>Coffea arabica</i> L., ao longo do armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	126
Tabela 2	Resultados das notas obtidas para os atributos de sabor, acidez, finalização e equilíbrio, da análise sensorial dos grãos de <i>Coffea arabica</i> L., ao longo do armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	128
Tabela 3	Resultados das notas obtidas para os atributos fragrância/aroma, corpo, nota final e nota total, da análise sensorial dos grãos de <i>Coffea arabica</i> L., ao longo do armazenamento,UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	129
Tabela 4	Coefficientes de correlação entre os resultados da análise sensorial de grãos de café os índices obtidos da análise digital, em cada período de armazenamento. UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	132
Tabela 5	Índices obtidos da análise digital , da banda verde, threshold 0,6, 0,8 e 1,0 e da banda azul, threshold 0,8, após coloração em sal de tetrazólio, em cada período de armazenamento. UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	136
Tabela 6	Índices obtidos da análise visual (IAV) de grãos de café, após coloração em sal de tetrazólio, em cada período de . UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	137
Tabela 7	Coefficientes de correlação entre os índices obtidos da análise visual e da análise digital de grãos de café, após coloração em sal de tetrazólio. e os resultados de nota total da análise sensorial, em cada período de armazenamento. UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.....	138

SUMÁRIO

	CAPITULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	17
1	INTRODUÇÃO	18
2	REFERENCIAL TEORICO	20
2.1	Cenário econômico do café	20
2.2	Testes fisiológicos e bioquímicos para a avaliação da qualidade de sementes	21
2.2.1	Teste de Germinação	21
2.2.2	Teste de Tetrazólio	22
2.2.3	Teste de Condutividade Elétrica	25
2.2.4	Teste de lixiviação de potássio	27
2.2.5	Eletroforese de Isoenzimas	29
2.3	Análises químicas de grãos de café	32
2.3.1	Acidez titulável	32
2.3.2	Açúcares totais, açúcares redutores e não redutores	33
2.3.3	Sólidos solúveis	34
2.3.4	Extrato etéreo	35
2.4	Análise Sensorial	35
2.5	Fundamentos da Análise de Imagem	39
2.6	Processamento digital de imagens aplicado às sementes	44
	REFERÊNCIAS	48
	CAPÍTULO 2 MÉTODOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS PARA AVALIAR A QUALIDADE DO CAFÉ	58
1	INTRODUÇÃO	61
2	MATERIAL E MÉTODOS	63
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4	CONCLUSÃO	100
	REFERÊNCIAS	101
	APÊNDICE A	106
	CAPÍTULO 3 APLICAÇÃO DO PRINCÍPIO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAR A QUALIDADE DE BEBIDA DE CAFÉ, POR PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS	112
1	INTRODUÇÃO	115
2	MATERIAL E MÉTODOS	117
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	126
4	CONCLUSÃO	143
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	144
	REFERÊNCIAS	145

APÊNDICE B	147
ANEXO	163

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

O café é um importante produto da balança comercial brasileira e a partir da década de 90 a qualidade deste produto passou a ser um aspecto diferencial para a atribuição de preços nos mercados nacional e internacional.

Pesquisadores têm investigado marcadores que contribuam para a aferição da qualidade de cafés. A análise sensorial é um aspecto importante na avaliação da qualidade de alimentos ou bebidas, sendo uma análise que envolve um conjunto de técnicas elaboradas para avaliar um produto por meio de percepções, sensações e reações do avaliador, incluindo a sua aceitação ou rejeição (LUCIA; MININ; CARNEIRO, 2006). No entanto, o resultado apenas da análise sensorial da prova de xícara para a avaliação e classificação de cafés quanto à qualidade da bebida pode mostrar-se pouco consistente, visto que são dados subjetivos e que dependem de vários fatores, como do próprio avaliador.

Por meio de pesquisas recentes tem sido identificada uma intensa relação entre a qualidade sensorial da bebida e a qualidade fisiológica dos grãos de café (OLIVEIRA, 2010; SAATH, 2010; TAVEIRA et al., 2012), indicando que as condições de produção, assim como as operações de pós-colheita, como a seleção de frutos maduros, o processamento, a secagem e as condições de armazenamento irão influenciar tanto na qualidade de grãos de café, quanto de sementes para a formação de mudas.

A extensão da redução na qualidade fisiológica pode ser confirmada por diversos testes, tais como o de condutividade elétrica, de lixiviação de potássio, de germinação, de protrusão radicular e de tetrazólio. As alterações na composição físico-químicas dos grãos de café, que influenciam na perda da qualidade sensorial, são avaliadas por meio de análise sensorial e análise da

composição química, como teor de açúcares, acidez total titulável, presença de sólidos solúveis, dentre outros.

Pelo exposto, tornam-se relevantes estudos para viabilizar marcadores fisiológicos e bioquímicos para complementar os resultados das análises sensoriais da bebida do café. Assim, objetivou-se com este estudo a investigação de testes fisiológicos e bioquímicos, utilizados para análise de sementes de café, e a adaptação da metodologia do teste de tetrazólio em conjunto com a análise de imagem, para a avaliação da viabilidade do endosperma dos grãos de café, como potenciais marcadores da qualidade.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cenário econômico do café

O café é um dos produtos de maior importância no agronegócio mundial. De acordo com a International Coffee Organization - ICO (2011), o consumo mundial de café cresce anualmente a uma taxa de 2,5% desde o início da década passada, enquanto a produção no período avançou em média 1,6% ao ano. O descompasso resultou num déficit global da ordem de 40 milhões de sacas de café na safra atual, que equivale a uma safra brasileira em ano de baixa produção.

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, e perspectivas da produção brasileira das espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, em 2012 indicam crescimento de 16,1% em relação à safra anterior. Resultados de pesquisas indicam que o país deverá colher 50,5 milhões de sacas de 60 quilos do produto. Esse crescimento se deve principalmente ao ano de alta bienalidade. Em termos de volume, a produção do café arábica apresenta crescimento de 5.759 mil sacas, e o conilon de 1.239,4 mil sacas de café beneficiado (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012).

Visando garantir níveis elevados de produtividade, as instituições de pesquisa têm buscado, nos últimos anos, o aprimoramento de técnicas de cultivo e de processamento pós-colheita, a introdução de cultivares resistentes a pragas e doenças, dentre outros fatores. No entanto, apesar destes esforços e da liderança do Brasil na produção mundial de café, a competitividade e a sustentabilidade do agronegócio café no mercado internacional está, cada vez mais dependente, dentre outros fatores, da produção de cafés diferenciados e de qualidade superior.

2.2 Testes fisiológicos e bioquímicos para a avaliação da qualidade de sementes

2.2.1 Teste de Germinação

Semente é o material de reprodução vegetal de qualquer gênero, espécie ou cultivar, proveniente de reprodução sexuada ou assexuada, que tenha finalidade específica de semeadura (BRASIL, 2003b).

A qualidade é o conjunto de atributos inerentes às sementes e mudas, que permite comprovar a origem genética e o estado físico, fisiológico e fitossanitário das mesmas. Um dos parâmetros comumente utilizado para a avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes é o teste de germinação. O objetivo com este teste, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) é determinar o potencial máximo de germinação de um lote de sementes, cuja utilização permite comparar a qualidade de diferentes lotes e também estimar o valor da semeadura em campo. Para a realização do teste de germinação faz-se necessária a padronização e o controle das condições de execução do teste a fim de possibilitar a reprodução e a comparação dos seus resultados.

Para o gênero *Coffea* as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) padronizam a execução do teste de germinação em rolo de papel ou entre areia, sob temperatura alternada de 20 °C e 30 °C ou sob temperatura constante de 30 °C, com a primeira avaliação ao décimo quinto dia após a semeadura e a contagem final realizada no trigésimo dia após a semeadura, computando-se as plântulas normais, que são aquelas com potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, sob condições favoráveis. É importante ressaltar que anterior à semeadura é recomendado a retirada do pergaminho das sementes de café.

Embora o teste de germinação seja o método mais utilizado para avaliar a qualidade fisiológica de sementes, alguns autores (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; HENNING, 1991) atribuem a ele, quando empregado exclusivamente, sérias limitações. Para sementes de café tem-se outro agravante, que consiste no tempo gasto para a conclusão do teste de germinação. O processo de germinação das sementes de café ocorre de forma lenta e desuniforme, cujas causas prováveis são relacionadas à presença do endocarpo ou pergaminho, o qual oferece impedimento à absorção de água e oxigênio, à presença de inibidores naturais como a cafeína (PEREIRA et al., 2001) ou ainda ao balanço hormonal (VÁLIO, 1976). No entanto, a lenta germinação das sementes de café permanece, ainda, não totalmente esclarecida (ROSA, 2001).

2.2.2 Teste de Tetrazólio

Tendo em vista, o interesse na avaliação, de forma mais rápida, da viabilidade de sementes de café, o teste de tetrazólio vem sendo recomendado (BRASIL, 2009). A vantagem do teste de tetrazólio é a avaliação do poder germinativo de forma rápida, além de ser de fácil execução e avaliação (SERA; MIGLIORANZA, 2003). Nesse sentido as técnicas de execução deste teste têm sido constantemente tema de pesquisas.

No entanto, podem ocorrer conflitos entre os resultados do teste de tetrazólio e de germinação, pois o teste de tetrazólio é realizado sob condições mais favoráveis de ambiente do que as encontradas no teste de germinação. Além disto, o teste de tetrazólio é realizado em menor tempo, o que minimiza a ação de possíveis fatores adversos que possam vir a interferir na avaliação dos embriões. Segundo França Neto, Krzyzanowski e Costa (1998) e Krzyzanowski, Vieira e França Neto (1999), são aceitáveis diferenças de até 5% entre o teste de viabilidade e de germinação.

O teste de tetrazólio é um teste bioquímico, que se baseia na atividade das enzimas desidrogenases, que reduzem o sal 2,3,5 trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio nos tecidos vivos da semente, pela reação de íons de hidrogênio que são transferidos para o referido sal (DELOUCHE et al., 1976). A redução do sal ocorre apenas nas células vivas, resultando na formação do trifenilformazam, composto vermelho e indifusível que confere cor vermelha ao tecido vivo do embrião. É nítida a separação dos tecidos vivos e coloridos que respiram, daqueles mortos que não colorem.

Segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), é estabelecido que para a execução do teste de tetrazólio deve ser realizada a extração do pergaminho. Tendo em vista a obtenção de um método rápido que possibilite a retirada do pergaminho por completo das sementes de café, Clemente et al. (2011) estudaram a embebição de sementes de café em hipoclorito de sódio, em concentração de 5% por 6 horas, com esta finalidade. No entanto, este método apresentou-se ineficiente para a retirada do pergaminho, afetando negativamente os resultados do teste de tetrazólio.

A coloração pode ser realizada após a extração dos embriões ou apenas com a exposição dos mesmos sem retirá-los do endosperma (BRASIL, 2009). Nesse sentido, Zonta et al. (2009) compararam as diferentes metodologias utilizadas para a execução do teste de tetrazólio em sementes de café. Os autores avaliaram a exposição da porção do endosperma que contém o embrião e a exposição somente do embrião ao tetrazólio a 0,1%, durante 16 horas a 35 °C. Os resultados obtidos por Zonta et al. (2009) indicaram que a metodologia realizada com a retirada total do embrião do endosperma é mais promissora para a avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de café, com valores equivalentes ao do teste de germinação. Ainda segundo os autores a coloração dos embriões, apenas com a exposição dos mesmos à solução de tetrazólio,

apresentou problemas quanto à coloração, gerando dúvidas durante a avaliação da viabilidade das sementes.

O endosperma da semente de café é um tecido duro, que dificulta a retirada dos embriões. Dessa forma a pré-embebição das sementes em água é utilizada, para facilitar a extração dos embriões. De acordo com Dias e Silva (1986), é recomendável a embebição das sementes por 18 a 24 horas a 30 °C. No entanto, resultados de pesquisas têm demonstrado que este tempo é insuficiente para amolecer as sementes. Alguns autores defendem a utilização da embebição das sementes de café por maior tempo, facilitando a excisão dos embriões e a coloração dos mesmos (CLEMENTE et al., 2011; VIEIRA et al., 1998).

A avaliação da viabilidade ou do vigor das sementes é realizada com base no desenvolvimento de coloração, local e extensão do dano nos embriões, e deve ser feita com o auxílio de lupa. Segundo a literatura, quando é verificada a presença de manchas vermelho-escuros no eixo hipocótilo radícula, devem ser efetuados cortes para verificar a profundidade do dano. Quando a mancha atinge apenas o córtex, as sementes são consideradas viáveis; quando a mesma atinge o tecido condutor, as sementes são consideradas inviáveis. Atenção especial deve ser dada ao eixo hipocótilo-radícula, e à área de ligação dos cotilédones ao eixo embrionário. Os danos que se localizam próximo ao eixo embrionário ou o atinge diretamente, são mais prejudiciais que os localizados em regiões menos vulneráveis, como exemplo, os localizados na metade superior dos cotilédones (VIEIRA et al., 1998).

Embriões viáveis são assim classificados por apresentarem cotilédones, eixo hipocótilo-radícula e região de translocação coloridos pelo sal de tetrazólio ou são aqueles que apresentam pequenos danos na região da radícula causados durante a sua extração ou ainda aqueles com menos de 50% da área cotiledonar afetada. Já os embriões inviáveis são classificados desta forma, por apresentarem danos consideráveis na região de ligação entre os cotilédones e o eixo

hipocótilo-radícula ou aqueles que apresentaram mais de 50% de sua reserva comprometida, danos no eixo hipocótilo-radícula, mostrando-se totalmente descoloridos (VIEIRA et al., 1998).

2.2.3 Teste de Condutividade Elétrica

A degradação do sistema de membranas celulares é uma das alterações ocorridas durante o processo de formação e deterioração das sementes. A organização das membranas celulares sofre alterações em função do desenvolvimento das sementes até atingirem a maturidade fisiológica, da dessecação antes da colheita e da embebição de água que antecede a germinação das sementes. Assim, após a maturidade fisiológica, a semente atinge uma condição de baixo teor de água, o qual é variável em função das condições ambientais, principalmente da umidade relativa do ar. Por outro lado, com a secagem da semente, as membranas sofrem um processo de desorganização estrutural estando mais desorganizadas quanto menor for o teor de água (BEWLEY; BLACK, 1994), perdendo assim, temporariamente, a integridade organizacional (SIMON; RAJA HARUN, 1972).

Membranas mal estruturadas podem estar também relacionadas com a ação do armazenamento prolongado, ocasionando, como consequência a deterioração das sementes (ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS - AOSA, 1983) e, portanto, reduzindo o vigor das mesmas. Os testes mais indicados para verificar pequenas diferenças de vigor entre lotes são aqueles que avaliam a estrutura das membranas (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

O teste de condutividade elétrica é um método simples, rápido, barato e eficiente de determinação da qualidade fisiológica de sementes. Este teste foi introduzido nas Regras Internacionais para Análise de Sementes, em 2002, para avaliação do vigor em sementes de ervilha (INTERNATIONAL SEED

TESTING ASSOCIATION - ISTA, 2008). Objetiva-se, com o teste, avaliar indiretamente a intensidade dos danos causados às membranas celulares resultantes da deterioração das sementes. O método consiste na quantificação dos eletrólitos lixiviados pela semente na água de embebição, sendo que sementes com baixo vigor liberam grande quantidade de eletrólitos na solução, resultando em alto valor de condutividade elétrica (BEDFORD, 1974; WOODSTOCK, 1973) ou em elevadas concentrações de determinados íons (MARCOS FILHO et al., 1990; PRETE, 1992).

Alguns autores tem relacionado os resultados obtidos por meio do teste de condutividade com as análises de qualidade de bebida do café. Nesse sentido, a metodologia existente comumente utilizada, do teste de condutividade elétrica, para avaliar a viabilidade de sementes foi adaptada com o objetivo de ampliar os procedimentos usuais de determinação da qualidade de bebida do café. Os primeiros trabalhos, foram conduzidos por Amorim (1978), no qual evidenciou que a perda da permeabilidade e estrutura das membranas celulares conduz à deterioração dos grãos de café, tal fato foi verificado por meio da maior lixiviação de potássio observada pelos grãos de café de qualidade inferior.

Prete (1992) verificou uma relação inversa entre a qualidade da bebida e a condutividade elétrica e a lixiviação de potássio de exsudatos de grãos crus. Baseados nessa hipótese, Romero, Romero e Gomes (2003), utilizaram a metodologia proposta por Prete (1992) para determinação da condutividade elétrica e posterior separação de 18 cultivares de *Coffea arabica* L., chegando a conclusão de que é possível diferenciar esses genótipos quanto à qualidade do grão, por meio do teste de condutividade elétrica.

Prete e Abrahão (1995) investigaram metodologia que melhor se adequasse à avaliação de grão de café e correlacionasse com os resultados das análises sensoriais de qualidade de bebida. Dessa forma, os autores concluíram que os dados obtidos por meio do teste de condutividade elétrica e lixiviação de

potássio pela utilização de amostras de grãos de café, imersas em água por três horas e meia, correlacionam-se com os resultados da análise sensorial. Resultado contraditório aos mencionados, foi verificado por Favarin et al. (2004). Os autores avaliaram amostras de grãos de café, por meio de testes rápidos, como condutividade elétrica e lixiviação de potássio e da análise sensorial. No entanto, os autores observaram que os resultados obtidos por meio da utilização de testes rápidos não correlacionaram com a análise sensorial da bebida.

Malta, Pereira e Chagas (2005) avaliaram a influência dos fatores, tamanho e tipos de defeitos dos grãos de café na determinação da condutividade elétrica e lixiviação de potássio de exsudatos. Com relação ao tamanho dos grãos de café sem a retirada de defeitos, verificou-se que as menores peneiras apresentaram maiores valores de condutividade elétrica e lixiviação de potássio. Quando foram retirados os defeitos dessas amostras, os grãos normais apresentaram menores valores de condutividade elétrica, no entanto os grãos de café arduos e pretos apresentaram maiores valores.

Resultados recentes demonstram a importância da utilização do teste de condutividade elétrica e lixiviação de potássio como marcadores da qualidade de bebida do café (ANGÉLICO et al., 2011; OLIVEIRA, 2010; SAATH, 2010; TAVEIRA et al., 2012).

2.2.4 Teste de lixiviação de potássio

O teste de lixiviação de potássio vem se destacando como uma promissora ferramenta na avaliação do potencial fisiológico de sementes, com resultados satisfatórios para várias espécies (MARCOS FILHO, 2005).

Este teste possui o princípio semelhante ao do teste de condutividade elétrica, baseando-se na integridade das membranas celulares das sementes. No entanto, no teste de condutividade elétrica determina-se a quantidade total de

íons liberados durante a embebição em água e, no teste de lixiviação de potássio, somente é quantificada a quantidade de potássio lixiviado na solução, visto que este é o principal íon inorgânico lixiviado pelas sementes durante a embebição (LOOMIS; SMITH, 1980; POWELL, 1986).

Segundo Custódio e Marcos Filho (1997), não tem sido detectada a associação da quantidade de potássio lixiviado com os teores deste elemento nas sementes, este fato, confirma que a liberação de potássio durante o processo de embebição das sementes está diretamente associada à permeabilidade das membranas celulares.

O resultado do teste de lixiviação de potássio é semelhante ao do teste de condutividade elétrica. Sementes menos vigorosas apresentam menor estruturação das membranas quando embebidas em água, tendo como consequência maior liberação de exsudatos para o exterior das células quando comparado àquelas mais vigorosas (HAMPTON; TEKRONY, 1995; MARCOS FILHO, 2005).

Malta, Pereira e Chagas (2005) observaram que a lixiviação de potássio não possibilitou a diferenciação dos grãos verdes em relação aos brocados que apresentaram valores semelhantes de lixiviação, mas o teste de condutividade elétrica permitiu a diferenciação dos mesmos. Ainda segundo os autores, a presença de grãos defeituosos influencia de maneira significativa às determinações de condutividade elétrica e lixiviação de potássio de exsudatos de grãos, podendo fornecer interpretações inadequadas quanto à qualidade do café analisado.

Segundo resultados da pesquisa de Favarin et al. (2004), o teste de condutividade elétrica é mais sensível que o de lixiviação de potássio; para indicar alterações nos grãos de frutos de café expostos às infecções após colheita.

2.2.5 Eletroforese de Isoenzimas

Dentre os eventos bioquímicos e fisiológicos, que levam à perda de qualidade das sementes, e em consequência, à perda de viabilidade das mesmas, destacam-se as aberrações cromossômicas, danos de DNA (BEWLEY; BLACK, 1994) e mudanças em enzimas e proteínas de reserva (BAILLY, 2004).

A eletroforese vem sendo utilizada no estudo de proteínas e isoenzimas com relação, não apenas às mudanças na qualidade fisiológica de sementes, mas também nas regulações gênica, bioquímica e ontogênica, entre outros.

Em fisiologia de sementes, as espécies reativas de oxigênio (ERO's) são geralmente consideradas como moléculas tóxicas. Elas são responsáveis pelos danos oxidativos em biomoléculas, como o ácido desoxirribonucléico (DNA), carboidratos, lipídeos e proteínas. A acumulação de ERO's ocasiona lesões à célula e distúrbios no desenvolvimento de sementes e no processo de germinação (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

As ERO's podem ser tanto radicais, que são moléculas contendo um ou mais elétrons não pareados, quanto não radicais. As mais relevantes são: o ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxil (OH), o oxigênio *singlet* (O^2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). O ânion superóxido (O_2^-) é uma molécula com elétron desacoplado e pode reagir com outras moléculas para estabilizar a sua energia. O superóxido é formado, continuamente, em processos celulares, incluindo os sistemas microssomal e mitocondrial de transporte de elétrons. As células contêm um complexo de transferência de elétrons associado à membrana plasmática, a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase, que reduz o oxigênio com a NADPH produzindo o ânion superóxido. A formação do superóxido está relacionada à “explosão oxidativa” durante interações planta-patógeno (GRANT; LOAKE, 2000; LAMB; DIXON, 1997), no crescimento da planta e

vários processos de desenvolvimento (SCHOPFER; PLACHY; FRAHRY, 2001), e em respostas das plantas a várias formas de estresse abiótico (NEILL; DESIKAN; HANCOCK, 2002). Esse radical é considerado uma espécie pouco reativa porque não se difunde por distâncias consideráveis a partir do seu sítio de produção, porém pode combinar com outras espécies formando uma espécie mais reativa (FANG; YANG; WU, 2002; THOMAS, 2003).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é gerado pelas mesmas fontes que produzem o ânion superóxido, pois tanto a destruição enzimática como a não enzimática deste produzem o peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio é considerado pouco reativo, pois não ataca diretamente os vários componentes celulares, mas pode difundir-se por meio de membranas e assim, atingir moléculas alvo a uma distância a partir do seu local de produção (THOMAS, 2003).

A reação do peróxido de hidrogênio com íons de ferro é chamada de reação de Fenton (1894) que leva à produção do radical hidroxil (OH). O radical hidroxil também pode ser formado a partir do ânion superóxido e do peróxido de hidrogênio na presença de um cátion de transição como o ferro (Fe^{++}) ou cobre (Cu^+) na reação de Haber-Weiss (1934) (BAILLY, 2004). O radical hidroxil é considerado a espécie mais reativa, pois é capaz de reagir com todas as biomoléculas produzindo derivados que não podem ser regenerados pelo metabolismo celular (DIPLOCK et al., 1998; THOMAS, 2003).

O oxigênio *singlet* (O^2) é formado pela oxidação de outros intermediários reativos de oxigênio e constitui-se como um importante reativo no estresse oxidativo. Seus alvos preferenciais em reações químicas são as duplas ligações como em ácidos graxos poliinsaturados ou guanina em bases de DNA (DIPLOCK et al., 1998).

Para o controle dos níveis de ERO's, existem a nível celular, os mecanismos de desintoxicação, ou seja, são mecanismos de eliminação,

funcionando em casos de tensões oxidativas. Algumas enzimas desempenham essas funções em plantas. A enzima superóxido dismutase (SOD) constitui-se como uma das enzimas mais importantes que atuam como antioxidante celular que pode ser mitocondrial, citosólica ou cloroplasmática, catalisa a conversão do ânion superóxido a peróxido de hidrogênio (reação de dismutação) (BOWLER; MONTAGU; INZÉ, 1992). O peróxido de hidrogênio é eliminado pela ação da catalase (CAT), que está localizado em glioxissomos e peroxissomos (WILLEKENS et al., 1995), como sítio ativo a catalase possui um grupo heme (Fe^{++}) que catalisa a reação, cujo peróxido de hidrogênio é convertido em H_2O e O_2 .

A esterase (EST) é uma enzima envolvida em reações de hidrólise de ésteres, estando diretamente relacionada ao metabolismo dos lipídios (BRANDÃO JÚNIOR; VIEIRA; HILHOST, 2002; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005; VEIGA et al., 2010). A redução da atividade da esterase impede que os fosfolipídios das membranas permaneçam eficientemente protegidos (HENNING et al., 2009), desse modo, o sistema de membranas das organelas fica comprometido, tornando-se mais suscetíveis aos efeitos deletérios do O_2 e permitindo maior produção de lixiviados, à medida que as sementes perdem a viabilidade (BEWLEY; BLACK, 1994).

As peroxidases (PO) são enzimas, que utilizam H_2O_2 para catalisar a oxidação de compostos orgânicos e inorgânicos, entre eles os polifenóis.

Alto conteúdo dos polissacarídeos, celulose e hemicelulose, são encontrados em sementes de café, sendo que as principais hemiceluloses são as mananas e galacto-mananas insolúveis (BEWLEY; BLACK, 1994). Estes polissacarídeos são depositados como fonte de reserva nas sementes e são degradados no momento da germinação, pela ação de enzimas, incluindo a endo- β -mananase, β -manosidase, galactosidase e celulase, resultando no enfraquecimento das paredes celulares do endosperma.

A presença da enzima endo- β -mananase é primordial no processo de germinação das sementes de café, cuja germinação é limitada pela presença do endosperma, existindo a necessidade de amolecimento desse tecido para que ocorra a protrusão radicular. A endo- β -mananase é uma das enzimas que desempenha o papel de amolecer o endosperma. Ela está presente em diferentes isoformas no endosperma, sendo duas dessas formas inibidas pelo ácido abscísico na fase de enfraquecimento do endosperma na região próxima à radícula (SILVA et al., 2004).

Enzimas envolvidas no processo de respiração como a álcool desidrogenase (ADH) e a malato desidrogenase (MDH), podem caracterizar e monitorar a qualidade fisiológica de sementes (VEIGA et al., 2010). A enzima MDH catalisa uma reação reversível do ciclo de krebs, atuando na conversão do malato em oxaloacetato. A enzima ADH catalisa a reação de formação do etanol, quando na glicólise, a célula se encontra em condição de anaerobiose, o piruvato transforma-se em acetaldeído e em seguida pela ação da ADH forma-se o etanol (TAIZ; ZAIGER, 2004).

2.3 Análises químicas de grãos de café

2.3.1 Acidez titulável

A qualidade do café está relacionada com a composição dos grãos. Neste sentido, alterações na composição durante a pós-colheita, que indicam deterioração dos grãos, refletem negativamente na acidez do café (PIMENTA et al., 2009).

A acidez perceptível no café é um atributo substancialmente importante para a análise sensorial (SIQUEIRA; ABREU, 2006). A acidez dos grãos de café altera-se em função 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. Alguns autores têm apontado uma correlação inversa entre a nota global da análise sensorial e a acidez titulável de grãos de café, indicando que grãos que possuem alto teor de acidez apresentam qualidade de bebida inferior (SIQUEIRA; ABREU, 2006). Carvalho et al. (1994), em seu trabalho também comprovaram que a acidez de café beneficiado grão cru tem relação inversa com a qualidade do café, pois, detectaram maior acidez em cafés de pior qualidade.

A acidez é um atributo típico da bebida de café e até certo ponto é desejável. O sabor ácido característico do produto é atribuído à presença de compostos, entre eles os ácidos orgânicos e inorgânicos, tais como os ácidos clorogênicos, ácidos cítrico, acético, quínico e fosfórico (SALVA; LIMA, 2007). A percepção da acidez é o resultado dos diversos efeitos de todos os ácidos em conjunto e, sendo esta um bom indicativo da qualidade do produto. Importante ressaltar que no café, podem ocorrer diferentes tipos de fermentações, alterando assim a acidez, o sabor e o aroma desses grãos.

2.3.2 Açúcares totais, açúcares redutores e não redutores

Os açúcares redutores referem-se à glicose, frutose e manose, estes apresentam agrupamentos aldeídicos e a sacarose é um dissacarídeo não redutor. No grão de café estão presentes diversos açúcares de baixo peso molecular, os quais contribuem com o aspecto de doçura da bebida, sendo um atributo de extrema importância nos cafés especiais. Estes compostos também participam de importantes reações (CORADI et al., 2007; PEREIRA; VILLELA; ANDRADE, 2002). Maiores concentrações de açúcares no grão cru permitem um aumento na participação destes componentes nas reações do processo de torração (MENDONÇA et al., 2007). Entre esses, a sacarose, destaca-se em maior

quantidade e seu conteúdo pode variar entre espécies, origem e tipo de processamento. Segundo Salva e Lima (2007), diferentes concentrações de carboidratos podem explicar diferenças encontradas entre a qualidade de bebidas de café obtidas por diferentes processamentos.

A concentração ideal e o tipo de açúcar presente no grão de café cru, como responsáveis por maior influência na qualidade da bebida são, ainda, aspectos questionados. De modo geral, o teor de açúcares solúveis totais livres do grão beneficiado, encontra-se numa faixa de 5 a 10% (BORÉM et al., 2008; PIMENTA; VILELA, 2002). Para cafés considerados de bebida mole, apenas mole e estritamente mole estes estão entre 8,6 e 10% (BARRIOS, 2001). Os açúcares redutores (glicose, frutose e manose) estão presentes em menores quantidades (BORÉM et al., 2006; SILVA et al., 2004) pois, predominam os não redutores, como a sacarose.

As variações nos teores de açúcares podem ocorrer em função de vários fatores relacionados à produção e a pós-colheita dos frutos (SANTOS; CHALFOUN; PIMENTA, 2009). Segundo a ICO (1991), a doçura é uma característica de sabor desejável no café especial, e, os açúcares totais, contribuem de forma expressiva para a composição do aroma e sabor do café torrado, uma vez que, o sabor caramelo, identificado pelo consumidor na bebida do café é associado a esses açúcares.

2.3.3 Sólidos solúveis

O valor de sólidos solúveis indica a concentração de sólidos dissolvidos na amostra e devem ser usados como um referencial básico de composição físico-química dos cafés, pois, segundo Barbosa, Silva e Regazzi (2002), os sólidos solúveis abrangem as frações de açúcares e devem ser associados com os demais compostos voláteis e não voláteis da bebida. Para o café torrado, as

reduções de sólidos solúveis são consequência da perda de ácidos orgânicos e da volatilização de alguns compostos no processo de torrefação (FERNANDES et al., 2003).

De acordo com a literatura uma maior quantidade de sólidos solúveis é desejada, tanto pelo ponto de vista do rendimento industrial, quanto pela sua contribuição para assegurar o corpo da bebida. Segundo Barbosa, Silva e Regazzi (2002), a maior ou menor concentração de sólidos solúveis, bem como suas respectivas frações, pode estar associada ao corpo, doçura, e outras características sensoriais da bebida.

2.3.4 Extrato etéreo

O teor de extrato etéreo pode ser utilizado como um índice de qualidade da bebida do café. Lopez (1983) utilizou o parâmetro de extrato etéreo como verificador da ocorrência de adulteração no café torrado. Nesta pesquisa, houve um aumento do extrato etéreo quando havia misturas na bebida de café com grãos de milho e cevada.

O Ministério da Saúde estipula o teor mínimo de 8% de extrato etéreo para o café torrado e moído (BRASIL, 1999).

2.4 Análise Sensorial

A partir da década de 1990, a qualidade do grão passou a ser um diferencial valorizado dentro da cadeia produtiva do café. A qualidade do café apresenta-se como um fator de substancial importância dentro da cadeia de produção desta commodity. Para assegurar a qualidade do café é imprescindível a escolha de métodos de pós-colheita que preservem as características essenciais, as quais proporcionaram uma bebida de qualidade superior.

No Brasil, a classificação da bebida do café é definida sensorialmente, de acordo com o aroma e o sabor pela Classificação Oficial Brasileira (COB) (BRASIL, 2003a), por meio da prova de xícara, sendo realizada por provadores treinados que distinguem diferentes padrões sensoriais de bebida. Entretanto, a Specialty Coffee Association of America - SCAA (2009) propõe a metodologia que avalia os atributos de fragrância do pó, aroma, defeitos, acidez, amargor, sabor, sabor residual, adstringência e corpo da bebida, com avaliação final da qualidade global e qualidade do café conforme terminologia apresentada por Lingle (1986).

Pela metodologia da COB, o café pode ser classificado em sete escalas, tais como bebida “mole”, cuja característica consiste em sabor agradável, suave e adocicado; “estritamente mole”, bebida que apresenta todos os requisitos de aroma e sabor da bebida mole, mas de forma mais acentuada; “apenas mole”, bebida de sabor suave, mas sua qualidade é inferior à das anteriores, com leve adstringência ou aspereza no paladar; bebida “dura”, que consiste na bebida que apresenta gosto acre, adstringente e áspero, menos aromática que a bebida mole e mais consistente e forte que suave; “riado”, bebida que possui leve sabor de iodofórmio ou ácido fênico; “rio”, bebida que possui sabor acre e, tem cheiro e gosto acentuados de iodofórmio; e “riozona”, refere-se a denominações regionais para qualificar bebidas com características de sabor e odor desagradáveis ou intoleráveis, bem mais acentuadas que as da bebida rio (BRASIL, 2003a).

A metodologia SCAA, preconiza a classificação dos cafés de acordo com pontuações, sendo o café classificado de acordo com o Quadro 1.

Quadro 1 Escala de qualidade pela Metodologia SCAA, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Pontuação	Descrição	Classificação
90 – 100	Exemplar	Especial raro
85 – 89.99	Excelente	Especial origem
80 – 84.99	Muito bom	Especial
< 80	Abaixo do Grau Especial	Não especial

Fonte: SCAA (2009)

É importante ressaltar que para a análise sensorial da bebida, na avaliação física do café torrado da metodologia SCAA (2009) em 100 gramas de amostra de café torrado, não é permitida a presença de grãos imaturos. Para os atributos, doçura, uniformidade e a ausência de defeitos (xícara limpa) o degustador faz um julgamento de cada xícara, individualmente, concedendo 2 pontos por xícara por atributo (10 pontos é o resultado máximo para o conjunto de 5 xícaras).

O método proposto pela Specialty Coffee Association of America (SCAA) tem se destacado para a avaliação da qualidade da bebida de cafés especiais e tem sido muito utilizado pelos classificadores.

Na avaliação de cafés especiais, pelo método da SCAA, além da nota global da bebida, são importantes as pontuações obtidas em cada atributo que compõem a qualidade global do café, tendo em vista a identificação de características sensoriais distintas entre diferentes amostras e, ao mesmo tempo, descrever as notas ou nuances específicas de cada aspecto.

O atributo acidez depende do ácido predominante na bebida, podendo ser agradável ou não. O aspecto da acidez agradável contribui para a vivacidade do café, aumenta a percepção da doçura e confere característica de fruta-fresca. Em situações cuja bebida demonstra níveis muito reduzidos de acidez, a mesma não terá atributos suficientes para a obtenção de notas elevadas. O aspecto relativo ao corpo consiste na percepção tátil do líquido na boca, especialmente

quando percebida entre a língua e o céu da boca. Amostras de café que apresentam maior nota no aspecto corpo podem, conseqüentemente, apresentarem notas superiores em termos de qualidade de bebida, devido à maior presença de sólidos dissolvidos na bebida. A finalização é definida por meio da persistência do sabor na boca (SCAA, 2009).

Os atributos sabor, finalização, acidez e corpo da amostra quando somados, complementam-se e resultam no aspecto denominado equilíbrio. Desta forma, esse atributo retrata a harmonia entre os elementos do conjunto. Com relação à impressão global ou também nomeada como final reflete total coerência em relação à avaliação realizada pelo degustador em cada atributo. Cafés de alta pontuação são aqueles que demonstram perfeitamente suas características, refletindo um sabor original e qualidade particular (SCAA, 2009).

Os atributos aromáticos incluem a fragrância e aroma, que consiste na observação do cheiro do café quando este ainda está seco e diluído em água quente, respectivamente. A principal característica do café é o sabor. Este atributo reflete a combinação de todas as percepções captadas na gustação. O sabor retrata a intensidade, qualidade e complexidade da combinação do gosto e aroma (SCAA, 2009).

Existe uma relação entre os dois métodos de classificação. Na Classificação Oficial Brasileira (BRASIL, 2003a) a bebida é avaliada pelo método qualitativo e, na metodologia *Specialty Coffee Association of America* (SCAA, 2009), a qualidade da bebida é avaliada quantitativa e qualitativamente. Na avaliação quantitativa os diversos atributos podem ser relacionados, sendo o aroma e o sabor típico de café os mais importantes para a caracterização das amostras de café.

Independentemente da metodologia adotada, a avaliação sensorial é uma análise complexa que exige bastante treino e conhecimento para diferenciar

sabores. Nas classificações de cafés existe uma ampla gama de informações sobre as características sensoriais do café, pois para a caracterização das amostras são discriminados atributos como a cor, aroma de fumaça, aroma de queimado, aroma típico de café, aroma doce, aroma frutado, gosto ácido, gosto amargo, sabor de queimado, sabor típico de café e adstringência.

2.5 Fundamentos da Análise de Imagem

Segundo Gonzalez e Woods (2010), uma imagem pode ser definida como uma função bidimensional, $f(x, y)$, em que x e y são coordenadas espaciais, denominadas de plano, e a amplitude de f em qualquer par de coordenadas (x, y) é chamada de intensidade ou nível de cinza da imagem nesse ponto. Para que uma imagem possa ser processada computacionalmente, $f(x, y)$ deve ser discreta, e a representação mais comum é a utilização de matrizes bidimensionais, na qual cada posição (x, y) é um valor de um intervalo contínuo.

Outros dois fatores preponderantes a respeito das imagens digitais são a resolução espacial e a resolução de cor, o primeiro aspecto determina o nível de detalhes de uma imagem, ou seja, o tamanho da matriz utilizada para representar uma imagem, e o segundo, corresponde ao número de cores possíveis que cada célula da matriz, também denominada por pixels, pode assumir. Este valor depende do número de bits utilizados para tal representação, sendo que varia na ordem de 2^b , onde b é o número de bits (GOMES; VELHO, 2002; GONZALEZ; WOODS, 2010).

No caso de uma imagem colorida padrão RGB, que possui informações em intervalos ou bandas distintas de frequência, é necessária uma função $f(x, y)$ para cada banda. As imagens coloridas padrão RGB, são formadas pelas informações das cores primárias aditivas, como o vermelho (R - *Red*), verde (G - *Green*) e azul (B - *Blue*). As cores primárias podem ser adicionadas para

produzir as cores secundárias, magenta (vermelho mais azul), ciano (verde mais azul) e amarelo (vermelho mais verde). As características geralmente utilizadas para distinguir uma cor da outra são o brilho, o matiz e a saturação. O matiz é um atributo associado ao comprimento de onda dominante em uma mistura de ondas de luz. Dessa forma, o matiz representa a cor dominante percebida por um observador. A saturação refere-se à pureza relativa ou à quantidade de luz branca misturada a um matiz. O matiz e a saturação juntos são chamados de cromaticidade (GONZALEZ; WOODS, 2010).

O processamento digital de imagens engloba quatro etapas distintas, tais como a aquisição da imagem, filtragem ou pré-processamento, segmentação e análise. A aquisição de uma imagem consiste no processo de conversão de uma cena real tridimensional em uma imagem analógica. A aquisição de imagens pode ser realizada com o auxílio de uma câmera fotográfica, scanner, aparelho de raio X, dentre outros (GONZALEZ; WOODS, 2010).

Após a fase de aquisição, existe a necessidade de realizar a separação dos objetos de interesse presentes na imagem. Este mecanismo de preparação da imagem compreende a etapa da segmentação, cujos procedimentos realizados consistem na divisão da imagem em suas partes ou objetos constituintes. Um procedimento de segmentação de imagens adequado aumenta as chances de sucesso na solução de problemas que requerem que os objetos sejam individualmente identificados.

A maioria dos algoritmos de segmentação baseia-se em propriedades básicas de valores de intensidade, como a descontinuidade e a similaridade. A primeira categoria de segmentação consiste na divisão de uma imagem com base nas mudanças bruscas de intensidade, como as bordas dos elementos presentes na imagem. As abordagens principais na segunda categoria estão baseadas na divisão de uma imagem em regiões que sejam semelhantes de acordo com um conjunto de critérios predefinidos, como por exemplo, a aplicação da técnica de

limiarização. Em virtude de suas propriedades intuitivas, a simplicidade de programação e a velocidade computacional, a limiarização de imagens tem uma posição central nas aplicações de segmentação de imagem (GONZALEZ; WOODS, 2010).

O processo de limiarização, do inglês, denominado de *thresholding* é uma das mais importantes abordagens para a segmentação de imagens. É uma técnica de análise por região, útil em cenas com objeto que se contrasta com o fundo, e tem por objetivo a classificação dos pixels que constituem o objeto. O método consiste na varredura da imagem de origem, rotulando cada pixel como sendo pertencente ao fundo ou ao objeto. Para determinar tal transformação, um valor limiar deve ser previamente definido para que todos os valores de cores maiores que o valor fixado corresponda ao fundo e os menores ao objeto (GONZALEZ; WOODS, 2010). A Equação 1 representa tal operação.

$$g(x, y) = \begin{cases} 0 & \text{se } f(x, y) \leq L \\ 1 & \text{se } f(x, y) > L \end{cases} \quad (1)$$

onde:

f é a imagem original;

g a imagem resultante;

L o limiar definido;

0 e 1 são os valores correspondentes ao objeto e ao fundo respectivamente.

De acordo com Jähne (2005), pela análise do histograma de frequências da imagem, pode-se determinar um valor limiar para promover a separação do objeto em relação ao fundo da imagem, isto é possível quando o histograma

apresenta um comportamento bimodal, ou seja, um “vale” entre dois “picos”, onde os picos representam o objeto e seu fundo e os valores correspondentes às baixas frequências são tons de transição entre estes dois, sendo, portanto, candidatos a serem escolhidos como limiar de divisão entre eles. No entanto, existe uma limitação na aplicação da técnica de limiarização, referente à definição do valor limiar quando o histograma não apresenta característica bimodal, pois o valor limiar deve ser condizente com as características de cada imagem, ou seja, para uma imagem escura o valor de limiar definido deve ser diferente do valor utilizado para uma imagem clara, visto que, se o valor da primeira for aplicado na segunda, objeto e fundo serão fundidos, dificultando a compreensão da imagem (LUCAS; PATOULAS; DOWNTON, 2003). Este problema normalmente ocorre quando existem variações durante a etapa de aquisição das imagens.

O método definido como o melhor método de limiarização global dentre os testados, segundo Sahoo, Soltani e Wong (1988), refere-se à limiarização de Otsu (1979). O método de Otsu consiste em uma alternativa atraente para conduzir a limiarização das imagens. Segundo Gonzalez e Woods (2010) o método de Otsu configura-se como uma excelente técnica no sentido de que maximiza a variância entre classes. A ideia básica é que as classes com limiares bem estabelecidos devem ser distintas em relação aos valores de intensidade de seus pixels e, inversamente, um limiar que oferece a melhor separação entre as classes em termos de valores de intensidade seria o melhor limiar, ou seja, o limiar ótimo. Além do componente ótimo, o método de Otsu tem a importante peculiaridade de se basear inteiramente em cálculos realizados no histograma de cada imagem, se adequando as condições cuja aquisição da imagem não foi realizada de forma padronizada, minimizando estes problemas.

Outra técnica que pode ser aplicada para ajustes no pré ou pós-processamento de imagens compreende o processamento morfológico de

imagens. A palavra morfologia geralmente denota um ramo da biologia que abrange a forma e a estrutura dos animais e das plantas. Esta palavra é utilizada no contexto da morfologia matemática como uma ferramenta para extrair componentes das imagens que são úteis na representação e na descrição da forma de uma região. A morfologia matemática é uma linha de estudos em processamento de imagens que explora formas na imagem (DOUGHERTY; LOTUFO, 2003).

A linguagem da morfologia matemática é a teoria dos conjuntos. Estes, por sua vez, em morfologia matemática representam os objetos encontrados em uma imagem. O processamento morfológico possui aplicações em diversas áreas do processamento da imagem tais como na etapa da filtragem, segmentação e reconhecimento de padrões, tanto binário como em tons de cinza. Uma das vantagens do processamento morfológico refere-se ao fato de que este tem sido considerado como uma ferramenta adequada para o processamento de imagens discretas, porque o operador pode programar em computadores digitais, com completa fidelidade, as suas definições matemáticas. Embora o processamento morfológico seja baseado em fortes concepções matemáticas, existem poucas referências que descrevem seus operadores (LOTUFO et al., 2008).

Uma das técnicas utilizadas em morfologia matemática consiste na abertura e fechamento. A abertura geralmente suaviza o contorno de um objeto, rompe os istmos e elimina as saliências finas. O fechamento também tende a suavizar contornos, mas, ao contrário da abertura, geralmente funde as discontinuidades estreitas e alonga os golfos finos, elimina pequenos buracos e preenche as lacunas em um contorno (GONZALEZ; WOODS, 2010).

2.6 Processamento digital de imagens aplicado à avaliação de sementes

O processamento digital de imagens tem como função primordial fornecer ferramentas para facilitar a identificação e a extração de informações contidas nas imagens, para posterior interpretação. Neste contexto, sistemas de computação são utilizados para a análise e manipulação de imagens, com a diferenciação dos elementos presentes com relação à forma, cor e textura.

Técnicas de análise automática de imagens têm sido muito utilizadas em várias áreas do conhecimento, como a medicina e a agronomia, com a finalidade de detecção de diferenças pequenas presentes nas imagens, estas em alguns casos, imperceptíveis ao olho humano. Na agricultura existe uma ampla aplicação da ferramenta de análise de imagens e equipamentos baseados na medição eletrônica têm sido utilizados para a obtenção e análise de dados, no qual eram utilizados métodos tradicionais para tal operação (GONZALEZ; WOODS, 2010).

A pesquisa no âmbito de sementes visa à constante busca por metodologias que possibilitem a informação sobre a viabilidade de lotes de sementes de forma rápida, neste sentido os estudos visando à utilização da análise de imagem na área de sementes encontram-se muito avançados e os resultados dos trabalhos evidenciam a análise de imagem como uma ferramenta promissora para estimar o vigor de sementes. O uso da análise de imagens confere rapidez e consistência às informações obtidas sobre o vigor de sementes, podendo constituir um avanço significativo rumo à padronização da metodologia.

Desenvolvido por Sako et al. (2001), o software Seedling Vigor Imaging System (SVIS[®]) foi destinado à determinação do vigor de sementes de alface, mediante a análise computadorizada de imagens de plântulas. O SVIS, basicamente, avalia o desenvolvimento de plântulas escaneadas, mediante a

obtenção de valores do comprimento da raiz primária, do hipocótilo e das plântulas, do índice de vigor e de uniformidade de desenvolvimento. O software calcula índices de crescimento e uniformidade, ambos variando de 0 a 1000. Esse sistema após algumas adaptações foi utilizado com sucesso para outras espécies, como soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009) milho (HOFFMASTER et al., 2005; MONDO; CICERO, 2005; OTONI; MCDONALD, 2005), melão (MARCOS FILHO et al., 2006), feijão (GOMES JUNIOR; CHAMMA, 2008) e milho doce (GOMES JUNIOR, 2009).

Em estudo mais recente, Silva et al. (2012) trabalhando com sementes de crotalária, utilizaram o sistema de análise de imagem de plântulas, SVIS, para avaliar o vigor de sementes e correlacionar com os testes fisiológicos. Os autores concluíram que a análise computadorizada de imagens de plântulas é uma alternativa consistente e promissora para avaliação do potencial fisiológico das sementes, com eficiência equivalente à verificada em testes tradicionais para determinação do vigor.

Rocha (2011) utilizou a técnica de morfologia matemática e o threshold de Otsu com a finalidade de classificar o potencial de viabilidade de lotes de sementes de mamona pelo teste de raios-X. A autora utilizou a análise automática de imagens de raios-X, para determinar e relacionar a área cheia e vazia das sementes de mamona com a área total e esta relação foi comparada aos índices de área provenientes da inspeção visual das imagens de raios-X, na qual foram atribuídas notas, cujo valor “0” representava sementes viáveis e o valor “1”, as sementes inviáveis. O índice de classificações corretas para estimar o potencial de germinação das sementes de mamona, segundo a análise automática de imagens, foi de 62%. Ainda segundo a autora, este resultado foi relevante, para área de tecnologia de sementes, uma vez que foram associadas características físicas e fisiológicas das sementes em um único método. No entanto, visando um método que melhor classificasse os lotes de sementes, seria

necessário trabalhar com um número maior de variáveis para discriminar de forma adequada os grupos de sementes.

Marcon et al. (2011) utilizaram a técnica de interesse neste trabalho, do thresholding de Otsu como ferramenta no processamento de imagens da área foliar de cafeeiros, visando à construção de um modelo indireto para estimar a área foliar. Foram utilizados dois modelos, sendo que no primeiro utilizou a altura e a largura dos dosséis e o outro modelo se baseou na área projetada do dossel; as imagens foram processadas obtendo-se as medidas e ambos os modelos foram correlacionados com o método direto de análise, o índice de correlação obtido foi de 0,82 e 0,91, respectivamente.

A literatura tem documentado várias pesquisas envolvendo a análise de imagens em tecnologia de sementes visando o estudo dos aspectos fisiológicos. No entanto, uma área de grande interesse, mas que possui um número escasso de pesquisas compreende a relação existente entre a análise de imagem e a análise sensorial.

Alguns autores realizaram pesquisas, utilizando o princípio do teste de tetrazólio, o qual consiste na coloração das sementes viáveis, ou seja, o tecido viável das sementes colore em tons de vermelho, demonstrando existência da atividade respiratória. Neste sentido, Schäfer, Schulte e Thier (2002) investigaram um parâmetro de análise mais consistente para avaliar a viabilidade de avelãs, utilizando o princípio do teste de tetrazólio aplicado às nozes. Após o corte ao meio, uma das partes das nozes foi submetida à coloração em solução de 2, 3, 5- trifenil cloreto de tetrazólio e, após coloração foram escaneadas. Foi utilizada a ferramenta de análise de imagem do software “Photoshop” para determinar o valor, denominado de índice de vitalidade, correspondente à relação da quantidade de pixels brancos presentes na imagem e a quantidade de pixels selecionados, ou seja, os pixels brancos correspondiam à coloração vermelha na imagem e os pixels pretos correspondiam às outras colorações. Os

autores concluíram que a análise de imagem, mostra-se como uma ferramenta eficiente para auxiliar a monitorar as condições de qualidade de nozes.

Adaptando o estudo realizado por Schäfer, Schulte e Thier (2002), Terra et al. (2010) trabalharam com a coloração do endosperma dos grãos de café em sal de tetrazólio para monitorar o envelhecimento e as diferenças de origem das amostras. Os grãos de café foram seccionados em corte transversal e uma das partes submetidas à coloração em tetrazólio. Após a coloração, as partes dos grãos coloridos foram escaneadas e as imagens processadas com o software Photoshop 7.0. No processamento o brilho e o contraste da imagem foram normalizados, ajustando os níveis dos canais RGB, para que o fundo fosse uniformemente preto. Os autores utilizaram intervalos fixos da banda verde, azul e vermelha e apenas utilizaram a banda vermelha para produzir uma medida quantitativa da porcentagem de tecido do endosperma colorido em cada amostra e esta foi correlacionada com a análise sensorial de qualidade de bebida. Os autores concluíram que ao longo do armazenamento a coloração do endosperma dos grãos de café diminuiu e a análise sensorial acompanhou este decréscimo. A análise de imagem do endosperma também possibilitou a diferenciação das amostras de grãos de café de diferentes origens geográficas.

Apesar de poucos trabalhos abordarem esta correlação entre viabilidade do tecido e a análise sensorial, os resultados dos estudos mostram a análise de imagem como uma ferramenta promissora.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, H. V. **Aspectos bioquímicos e histoquímicos do grão de café verde relacionados com a deterioração da qualidade**. 1978. 85 f. Tese (Livre Docência em Bioquímica) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 1978.
- ANGÉLICO, C. L. et al. Diferentes estádios de maturação e tempos de ensacamento sobre a qualidade do café. **Coffee Science**, Lavras, v. 6, n. 1, p. 8-19, jan./mar. 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca, 1983. 88 p. (Contribution 32 to the Handbook on Seed Testing).
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 93-107, June 2004.
- BARBOSA, R. M.; SILVA, P. H. A.; REGAZZI, A. J. Composição química de seis categorias da bebida café previamente classificada pelo teste da xícara. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, n. 4, p. 45-51, 2002. Especial café.
- BARRIOS, B. B. E. **Caracterização física, química, microbiológica e sensorial de cafés (*Coffea arabica* L.) da região Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais**. 2001. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- BEDFORD, L. V. Conductivity tests in commercial and hand harvested seed of pea cultivars and their relation to field establishment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 2, n. 3, p. 323-335, 1974.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.
- BORÉM, F. M. et al. Qualidade do café natural e despulpado após a secagem em terreiro e com altas temperaturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1609-1615, set./out. 2008.

BORÉM, F. M. et al. Qualidade do café submetido a diferentes temperaturas, fluxos de ar e períodos de pré-secagem. **Coffee Science**, Lavras, v. 1, n. 1, p. 55-63, abr./jun. 2006.

BOWLER, C.; MONTAGU, M. van; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 43, p. 83-116, 1992.

BRANDÃO JÚNIOR, D. S.; VIEIRA, M. G. G. C.; HILHOST, H. W. Aquisição da tolerância à dessecação nos diferentes estádios de desenvolvimento de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 4, p. 673-681, jul./ago. 2002.

BRASIL. **Portaria nº 377**, de 26 de abril de 1999. Estabelece normas para fixar a identidade e as características mínimas de qualidade do café torrado em grão e café torrado e moído. Brasília, 1999. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/index99.htm>>. Acesso em: 10 set. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 11 de junho de 2003. Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 13 jun. 2003a. Seção 1, p. 22-29. Disponível em: <<http://www.ministério.gov.com.br>>. Acesso em: 12 nov. 2012.

_____. Lei 10.711, de 5 de agosto de 2003. Dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 5 ago. 2003b. Disponível em: <<http://www.planalto.gov.br>>. Acesso em: 12 set. 2012.

_____. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.

CARVALHO, V. D. et al. Relação entre a composição físico-química e química do grão de café beneficiado e a qualidade de bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 449-454, mar. 1994.

CLEMENTE, A. C. S. et al. Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 38-44, jul. 2011.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Levantamento de café 2012**: setembro 2012. Brasília, 2012. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 2 dez. 2012.

CORADI, P. C. et al. Potassium leachate test for the evaluation of soybean seed physiological quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 25, n. 3, p. 549-564, 1997.

CUSTÓDIO, C. C.; MARCOS FILHO, J. Potassium leachate test for the evaluation of soybean seed physiological quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 25, n. 3, p. 549-564, 1997.

DELOUCHE, J. C. et al. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103 p.

DIAS, M. C. L. L.; SILVA, W. R. Determinação da viabilidade de sementes de café através do teste de tetrazólio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 11, p. 1139-1145, nov. 1986.

DIPLOCK, A. T. et al. Functional food science and defense against reactive oxidative species. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 80, p. 77S-112S, 1998. Supplement.

DOUGHERTY, E. R.; LOTUFO, R. A. **Hands-on morphological image processing**. Bellingham: SPIE, 2003. 272 p. (SPIE Tutorial Texts in Optical Engineering, TT59).

FANG, Y. Z.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants and nutrition. **Nutrition Reviews**, New York, v. 18, n. 10, p. 872-878, Oct. 2002.

FAVARIN, J. L. et al. Qualidade da bebida de café de frutos cereja submetido a diferentes manejos póscolheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 187-192, fev. 2004.

FERNANDES, S. M. et al. Constituintes químicos e teor de extrato aquoso de cafés arábica (*Coffea arabica* L.) e conilon (*Coffea canephora* Pierre) torrados. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1076-1081, set./out. 2003.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. da. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. 72 p. (Documentos, 116).

GOMES, J.; VELHO, L. **Computação gráfica: imagem**. 2. ed. Rio de Janeiro: IMPA, 2002. 424 p.

GOMES JÚNIOR, F. G. **Injúrias mecânicas em sementes de milho doce**. 2009. 129 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2009.

GOMES JÚNIOR, F. G.; CHAMMA, H. M. C. P. Eficiência de um sistema computadorizado de processamento de imagens para avaliação do vigor de sementes de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2008. p. 685-688.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital image processing**. 3rd ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2010. 976 p.

GRANT, J. J.; LOAKE, G. J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 124, n. 1, p. 21-30, Sept. 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 2nd ed. Oxford: Clarendon, 1989. 266 p.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. 3rd ed. Zürich: ISTA, 1995. 117 p.

HENNING, F. A. et al. Qualidade fisiológica, sanitária e análise de isoenzimas de sementes de aveia-preta tratadas com diferentes fungicidas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 63-69, 2009.

HOFFMASTER, A. L. et al. An automated system for vigour testing three-day-old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 31, n. 3, p. 701-713, 2003.

_____. The Ohio State University Seed Vigor Imaging System (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Technology**, Lansing, v. 27, n. 1, p. 7-26, 2005.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Monthly coffee market report**. Disponível em: <<http://www.ico.org/>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Sensory study if the effect of degree of roasted and brewing formula on the final cup characteristics.** London, 1991. 16 p. (Technical Unit Quality Series Report, 7).

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. Sampling. In: _____. **International rules for seed testing.** Bassersdorf, 2008. p. 2-1-2-47.

JÄHNE, B. **Digital image processing.** 6th ed. Berlin: Springer-Verlag, 2005. 608 p.

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

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes.** Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.

LAMB, C.; DIXON, R. A. The oxidative burst in plant disease resistance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,** Palo Alto, v. 48, p. 251-275, 1997.

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook: a systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor.** Washington: Coffee Development Group, 1986. 32 p.

LOEFFLER, N. L.; BURRIS, J. S. Distribution of moisture within maize seed as affected by genotype and drying. **Iowa Seed Science,** Ames, v. 4, p. 2, 1986.

LOOMIS, E. L.; SMITH, O. E. The effect of artificial ageing on the concentration of Ca, Mg, Mn, K, and Cl in imbibing cabbage seed. **Journal of American Society of Horticultural Science,** Mount Vernon, v. 105, n. 5, p. 647-650, 1980.

LOPEZ, F. C. Determinação quantitativa das principais substâncias utilizadas para fraudar o café torrado e moído. **Revista do Instituto Adolfo Lutz,** São Paulo, v. 43, n. 2, p. 3-8, 1983.

LOTUFO, R. A. et al. Morphological image processing. In: WU, Q.; MERCHANT, F. A.; CASTLEMAN, K. R. (Ed.). **Microscope image processing.** Burlington: Elsevier Academic, 2008. p. 113-157.

LUCAS, S. M.; PATOULAS, G.; DOWNTON, A. C. Fast lexicon-based word recognition in noisy index card images. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON DOCUMENT ANALYSIS AND RECOGNITION, 17., 2003, Edinburgh. **Proceedings...** Edinburgh: Edinburgh University, 2003. p. 462-466.

LUCIA, S. M.; MINIM, V. P. R.; CARNEIRO, J. D. S. Análise sensorial de alimentos. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 85-109.

MALTA, M. R.; PEREIRA, R. G. F. A.; CHAGAS, S. J. de R. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio do exsudato de grãos de café: alguns fatores que podem influenciar essas avaliações. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1015-1020, set./out. 2005.

MARCON, M. et al. Estimation of total leaf area in perennial plants using image analysis. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 1, p. 96-101, 2011.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MARCOS FILHO, J. et al. Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 34, n. 2, p. 485-497, 2006.

_____. Estudo comparativo de métodos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 12, p. 1805-1815, dez. 1990.

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P.; LIMA, L. B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009.

MENDONÇA, L. M. V. L. et al. Composição química de grãos crus de cultivares de *Coffea arabica* L. suscetíveis e resistentes à *Hemileia vastatrix* Berg et Br. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 413-419, mar./abr. 2007.

MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M. Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 9-18, June 2005.

NEILL, S.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. Hydrogen peroxide signalling. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, n. 5, p. 388-395, Oct. 2002.

OLIVEIRA, P. D. **Aspectos ultraestruturais e fisiológicos associados à qualidade da bebida de café arábica submetido a diferentes métodos de processamento e secagem**. 2010. 109 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

OTONI, R. R.; MCDONALD, M. B. Moisture and temperature effects on maize and soybean seedlings using the seed vigor imaging system. **Seed Technology**, Lasing, v. 27, n. 2, p. 243-247, 2005.

OTSU, N. A threshold selection method from grey-level histograms. **IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics**, New York, v. 9, p. 62-66, Jan. 1979.

PEREIRA, C. E. et al. Determinação de inibidores da germinação no espermóderma de sementes de café. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Resumos...** Vitória: UFES, 2001. p. 15.

PEREIRA, R. G. F. A.; VILLELA, T. C.; ANDRADE, E. T. Composição química de grãos de cafés (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tipos de pré-processamento. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2002, Vitória. **Resumos...** Brasília: EMBRAPA, 2002. p. 826-831.

PIMENTA, C. J. et al. Avaliação físico-química e de qualidade do café (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tempos de espera para secagem. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 10, p. 36-41, 2009.

PIMENTA, C. J.; VILELLA, E. R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras/MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 1481-1491, dez. 2002. Número especial.

POWELL, A. A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal of Seed Technology**, Fort Collins, v. 10, n. 2, p. 81-100, 1986.

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 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1992.

PRETE, C. E. C.; ABRAHÃO, J. T. M. Condutividade elétrica dos exsudatos de grãos de café (*Coffea arabica* L.) I: desenvolvimento da metodologia. **Semina**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 17-21, 1995.

ROCHA, R. C. **Técnicas estatísticas e de análise de imagens radiográficas na avaliação da qualidade de sementes de mamona**. 2011. 104 p. Tese (Doutorado em Estatística e Experimentação Agropecuária) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

ROMERO, J. C. P.; ROMERO, J. P.; GOMES, F. P. Condutividade elétrica (CE) do exsudato de grãos de *Coffea arabica* em 18 cultivares analisados no período de 1993 a 2002. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 78, n. 3, p. 293-302, dez. 2003.

ROSA, S. D. V. F. Determinação de inibidores da germinação no espermoderma de sementes de café. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Resumos...** Vitória: UFES, 2001. p. 15.

SAATH, R. **Qualidade do café natural e despulpado em diferentes condições de secagem e tempos de armazenamento**. 2010. 246 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2010.

SAHOO, P. K.; SOLTANI, S.; WONG, A. K. C. A survey of thresholding techniques. **Computer Vision, Graphics and Image Processing**, San Diego, v. 41, n. 2, p. 233-260, Feb. 1988.

SAKO, Y. et al. A system of automated seed vigour assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.

SALVA, T. J. G.; LIMA, V. B. de. A composição química do café e as características da bebida e do grão. **O Agrônomo**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 57-59, 2007.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 104-114, 2005.

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**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 213-218, jan./fev. 2009.

SCHÄFER, H.; SCHULTE, E.; THEIR, H. P. A novel and simple approach for assessing the freshness of hazelnuts. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 215, n. 3, p. 249-254, Sept. 2002.

SCHOPFER, P.; PLACHY, C.; FRAHRY, G. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 125, n. 4, p. 1591-1602, Apr. 2001.

SERA, G. H.; MIGLIORANZA, É. Avaliação visual do potencial germinativo de sementes de café pelo formato e coloração do embrião. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 307-310, jul./dez. 2003.

SILVA, C. B. et al. Automated system of seedling image analysis (SVIS) and electrical conductivity to assess sun hemp seed vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 55-60, maio 2012.

SILVA, E. A. A. da et al. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* L., cv. Rubi) seed germination. **Planta**, Berlin, v. 220, n. 2, p. 251-261, Dec. 2004.

SIMON, E. W.; RAJA-HARUN, R. M. Leakage during seed imbibition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 23, n. 77, p. 1076-1085, 1972.

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**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 113-116, jan./fev. 2006.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. **Metodologia SCAA de avaliação de cafés especiais**: guia rápido, green coffee. Long Beach, 2009. 7 p. Disponível em: <<http://www.scaa.org>>. Acesso em: 23 ago. 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAVEIRA, J. H. S. et al. Perfis proteicos e desempenho fisiológico de sementes de café submetidas a diferentes métodos de processamento e secagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 10, p. 1413-1554, out. 2012.

TERRA, L. del et al. A novel approach to triphenyltetrazolium staining as a quality control tool for green coffee: correlation with aging, geographical origin and sensory analysis. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 23., 2010, Bali. **Proceedings...** Bali: ICCS, 2010. p. 1-41.

THOMAS, J. A. Estresse oxidativo e defesa contra antioxidantes. In: SHILS, M. E. et al. (Ed.). **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. v. 1, p. 801-811.

VÁLIO, I. F. M. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 27, n. 100, p. 983-991, 1976.

VEIGA, A. D. et al. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 953-960, jul./ago. 2010.

VIEIRA, M. G. G. C. et al. **Testes rápidos para determinação da viabilidade e da incidência de danos mecânicos em sementes de cafeeiro**. Lavras: UFLA, 1998. 34 p. (Boletim Agropecuário, 26).

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 4.1-4.26.

WILLEKENS, H. et al. Catalases in plants. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 1, n. 3, p. 207-228, Jan. 1995.

WOODSTOCK, L. W. Physiological and biochemical tests for seed vigor. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 1, p. 127-157, 1973.

ZONTA, J. B. et al. Comparação de metodologias do teste de tetrazólio para sementes de cafeeiro. **Idesia**, Arica, v. 27, n. 2, p. 17-23, May/Aug. 2009.

CAPÍTULO 2

MÉTODOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS PARA AVALIAR A QUALIDADE DO CAFÉ

RESUMO

A valorização do produto café, frente ao mercado consumidor, é determinada pela qualidade deste produto. Neste contexto, a avaliação da qualidade sensorial da bebida de café assume grande importância e, estudos recentes têm demonstrado alta correlação entre os aspectos de qualidade de bebida e a qualidade fisiológica e bioquímica de grãos de café. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar o potencial de análises fisiológicas e bioquímicas para a determinação da qualidade do café. As análises fisiológicas e bioquímicas utilizadas para a avaliação da qualidade de sementes são relativamente simples, baratas e de fácil padronização, podendo, portanto, apresentarem-se como alternativas viáveis para complementar a avaliação e classificação de cafés. Foram utilizados 10 lotes de grãos de café, os quais foram armazenados em câmara fria a 10 °C, procedendo as avaliações antes do armazenamento e aos 3 e 6 meses de armazenamento, constituindo um esquema de fatorial 10 x 3. Os grãos foram submetidos à análise sensorial e avaliação da qualidade fisiológica, por meio do teste de germinação, de tetrazólio, de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio. Foi também realizada a eletroforese das isoenzimas superóxido dismutase, esterase, catalase, álcool desidrogenase e malato desidrogenase e foi determinada a atividade da enzima endo- β -mananase. Aos seis meses de armazenamento foi realizada a análise química do grão determinando-se os componentes de acidez titulável, extrato etéreo, sólidos solúveis, açúcares totais, redutores e não redutores presentes nos grãos de café. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de correlação. Conclui-se que os testes fisiológicos apresentam elevada correlação com a análise sensorial de qualidade de bebida. Os testes de protrusão radicular, tetrazólio e condutividade elétrica são os mais sensíveis em detectar alterações da qualidade do grão quando comparados as análise sensorial do café. Os sistemas enzimáticos estudados não são eficientes na aferição da qualidade da bebida do café e, as avaliações da composição do grão, aos seis meses de armazenamento, apresentam baixa correlação com a análise sensorial.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L. Análise sensorial. Teste de tetrazólio. Teste de condutividade elétrica. Eletroforese de isoenzimas.

ABSTRACT

The appreciation of coffee product into the consumer market is determined by the quality of this product. In this context, evaluating the sensory quality of the coffee beverage is of great importance, and recent studies have shown high correlation between the quality aspects of beverage and the physiological and biochemical quality of coffee beans. Therefore, this study aimed to evaluate the potential of the physiological and biochemical analyzes to determine the coffee quality. The physiological and biochemical analyzes used to evaluate the quality of seeds are relatively simple, inexpensive and easy to standardize, and therefore they present themselves as viable alternatives to complement the assessment and classification of different kinds of coffee. 10 batches of coffee beans were used, which were stored in a cold room at 10 °C, proceeding evaluations before storage and after 3 and 6 months of storage, constituting a 10 x 3 factorial design. The grains were subjected to sensory analysis and evaluation of physiological quality by germination test, tetrazolium, electrical conductivity and potassium leaching. It was also held electrophoresis of isoenzyme superoxide dismutase, esterase, catalase, alcohol dehydrogenase and malate dehydrogenase, it was also determined the endo- β -mannanase activity. At 6 months of storage, chemical analysis of the grain was performed determining components of titratable acidity, ethereal extract, soluble solids, total sugars, reducing and non-reducing sugars present in coffee beans. Results were subjected to analysis of variance and correlation test. It is concluded that physiological tests show a high correlation with sensory analysis of beverage quality. Tests radicle protrusion, tetrazolium and electrical conductivity are the most sensitive to detect changes in quality of grain when compared to the sensory analysis of coffee beverage. Enzyme systems studied are not effective in measuring the quality of the coffee beverage, and assessments of the composition of the grain, after 6 months of storage, present low correlation with sensory analysis.

Keywords: *Coffea arabica* L. Sensory analysis. Tetrazolium test. Electrical conductivity test. Isoenzyme electrophoresis.

1 INTRODUÇÃO

É indiscutível a importância da cultura do café para a economia brasileira, sendo um dos principais produtos de exportação. A sustentabilidade do agronegócio café no mercado internacional está, cada vez mais, dependente da produção de cafés especiais e de melhor qualidade. No entanto, o Brasil é visto como maior produtor e exportador de “café commodity”, cuja qualidade é inferior, sendo menos valorizado no mercado internacional (CARDOSO, 2002).

A avaliação da qualidade de cafés é fundamentada em análises sensoriais, sendo que a análise sensorial consiste na coleta de dados subjetivos, transformando-os em dados objetivos, por meio de ferramentas estatísticas. Por ser subjetiva, esta análise é de difícil padronização.

De acordo com resultados de pesquisas recentes, análises fisiológicas e bioquímicas utilizadas para a avaliação de sementes de café tem se mostrado como ferramentas promissoras na avaliação da qualidade da bebida de café (CHAGAS; MALTA; PEREIRA, 2005; OLIVEIRA, 2010; SAATH, 2010; TAVEIRA et al., 2012). Uma vez que grãos com alta qualidade apresentam, também, alta qualidade fisiológica, a avaliação da qualidade de grãos de café pode ser complementada com resultados fisiológicos e bioquímicos.

Alterações que ocorrem nos grãos de café, durante as operações de pós-colheita e armazenamento, determinam a constituição química e a integridade dos sistemas enzimáticos, afetando, a qualidade fisiológica das sementes, bem como interferindo nos precursores do sabor e aroma da bebida. Bytof et al. (2007) e Selmar et al. (2004) investigaram as causas das diferenças na qualidade de grãos de café, e detectaram alterações bioquímicas, durante o processamento, relacionadas ao metabolismo da germinação, cuja extensão é dependente do tratamento, e afeta diretamente a qualidade de bebida.

Assim, a identificação de testes fisiológicos e bioquímicos, para avaliar a qualidade da bebida, que sejam precisos, baratos e de fácil padronização é altamente favorável para aliar à avaliação sensorial do café.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar o potencial de análises fisiológicas e bioquímicas para determinar a qualidade do café.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada no Laboratório Central de Análise de Sementes, do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e no Laboratório de Qualidade do Café “Dr. Alcides Carvalho”, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, no município de Lavras, MG. Foram selecionados 10 lotes de grãos de café (*Coffea arabica* L.) de diferentes qualidades, os quais foram obtidos de diferentes métodos de processamento e de secagem. Os grãos foram beneficiados, acondicionados em embalagens plásticas e armazenados em câmara fria regulada a 10 °C e umidade relativa do ar de 45% ± 1%, por um período de seis meses, a partir de novembro de 2011 até maio de 2012. O armazenamento dos grãos teve por finalidade a obtenção de níveis de qualidade mais diferenciados, permitindo desta forma, melhores condições para os estudos sobre o potencial de análises fisiológicas e bioquímicas para determinar a qualidade do café.

Os grãos de café foram submetidos às avaliações fisiológicas, bioquímicas e análise sensorial antes e após três e seis meses de armazenamento por meio dos testes descritos abaixo.

Para as análises eletroforéticas de isoenzimas e determinação da atividade da enzima endo-β-mananase as amostras de 50 grãos de cada lote e período de avaliação foram trituradas em moinho da marca Tecnal modelo TE613/1, refrigerado a 4 °C na presença de antioxidante polivinilpirrolidona (PVP) e, posteriormente armazenadas em deep-freezer, a -86 °C.

Determinação do teor de água: realizada em estufa a 105 °C ± 1 °C por 16 horas ± 0,5 h, conforme o método padrão internacional da ISO 667, sendo os resultados expressos em porcentagem de massa seca (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO, 1999).

Análise sensorial: foi realizada por dois provadores treinados e qualificados como juízes certificados de cafés especiais, utilizando-se a metodologia proposta pela Associação Americana de Cafés Especiais (SCCA), para a avaliação sensorial de cafés especiais (LINGLE, 1986). Foram atribuídas notas, no intervalo de 0 a 10 pontos, para cada um dos atributos de fragrância/aroma, uniformidade, ausência de defeitos, doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio e nota final. Em cada avaliação foram degustadas cinco xícaras de café representativas de cada lote. Os resultados finais da avaliação sensorial foram constituídos pela soma de todos os atributos, representado pela nota total.

Análises fisiológicas e bioquímicas: foram realizados os testes de germinação, de protrusão radicular, de plântulas normais fortes, de folhas cotiledonares expandidas e de massa seca de raízes e de hipocótilos.

Teste de germinação: realizado em rolo de papel umedecido com água na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel e conduzido à temperatura de 30 °C, com quatro repetições de 50 sementes. As avaliações foram realizadas aos trinta dias após a semeadura, considerando as plântulas normais de acordo com as descrições nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e os resultados foram expressos em porcentagem.

Protrusão radicular: realizado aos quinze dias do início do teste de germinação, em que foram computadas as sementes que apresentavam emissão de radícula com, pelo menos, um milímetro de comprimento e os resultados foram expressos em porcentagem.

Plântulas normais fortes: com base em observações das plântulas de café aos 30 dias do teste de germinação, foram avaliadas as plântulas normais fortes, sendo computadas aquelas com comprimento da inserção do endosperma

até o início da radícula, maior ou igual a 3 cm, medido com o auxílio de régua milimetrada.

Plântulas com folhas cotiledonares expandidas: após a avaliação aos 30 dias do teste de germinação, as plântulas normais foram mantidas nos rolos de germinação por mais 15 dias, quando foram computadas as plântulas que apresentavam folhas cotiledonares expandidas, com os resultados expressos em porcentagem.

Massa seca de raízes e hipocótilos: das plântulas normais, foram separadas as raízes das partes aéreas e o endosperma foi descartado. As raízes e as partes aéreas foram pesadas após secagem em estufa de circulação forçada de ar sob 60 °C até que a massa se estabilizasse. Os resultados foram expressos em gramas por plântula.

Teste de tetrazólio: foi conduzido com quatro repetições de 25 grãos de café para cada lote. Após a embebição dos grãos por 48 horas, à temperatura de 30 °C (CLEMENTE et al., 2011), os embriões foram extraídos e mantidos em solução antioxidante polivinilpirrolidona (PVP). Ao término da extração dos embriões, estes foram lavados em água e embebidos em solução de tetrazólio 0,5% em frascos escuros, onde foram mantidos à temperatura de 30 °C por 3 horas. Para melhor visualização das estruturas, utilizou-se lupa estereoscópica com aumento de 10 vezes. Os embriões foram seccionados longitudinalmente, para melhor avaliação, e foram classificados em viáveis e inviáveis de acordo com a localização e extensão dos danos.

Teste de condutividade elétrica: foi determinada utilizando-se quatro repetições de 50 grãos de cada lote, os quais foram pesados com precisão de 0,001 g e imersos em 75 mL de água deionizada em copos plásticos de 180 mL, os quais foram mantidos em BOD, sob temperatura de 25 °C, por 5 horas. As leituras de condutividade elétrica foram realizadas em aparelho Digimed CD-20

(PRETE, 1992) e foi calculada a condutividade elétrica, expressando os resultados em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}\cdot\text{l}\cdot\text{g}^{-1}$ de grãos.

Teste de Lixiviação de potássio: a solução contendo exsudatos de grãos de café, proveniente do teste de condutividade elétrica, foi colocada em recipientes de vidro, da qual foram retiradas alíquotas para a determinação da quantidade de potássio lixiviado, utilizando fotômetro de chama DIGIMED NK-2002, conforme Prete (1992). Com os dados obtidos, foi calculada a quantidade de potássio lixiviada, expressando-se os resultados em $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$.

Eletroforese de isoenzimas: adicionou-se a 100 mg do pó dos grãos, 400 μL do tampão de extração (0,2 M Tris) homogeneizados em vortex e, posteriormente, mantendo por uma hora em geladeira. As amostras foram centrifugadas a 14.000 rpm, a 4 °C por 50 minutos e 60 μL do sobrenadante foram aplicados nos géis de poliacrilamida. Utilizou-se o sistema tampão gel/eletrodo tris-glicina pH 8,9. A eletroforese foi realizada a 150 V durante 4 horas e os géis foram revelados para os seguintes sistemas isoenzimáticos: esterase (EST), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), malato desidrogenase (MDH) e álcool desidrogenase (ADH) conforme metodologia descrita por Alfenas (1998).

Atividade da enzima endo- β -mananase: realizada em gel de agarose. A extração e a revelação foi realizada de acordo com Silva et al. (2004) e a quantificação de acordo com Downie, Hilhorst e Bewley (1994).

Análises químicas: foram realizadas as determinações de açúcares totais, redutores e não redutores, acidez titulável total, sólidos solúveis e extrato etéreo, após seis meses de armazenamento.

Açúcares totais, redutores e não-redutores: foram extraídos pelo método de Lane-Enyon, citado pela Association of Official Analytical

Chemistry - AOAC (1990) e determinados pela técnica de Somogy, adaptada por Nelson (1944).

Acidez titulável total: foi determinada por titulação com NaOH 0,1N, adaptando-se à metodologia citada pela AOAC (1990). Foram pesados dois gramas da amostra de café moído e adicionado 50 mL de água destilada, agitando-se por uma hora. Em seguida, realizou-se a filtração em papel de filtro e retirou-se 5 mL da solução filtrada, colocando-a em um erlenmeyer, com cerca de 50 mL de água destilada. Acrescentaram-se três gotas de fenolftaleína e, em seguida, titulou-se até a viragem com NaOH 0,1N. O resultado foi expresso em mL de NaOH 0,1N, por 100 g de amostra.

Sólidos solúveis: foi determinado de acordo com a metodologia descrita na AOAC (1990). A partir do percentual de umidade, os dados foram expressos em matéria seca (ms).

Extrato etéreo: foi determinada em aparelho do tipo de Soxhlet, da marca Tecnal, segundo normas da AOAC (1990). A quantidade de extrato etéreo presente em cada amostra foi dado em percentual.

Delineamento experimental e análises estatísticas: foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 10 x 3, sendo o primeiro fator relativo a 10 lotes de grãos de café e o segundo fator a 3 épocas de armazenamento (0, 3 e 6 meses), com quatro repetições para as análises fisiológicas, duas repetições para a análise sensorial de qualidade de bebida e três repetições para as análises de composição química dos grãos e da atividade enzimática da endo- β -mananase. As médias resultantes das análises sensoriais, dos testes fisiológicos, atividade enzimática da endo- β -mananase e análise de composição química foram submetidas à análise de variância e ao teste de comparação de médias, por meio do teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o software Sisvar (FERREIRA, 2003). Foram ainda, realizadas

análises de correlação entre os resultados das análises sensoriais, fisiológicas e químicas utilizando-se o programa ASSISTAT (SILVA; AZEVEDO, 2009). Ressalta-se que não foram realizadas análises de regressão para os resultados em função de tempo de armazenamento, uma vez que o armazenamento somente foi realizado para a obtenção de diferentes níveis de qualidade dos grãos, não havendo interesse na investigação sobre o processo de deterioração dos grãos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água (%) dos grãos, determinado em cada época de armazenamento encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 Teor de água (%) dos grãos de *Coffea arabica* L., durante o período de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	Época de armazenamento		
	0 Meses	3 Meses	6 Meses
1	10.69	11.90	11.34
2	10.86	12.11	12.28
3	11.27	12.17	11.48
4	11.62	12.43	11.99
5	12.03	12.61	12.39
6	9.89	10.23	10.27
7	9.06	9.83	9.81
8	13.11	14.23	13.58
9	9.76	10.73	10.60
10	10.02	11.03	10.72

Pelos resultados do teor de água dos grãos de café, ao longo do período de armazenamento (Figura 1), observa-se uma elevação da umidade dos grãos em todos os lotes avaliados, apesar do fato dos grãos terem sido armazenados em embalagens plásticas. Esta variação da umidade das sementes ocorre em maior ou menor intensidade, de acordo com Ellis, Hong e Roberts (1990), influenciada por fatores como a umidade relativa e a temperatura do ar, já que as sementes entram em equilíbrio higroscópico. Estas variações na umidade dos grãos durante o armazenamento pode ter contribuído para a deterioração dos grãos e, conseqüentemente, para os diferentes níveis de qualidade que se pretendia obter para a realização deste estudo.

Das análises de variância dos resultados das análises sensoriais, verifica-se interação significativa entre os fatores lote e tempo de armazenamento para as

variáveis fragrância/aroma, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio, final e nota total (Tabela 1A, APÊNDICE A). Para as variáveis uniformidade, ausência de defeitos e doçura não foi possível realizar a análise de variância, pois as notas atribuídas pelos 2 juízes, que realizaram as análises foram iguais, para o mesmo lote. Desta forma na Tabela 2 se encontram os resultados dos atributos uniformidade, ausência de defeitos e doçura da avaliação sensorial dos lotes de grãos de café nas épocas de avaliação.

Na primeira avaliação, para o atributo uniformidade, o Lote 10, apresentou pior resultado para a uniformidade, com valor igual a 6; o Lote 4, apresentou uniformidade intermediária, com valor igual a 8; os demais Lotes apresentaram os melhores resultados com relação a uniformidade, com valores iguais a 10. Para os atributos ausência de defeitos e doçura o resultado foi similar, sendo que o Lote 10 apresentou valor igual a 6, e os demais Lotes apresentaram valor 10, para ambos os atributos (Tabela 2).

Tabela 2 Resultados das notas obtidas para os atributos uniformidade, ausência de defeitos e doçura, da análise sensorial dos grãos de *Coffea arabica* L., ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	Uniformidade			Ausência de defeitos	Doçura
	0 Meses	3 Meses	6 Meses		
1	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
2	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
3	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
4	8.00	10.00	10.00	10.00	10.00
5	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
6	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
7	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
8	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
9	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
10	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

Para o atributo sabor, acidez, finalização, equilíbrio e final, o Lote 10 apresentou valores iguais a 6 e os demais Lotes foram agrupados com valores entre 6 e 8 (Tabelas 3 e 4). Para os atributos corpo e fragrância/aroma, na primeira época de avaliação, o Lote 10 apresentou média de notas iguais a 7 pontos, e aos 3 e 6 meses de armazenamento, o mesmo lote apresentou pontuação igual a 6 pontos para estes dois atributos (Tabela 4).

Tabela 3 Resultados das notas obtidas para os atributos sabor, acidez, finalização e equilíbrio da análise sensorial dos grãos de *Coffea arabica* L., ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	Sabor			Acidez			Finalização			Equilíbrio		
	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses
1	7.50 a	7.00 c	6.00 d	7.00 b	7.00 c	7.00 c	7.25 a	7.50 a	6.25 c	7.00 b	7.50 b	7.00 b
2	7.25 a	7.25 b	8.00 a	7.50 a	7.00 c	7.50 a	7.00 b	7.50 a	7.50 a	7.00 b	7.50 b	7.75 a
3	7.00 b	7.25 b	7.00 c	7.00 b	7.25 b	7.00 c	6.00 d	7.25 b	7.00 b	6.50 c	7.00 c	7.00 b
4	7.00 b	7.00 c	7.50 b	7.00 b	7.00 c	7.25 b	6.50 c	6.75 c	7.50 a	6.50 c	7.00 c	7.50 a
5	7.50 a	7.50 a	7.50 b	7.50 a	7.00 c	7.00 c	7.50 a	7.25 b	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.50 a
6	7.50 a	7.50 a	7.50 b	7.50 a	7.50 a	7.00 c	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.00 c	7.50 a
7	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.00 b	7.50 a	7.00 c	6.75 b	7.50 a	7.50 a	7.00 b	7.50 b	7.50 a
8	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.00 b	7.50 a	7.00 c	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	8.00 a	7.50 a
9	7.50 a	7.50 a	7.75 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.00 b	7.00 b	7.50 a	7.00 b	7.50 b	7.50 a
10	6.00 c	6.00 d	6.00 d	6.00 c	6.00 d	6.00 d	6.00 d	6.25 d	6.00 c	6.00 d	6.50 d	6.00 c
CV (%)	1.80			1.29			2.41			2.39		

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

Tabela 4 Resultados das notas obtidas para os atributos fragrância/aroma, corpo e nota final da análise sensorial dos grãos de *Coffea arabica* L., ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	Fragrância/Aroma			Corpo			Nota Final		
	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses
1	7.25 a	7.25 a	7.25 a	7.50 a	7.50 b	6.50 e	7.25 b	7.50 a	6.50 c
2	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 a	7.50 b	8.00 a	7.00 c	7.00 b	7.50 a
3	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.00 d	6.50 d	7.00 b	7.00 b
4	7.50 a	7.00 b	7.00 b	6.75 c	7.50 b	7.50 b	6.50 d	6.75 b	7.50 a
5	7.75 a	7.00 b	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.25 c	7.50 a	7.00 b	7.00 b
6	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 b	7.50 b	7.50 a	7.00 b	7.00 b
7	6.75 b	7.50 a	7.50 a	7.00 b	7.50 b	7.50 b	7.00 c	7.50 a	7.50 a
8	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	8.00 a	7.50 b	7.25 b	7.50 a	7.50 a
9	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 b	8.00 a	7.25 b	7.00 b	7.50 a
10	7.00 b	6.00 c	6.00 c	7.00 b	6.00 c	6.00 f	6.00 e	6.00 c	6.00 d
CV (%)	2.22			1.24			1.84		

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

Das análises de variância dos resultados das análises fisiológicas, verifica-se interação significativa entre os fatores lotes e tempo de armazenamento, para as variáveis protrusão radicular, germinação, plântulas normais fortes, folhas cotiledonares, massa seca de raiz e hipocótilo, lixiviação de potássio e viabilidade pelo teste de tetrazólio; apenas a variável condutividade elétrica, o fator lote foi significativo, o que implica concluir que independente da época de armazenamento (0, 3 e 6 meses), os lotes apresentaram o mesmo comportamento (Tabelas 2A e 3A, APÊNDICE A).

Nas Tabelas 5, 6 e 7 estão apresentados os resultados de protrusão radicular, germinação, tetrazólio, folhas cotiledonares expandidas, plântulas normais fortes, massa seca de raízes e hipocótilos, lixiviação de potássio e nota total da análise sensorial, em cada época de avaliação (0, 3 e 6 meses).

Os resultados das análises sensoriais foram correlacionados com os resultados dos testes fisiológicos, cujos resultados detalhados encontram-se nos Quadros 1A, 2A e 3A, APÊNDICE A. Os maiores valores de coeficientes de correlação obtidos estão ilustrados na Figura 1, para cada época de avaliação.

Tabela 5 Resultados de protrusão radicular (PR), germinação (G), tetrazólio (TZ), folhas cotiledonares expandidas (FC), plântulas normais fortes (PNF), massa seca de raízes (MSR), massa seca de hipocótilos (MSH), lixiviação de potássio (LK) e nota total da análise sensorial, de grãos de *Coffea arabica* L., antes do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	PR	G	TZ	FC	PNF	MSR	MSH	LK	AS
	----- % -----					---- mg ----		- mg.Kg ⁻¹ -	- Nota -
1	78.50 c	34.00 f	85.00 b	25.50 b	14.50 b	2.63 d	4.86 d	35.26 e	80.75 a
2	61.50 d	46.00 e	94.00 a	26.00 b	10.50 b	2.92 d	5.82 d	45.08 f	80.25 a
3	84.50 b	61.00 c	69.00 c	30.50 b	5.50 c	6.15 b	7.88 c	37.13 e	77.50 b
4	95.00 a	66.00 c	70.00c	30.00 b	12.00 b	4.04 c	10.10 b	10.61 a	75.75 b
5	94.50 a	75.50 b	83.00 b	51.50 a	29.00 a	5.93 b	11.52 a	10.92 a	82.75 a
6	95.00 a	66.50 c	83.00 b	18.50 b	20.00 b	5.55 b	10.31 b	16.22 b	82.50 a
7	86.50 b	51.50 d	88.00 a	24.50 b	16.00 b	3.54 c	7.61 c	22.46 c	78.50 b
8	95.50 a	87.50 a	83.00 b	44.50 a	34.50 a	6.82 a	12.73 a	24.18 c	81.25 a
9	94.50 a	85.00 a	79.00 b	43.00 a	30.50 a	6.82 a	11.73 a	26.05 d	81.25 a
10	6.00 e	2.50 g	0.00 d	1.00 c	0.00 c	0.00 e	0.00 e	46.80 f	54.00 c
CV (%)	6.26	12.26	6.59	18.56	41.31	13.71	13.65	6.90	1.45

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

Tabela 6 Resultados de protrusão radicular (PR), germinação (G), tetrazólio (TZ), folhas cotiledonares expandidas (FC), plântulas normais fortes (PNF), massa seca de raízes (MSR), massa seca de hipocótilos (MSH), lixiviação de potássio (LK) e nota total da análise sensorial, de grãos de *Coffea arabica* L., após 3 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	PR	G	TZ	FC	PNF	MSR	MSH	LK	AS
	----- % -----					---- mg ----		- mg.Kg ⁻¹ -	- Nota -
1	81.00 b	32.50 d	83.00 b	23.50 d	5.50 b	3.11 e	4.09 e	39.47 d	81.25 a
2	88.50 b	49.00 c	92.00 a	41.00 c	8.50 b	4.51 d	7.15 d	41.18 d	80.50 a
3	84.50 b	42.00 c	89.00 b	38.00 c	4.50 b	3.92 d	6.24 d	39.62 d	80.25 a
4	96.50 a	83.00 a	100.00 a	76.00 a	23.50 a	7.94 b	11.69 a	10.61 a	79.00 a
5	97.50 a	84.00 a	97.00 a	70.00 a	14.50 a	7.76 b	12.05 a	11.54 a	80.50 a
6	93.00 a	65.50 b	97.00 a	48.50 b	5.50 b	5.58 c	8.75 c	16.07 b	81.50 a
7	90.50 a	68.50 b	95.00 a	57.00 b	16.00 a	6.25 c	10.48 b	25.27 c	82.50 a
8	96.50 a	90.50 a	96.00 a	75.00 a	22.50 a	9.51 a	13.33 a	25.43 c	83.50 a
9	94.50 a	83.00 a	93.00 a	60.50 b	19.50 a	8.72 a	11.96 a	26.68 c	81.50 a
10	2.50 c	0.00 e	2.00 c	0.00 e	0.00 b	0.00 f	0.00 f	40.72 d	52.75 b
CV (%)	6.26	12.26	6.59	18.56	41.31	13.71	13.65	6.90	1.45

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

Tabela 7 Resultados de protrusão radicular (PR), germinação (G), tetrazólio (TZ), folhas cotiledonares expandidas (FC), plântulas normais fortes (PNF), massa seca de raízes (MSR), massa seca de hipocótilos (MSH), lixiviação de potássio (LK) e nota total da análise sensorial, de grãos de *Coffea arabica* L., após 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	<i>PR</i>	<i>G</i>	<i>TZ</i>	<i>FC</i>	<i>PNF</i>	<i>MSR</i>	<i>MSH</i>	<i>LK</i>	<i>AS</i>
	----- % -----					---- mg ----		- mg.Kg ⁻¹ -	- Nota -
1	74.00 b	28.00 d	83.00 b	26.00 d	6.00 b	2.54 d	4.12 d	34.48 d	75.75 c
2	78.00 b	42.00 c	79.00 b	41.00 c	22.00 a	3.46 d	6.30 c	44.46 e	83.75 a
3	77.00 b	40.00 c	79.00 b	29.00 d	10.00 b	3.46 d	5.82 c	36.66 d	79.00 b
4	91.00 a	86.00 a	100.00 a	79.00 a	34.00 a	8.39 a	12.92 a	11.86 a	82.25 a
5	87.00 a	81.00 a	97.00 a	71.00 b	29.00 a	7.23 a	12.01 a	10.45 a	80.25 a
6	95.00 a	74.00 b	95.00 a	65.00 b	30.00 a	6.73 b	11.32 b	17.00 b	81.00 a
7	95.00 a	67.00 b	93.00 a	64.00 b	32.00 a	5.39 c	9.94 b	24.96 c	81.50 a
8	91.00 a	86.00 a	96.00 a	79.00 a	34.00 a	7.89 a	13.38 a	24.80 c	81.75 a
9	93.00 a	75.00 b	94.00 a	65.00 b	37.00 a	6.17 b	10.80 b	26.52 c	83.00 a
10	9.00 c	0.00 e	6.00 c	0.00 e	0.00 b	0.00 e	0.00 e	46.80 e	56.00 d
CV (%)	6.26	12.26	6.59	18.56	41.31	13.71	13.65	6.90	1.45

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, o nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott

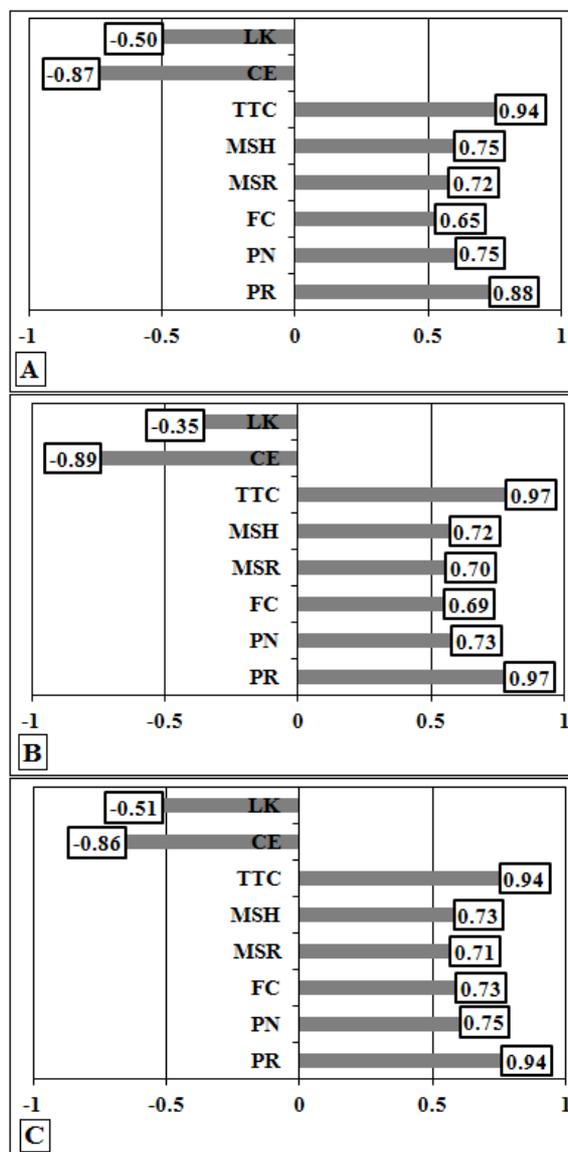


Figura 1 Coeficientes de correlação entre os resultados de Nota Total da análise sensorial e os testes de lixiviação de potássio (LK), condutividade elétrica (CE), tetrazólio (TTC), massa seca de hipocótilo (MSH), massa seca de raiz (MSR), folhas cotiledonares (FC), germinação (PN) e protrusão radicular (PR) de grãos de *Coffea arabica* L., antes do armazenamento (A) e, após 3 (B) e 6 meses de armazenamento (C). UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

O índice de correlação da nota total da análise sensorial com a protrusão radicular dos grãos de café foi de 0.88, 0.97 e 0.94%, na primeira avaliação, após três e seis meses de armazenamento, respectivamente (Figura 1). Este resultado demonstra alta relação existente entre a análise sensorial e o índice de protrusão radicular.

O índice de correlação entre a nota global da análise sensorial e o teste de germinação, variou apenas na segunda avaliação, aos 3 meses de armazenamento, sendo 0.73% e nas demais épocas foi 0.75%. Um aspecto de grande relevância, que deve ser ressaltado, é a alta correlação do teste de tetrazólio e da condutividade elétrica em relação à nota total da análise sensorial de qualidade de bebida, em que o índice de correlação do teste de tetrazólio, na primeira avaliação e após 6 meses de armazenamento foi igual a 0.94%. Já aos seis meses de avaliação o índice de correlação foi 0.97%. O teste de condutividade elétrica apresentou correlação negativa com a qualidade de bebida dos grãos de café.

Com relação à avaliação sensorial, pode-se observar que, na primeira época de avaliação, a análise sensorial possibilitou a classificação dos lotes em apenas 3 classes, sendo que, os testes fisiológicos de protrusão radicular, germinação, tetrazólio e condutividade elétrica, possibilitaram a classificação em maior número de classes (Tabela 5). Para a variável protrusão radicular, teste de tetrazólio e germinação a separação ocorreu em 5, 4 e 7 classes, respectivamente. Por meio do teste de tetrazólio, o qual apresentou maior correlação com a análise sensorial (Figura 1), foi possível a separação dos Lotes 1, 5, 6, 8 e 9 em uma única classe, com desempenhos similares, os Lotes 3 e 4, foram agrupados em uma classe de qualidade intermediária e o Lote 10 destacou-se como o de pior qualidade, assim como na análise sensorial. No entanto o teste de tetrazólio permitiu a distinção de outra classe, que reuniu os Lotes 2 e 7, denominada Classe A, estes lotes apresentaram os melhores

resultados para a viabilidade dos embriões (Tabela 5). Na primeira avaliação, o teste de germinação mostrou-se mais sensível em separar lotes com qualidade fisiológica distinta, agrupando os lotes em 7 classes (Tabela 5).

A Figura 2 ilustra os embriões de café provenientes dos grãos dos Lotes 9 e 10, de melhor e pior qualidade, respectivamente, após 3 meses de armazenamento, avaliados de acordo com a análise sensorial da bebida e do teste de tetrazólio. Observa-se, que por meio do teste de tetrazólio foi possível visualizar a qualidade inferior do Lote 10, cujos embriões apresentaram alto índice de inviabilidade. Taveira et al. (2012), em pesquisa para avaliar os efeitos dos procedimentos pós-colheita sobre os aspectos fisiológicos e sensoriais do café, demonstraram que os testes fisiológicos realizados são mais sensíveis, quando comparados à análise sensorial, na diferenciação de diferentes qualidades de grãos de café, obtidos de diferentes formas de processamento pós-colheita do café. Os autores concluíram que testes fisiológicos são ferramentas promissoras na avaliação da qualidade de bebida do café.

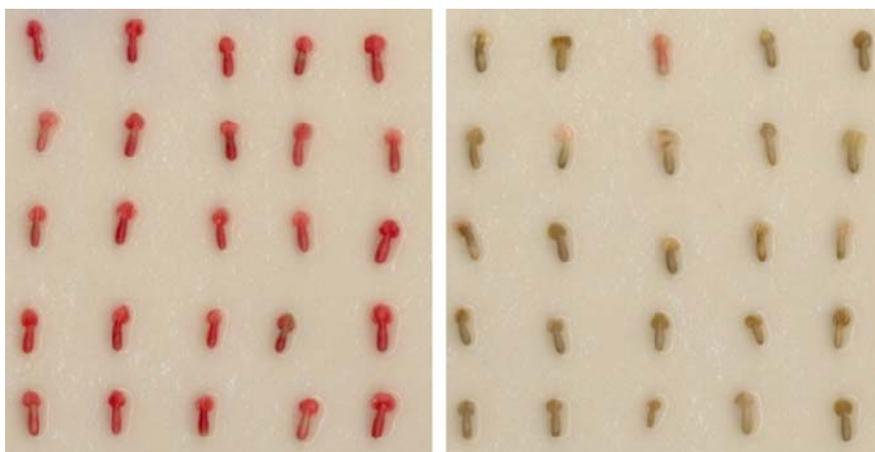


Figura 2 Aspectos de embriões de *Coffea arabica* L., de melhor qualidade (esquerda) e de pior qualidade (direita), evidenciados no teste de tetrazólio, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Após 3 meses de armazenamento, a análise sensorial apresentou-se ainda menos sensível em detectar as diferenças de qualidade dos lotes de café, sendo que possibilitou a diferenciação em apenas 2 classes, de qualidade de bebida (Tabela 6). Em contrapartida, os testes fisiológicos de protrusão radicular e tetrazólio, diferenciaram os lotes, de forma similar, em 3 classes; o teste de germinação estratificou os lotes em 5 classes (Tabela 6). O resultado obtido pelo teste de germinação após três meses de armazenamento (Tabela 6), foi similar ao resultado obtido pela nota total da análise sensorial aos 6 meses de armazenamento (Tabela 7), na qual o teste de germinação separou os lotes em 5 classes, sendo que os Lotes 4, 5, 8 e 9, foram designados como de melhor qualidade, e o Lote 10, o de pior qualidade. O teste de germinação ainda possibilitou a separação dos Lotes 1 e 10 em classes isoladas e agrupou os Lotes 2 e 3 na mesma classe, após os três meses de armazenamento (Tabela 6).

Após seis meses de armazenamento, o teste de germinação propiciou a diferenciação dos lotes em 5 classes, em relação aos resultados obtidos após 3 meses de armazenamento, a única alteração evidenciada aos 6 meses de armazenamento, foi o agrupamento do Lote 9 na classe de qualidade inferior, denominada de classe B, refletindo a redução da qualidade fisiológica deste lote (Tabela 7). O resultado da análise sensorial da bebida, aos seis meses de armazenamento dos lotes (Tabela 7), refletiu também a perda de qualidade dos grãos de café, fato já evidenciado pelo teste de germinação aos três meses de armazenamento (Tabela 6).

Testes fisiológicos e sensoriais refletem simultaneamente a redução da qualidade fisiológica e sensorial de grãos de café. No entanto, pelos resultados pode-se afirmar que os testes fisiológicos, de protrusão radicular, germinação e tetrazólio foram mais sensíveis em detectar a redução da qualidade dos grãos quando comparada a prova de xícara da bebida. Neste sentido, Saath (2010) em estudo sobre os efeitos do processamento e da secagem de grãos de café,

demonstrou que após 12 meses de armazenamento, independente das condições do tratamento, tanto a qualidade da bebida quanto a qualidade fisiológica reduziram substancialmente, traduzindo a diminuição da qualidade dos grãos de café, devido à deterioração.

Alguns autores têm demonstrado que condições de processamento e secagem de grãos de café, que propiciam a obtenção de bebida de qualidade superior, também propiciam melhor qualidade fisiológica. Neste sentido, Afonso Júnior et al. (2004), constataram que a remoção do exocarpo do fruto contribuiu para a manutenção da qualidade fisiológica das sementes de café. Segundo Borém (2008), a remoção do exocarpo do fruto resulta, em geral, em cafés de bebida de melhor qualidade. Esta afirmação corrobora com o resultado encontrado por Saath (2010), cujas amostras de melhor qualidade sensorial também apresentaram maior percentual de germinação e menores valores de condutividade elétrica. Conforme observado neste trabalho, a produção de grãos de café de qualidade sensorial e fisiológica superiores está fortemente relacionada, sendo que a redução na qualidade de bebida pode ser detectada pelos testes fisiológicos. Isto explica a alta relação obtida entre os resultados das análises sensoriais e fisiológicas dos grãos de café, observada nesta pesquisa (Figura 5).

Para a variável condutividade elétrica, independente da época de avaliação, o comportamento manteve-se, ou seja, apenas houve efeito significativo do fator lote (Tabela 3A, APÊNDICE A). Por meio deste teste foi possível a diferenciação dos lotes em 6 classes distintas (Tabela 8).

Tabela 8 Resultados de condutividade elétrica, de grãos de *Coffea arabica* L., ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	CE
	- $\mu S.cm^{-1}.g^{-1}$ -
1	26.16 d
2	31.89 e
3	24.67 d
4	5.86 a
5	6.56 a
6	8.77 b
7	13.80 c
8	13.08 c
9	15.01 c
10	74.06 f
CV (%)	12.49

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

É importante ressaltar que o teste de condutividade elétrica, apresentou alta correlação com a análise sensorial, com índices de -0.87, -0.89 e -0.86, na primeira avaliação, aos 3 e aos 6 meses de armazenamento, respectivamente (Figura 1). Desta forma, os lotes com alta qualidade sensorial apresentaram reduzido valor de condutividade elétrica quando comparado aos lotes de baixa qualidade sensorial, que por sua vez, tiveram valores de condutividade elétrica maiores. Desta forma, pelo teste de condutividade elétrica, os Lotes 4 e 5, foram considerados de melhor qualidade fisiológica, Classe A, e o Lote 10, de qualidade fisiológica inferior agrupado na Classe F (Tabela 8).

Saath (2010) também observou que a relação existente entre a condutividade elétrica e a análise sensorial dos grãos de café é inversa, tendo

observado em seus estudos, ao longo do armazenamento por 12 meses de grãos de café, altos valores de condutividade elétrica aos 12 meses de armazenamento, quando comparados aos valores obtidos nas avaliações realizadas antes do armazenamento. No entanto, ao longo do armazenamento, a qualidade sensorial dos grãos de café reduziu. O trabalho de Saath (2010) confirma a intensa relação existente entre os resultados do teste de condutividade elétrica e os da análise sensorial da bebida de café.

Um dos eventos ocorridos no processo de redução da viabilidade de sementes está relacionado com alterações no sistema de membranas (BEWLEY, 1986). A redução na qualidade sensorial da bebida de café parece estar, também, altamente relacionada a danos no sistema de membrana, pois rompimentos nas membranas celulares proporcionam um maior contato das enzimas com os compostos químicos presentes nos meios intra e extracelulares dos grãos. Essas alterações provocam reações químicas que modificam a composição original do café, com reflexos negativos na qualidade da bebida.

Segundo Borém et al. (2008) e Coradi et al. (2007), a desorganização ou rompimento das membranas citoplasmáticas propicia o extravasamento dos ácidos graxos presentes no interior celular e, dessa forma, podem ocorrer reações oxidativas ou reações catalíticas, tendo como resultado produtos indesejáveis e prejudiciais à qualidade sensorial do café.

Neste sentido, alguns autores tem relacionado os resultados obtidos do teste de condutividade elétrica com as análises de qualidade de bebida do café. Os primeiros trabalhos, foram conduzidos por Amorim (1978), quem evidenciou que a perda da permeabilidade e estrutura das membranas celulares conduz à deterioração dos grãos de café. Prete (1992) verificou uma relação inversa entre a qualidade da bebida e a condutividade elétrica e a lixiviação de potássio de exsudatos de grãos crus. Baseados nessa hipótese, Romero, Romero e Gomes (2003), utilizaram a metodologia proposta por Prete (1992) para determinação

da condutividade elétrica e posterior separação de 18 cultivares de *Coffea arabica* L., concluindo que é possível diferenciar genótipos quanto a qualidade de bebida, por meio do teste de condutividade elétrica.

Resultados recentes demonstram a importância da utilização da condutividade elétrica e lixiviação de potássio como marcadores da qualidade de bebida do café (ANGÉLICO et al., 2011; CHAGAS; MALTA; PEREIRA, 2005; OLIVEIRA, 2010; SAATH, 2010; TAVEIRA et al., 2012). Oliveira (2010) realizou estudos ultraestruturais de microscopia eletrônica de varredura que demonstraram que os grãos de café com qualidade sensorial inferior apresentam rupturas e extravasamentos celulares evidentes, no entanto, os cafés de qualidade sensorial superior demonstraram maior integridade das membranas e vesículas celulares, sem sinais evidentes de ruptura, ocorrendo reduzida contração celular e espaços intercelulares vazios.

Apesar da correlação entre o teste de condutividade elétrica e a análise da bebida de café ter sido elevado, observa-se neste trabalho uma baixa relação, quando comparado aos outros testes fisiológicos, entre o resultado do teste de lixiviação de potássio e a análise sensorial de qualidade de bebida do café, sendo os índices de correlação valores negativos de 0.50; 0.35 e 0.51, para a primeira avaliação, após 3 e 6 meses de armazenamento, respectivamente (Figura 1). Este resultado não era esperado, visto que os testes de condutividade elétrica e lixiviação de potássio, possuem princípios semelhantes, baseando-se na integridade das membranas celulares dos grãos. No entanto, o teste de lixiviação de potássio pode ser um parâmetro pouco interessante para determinação da qualidade fisiológica de sementes e por consequência, para prever a qualidade sensorial de grãos de café, pois o resultado deste teste reflete apenas a quantidade de íons de potássio translocados para a solução de embebição e o teste de condutividade elétrica mostra-se como um índice de maior abrangência, pois contabiliza todos os íons presentes na solução (MARCOS FILHO, 2005).

Os resultados da lixiviação de potássio dos lotes em cada época de avaliação encontram-se nas Tabelas 5, 6 e 7.

Favarin et al. (2004) também avaliaram amostras de grãos de café, por meio de testes rápidos, como condutividade elétrica e lixiviação de potássio e da análise sensorial. No entanto, os autores observaram que os resultados obtidos por meio da utilização de testes rápidos não correlacionaram com a análise sensorial da bebida.

Os resultados das plântulas normais fortes e folhas cotiledonares expandidas, no início e aos 3 e 6 meses de armazenamento, encontram-se nas Tabelas 5, 6 e 7, respectivamente. Segundo Nakagawa (1999), a medida de plântulas normais fortes pode ser adotada como índice que indica vigor de sementes.

A porcentagem de plântulas normais de café com folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias mostrou alta correlação com a análise sensorial, com índices de correlação iguais a 0.65; 0.69 e 0.73, aos 0, 3 e 6 meses de avaliação, respectivamente (Figura 1). Nota-se que após 3 meses de armazenamento, os Lotes 1, 3 e 10 foram classificados como de qualidade inferior, segundo as médias obtidas para a variável folhas cotiledonares expandidas (Tabela 6), de tal forma que a nota total da avaliação sensorial possibilitou esta classificação somente após 6 meses de armazenamento (Tabela 7). Assim como na análise sensorial, a medida de plantulas normais fortes, classificou os Lotes 1, 3 e 10, após 6 meses de armazenamento, em uma classe de qualidade inferior quando comparado aos demais lotes (Tabela 7).

O Lote 10, de pior qualidade sensorial, não apresentou plântulas normais fortes, para todas as épocas avaliadas (Tabelas 5, 6 e 7).

Massa seca de raízes e de hipocótilos apresentaram elevados índices de correlação com a nota global de qualidade de bebida de café, com valores superiores a 0.70 (Figura 1). Observa-se que os lotes de pior qualidade sensorial,

Lotes 1, 2 e 10, apresentaram menores médias de massa seca de raízes e hipocótilos (Tabelas 5, 6 e 7). Desta forma, estas medidas são importantes marcadores da qualidade do café.

Nas Figuras 3, 4, 5, 6 e 7 pode-se observar os resultados das análises eletroforéticas das isoenzimas investigadas. Na primeira avaliação e após 3 e 6 meses de armazenamento, a expressão da enzima superóxido dismutase foi constante para todos os lotes avaliados, não apresentando diferenciação entre os mesmos, como foi observado nos testes fisiológicos. No entanto a atividade enzimática da superóxido dismutase aumentou ao longo do armazenamento, como pode ser observado nos géis representados na Figura 3.

Aos seis meses, no entanto, foram observadas duas bandas de expressão da superóxido dismutase, para todos os lotes (Figura 3). Durante o armazenamento dos grãos de café, provavelmente, deve ter ocorrido a formação de radicais livres, ativando a superóxido dismutase como mecanismo de reparo celular, promovendo a remoção de oxigênio molecular (O_2^{\cdot}) nos grãos. Esta hipótese corrobora com os resultados descritos por alguns autores, para sementes de café (BRANDÃO JÚNIOR; VIEIRA; HILHOST, 2002; NAKADA et al., 2010; ROSA et al., 2005; VEIGA et al., 2007, 2010).

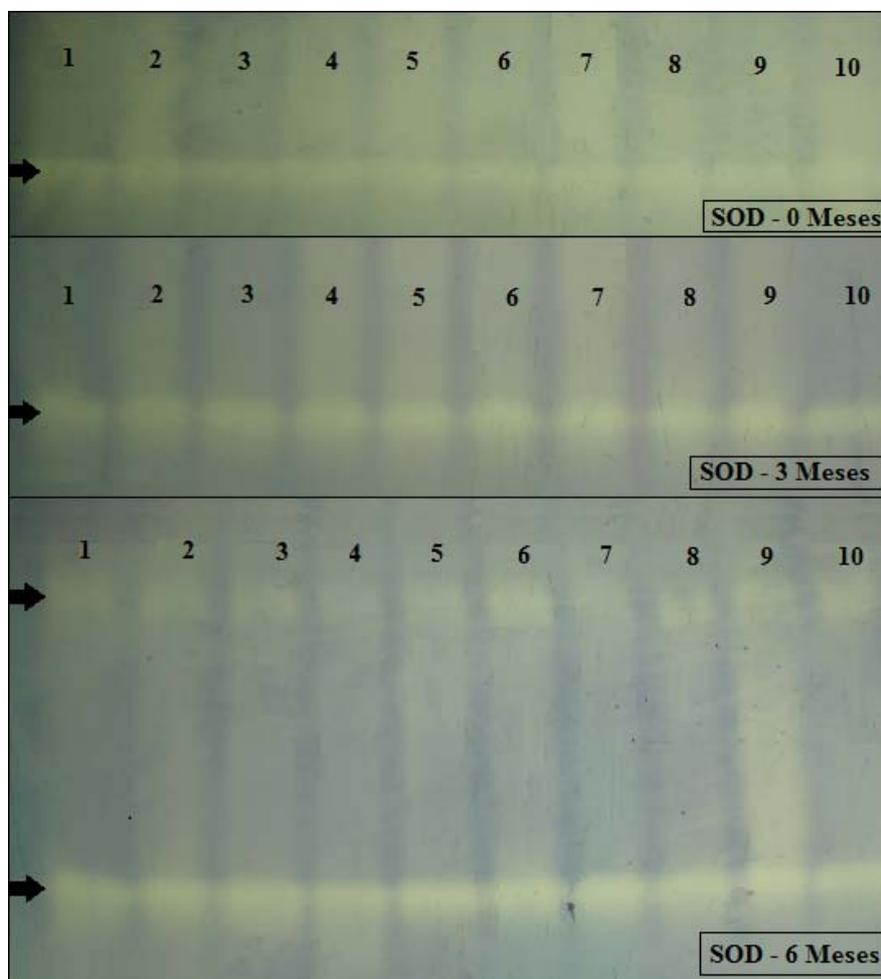


Figura 3 Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima superóxido dismutase (SOD), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Resultado semelhante à expressão eletroforética da enzima superóxido dismutase, foi obtido para a expressão da enzima esterase, cuja atividade não diferenciou os lotes, segundo os diferentes níveis de qualidade fisiológica e sensorial. Em contrapartida, a expressão da esterase refletiu a perda de qualidade fisiológica e sensorial ao longo do armazenamento dos grãos de café (Figura 4),

com um aumento da expressão ao final do armazenamento. Saath (2010) também observou aumento da atividade da enzima esterase ao longo do armazenamento, mas apenas em amostras com qualidade fisiológica inferior. Brandão Júnior, Carvalho e Vieira (1999) observaram em sementes de café, uma diminuição da intensidade e número de bandas, com o envelhecimento das sementes. Os autores atribuíram o aparecimento de novas bandas à ação deteriorativa de microrganismos.

O aumento da atividade da enzima esterase está associado à oxidação de lipídios, caracterizando o processo degenerativo nas membranas celulares dos cafés armazenados. A esterase é acumulada antes do processo deteriorativo para prevenir a ação de radicais livres, podendo reduzir sua expressão durante este processo devido à sua ação hidrolítica na liberação de ácidos graxos dos lipídios que são usados na β -oxidação, como fonte de energia para a germinação (NAKADA et al., 2010; VEIGA et al., 2010). É importante mencionar o fato de muitos desses lipídios serem constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração dos grãos. Em grãos de café, a oxidação dos lipídios causa importante modificação em sabor e odor, levando a perdas qualitativas do produto (AGUIAR et al., 2005; HAMID et al., 2002; HEIM; TAGLIAFERRO; DENNIS, 2002; PIMENTA, 2004).

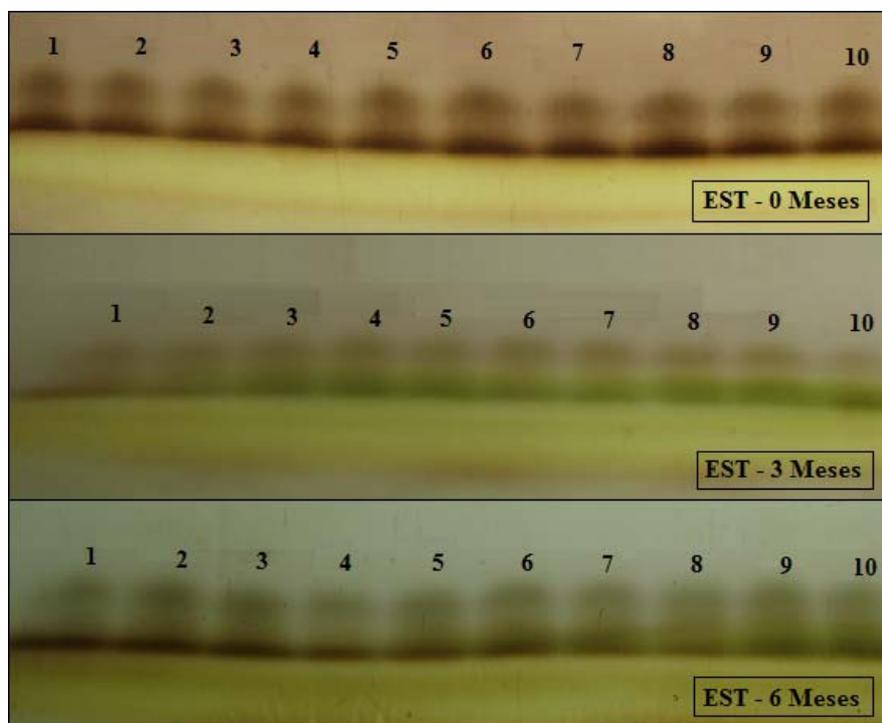


Figura 4 Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima esterase (EST), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Neste sentido, apesar das enzimas superóxido dismutase e esterase não terem possibilitado à diferenciação dos lotes em cada época de avaliação (Figuras 3 e 4), o que foi possível com os testes fisiológicos, a expressão destas enzimas refletiu a perda de qualidade de todas as amostras ao longo do tempo de armazenamento. Este fato pode ser explicado pela maior sensibilidade dos testes fisiológicos em detectar as diferenças de qualidade dos lotes. Saath (2010) em seu trabalho verificou que a expressão da enzima superóxido dismutase e esterase são marcadores eficientes da qualidade de bebida, diferentemente do observado neste trabalho. Saath (2010) observou que nas amostras com redução substancial da atividade da superóxido dismutase, houve também redução da

qualidade de bebida. Resultado semelhante foi observado em relação à enzima catalase e esterase, as quais atuam em sinergismo com a enzima superóxido dismutase. Ainda segundo a autora, existe uma alta relação entre a qualidade de bebida e a atividade destes sistemas enzimáticos.

No entanto, ao observar o perfil eletroforético da isoenzima catalase, constata-se que é possível a distinção dos lotes, em cada época de avaliação. Na primeira avaliação, em grãos de café não submetidos ao armazenamento, a atividade da enzima catalase foi reduzida nos lotes com maior qualidade fisiológica, tais como os Lotes 4, 5, 6 e 7. Nos lotes de pior qualidade fisiológica houve alta atividade da enzima catalase, tais como nos Lotes 1 e 2. O Lote 10 apresentou alta atividade enzimática da catalase, tendo também apresentado baixa qualidade, segundo os resultados dos testes de tetrazólio e germinação, e baixa qualidade sensorial. Após três meses de armazenamento, não ocorreram diferenças na expressão da enzima catalase entre os lotes. Esta enzima apresentou mesma atividade nos lotes de melhor qualidade, e redução nos lotes de pior qualidade, em relação à primeira época de avaliação (Figura 5).

Após seis meses de armazenamento, os Lotes 4 e 7 apresentaram menor expressão da enzima catalase. Os demais lotes apresentaram expressão relativamente maior desta enzima (Figura 5). A enzima catalase atua na remoção de H_2O_2 produzido por outras enzimas, sendo que sua função está relacionada com a proteção das células contra estes compostos tóxicos durante o armazenamento dos cafês. Saath (2010) observou que a expressão da enzima catalase está relacionada com o nível de deterioração dos grãos de café, constatando menor atividade desta enzima, em grãos mais deteriorados, de acordo com os testes de germinação e de condutividade elétrica e qualidade sensorial.

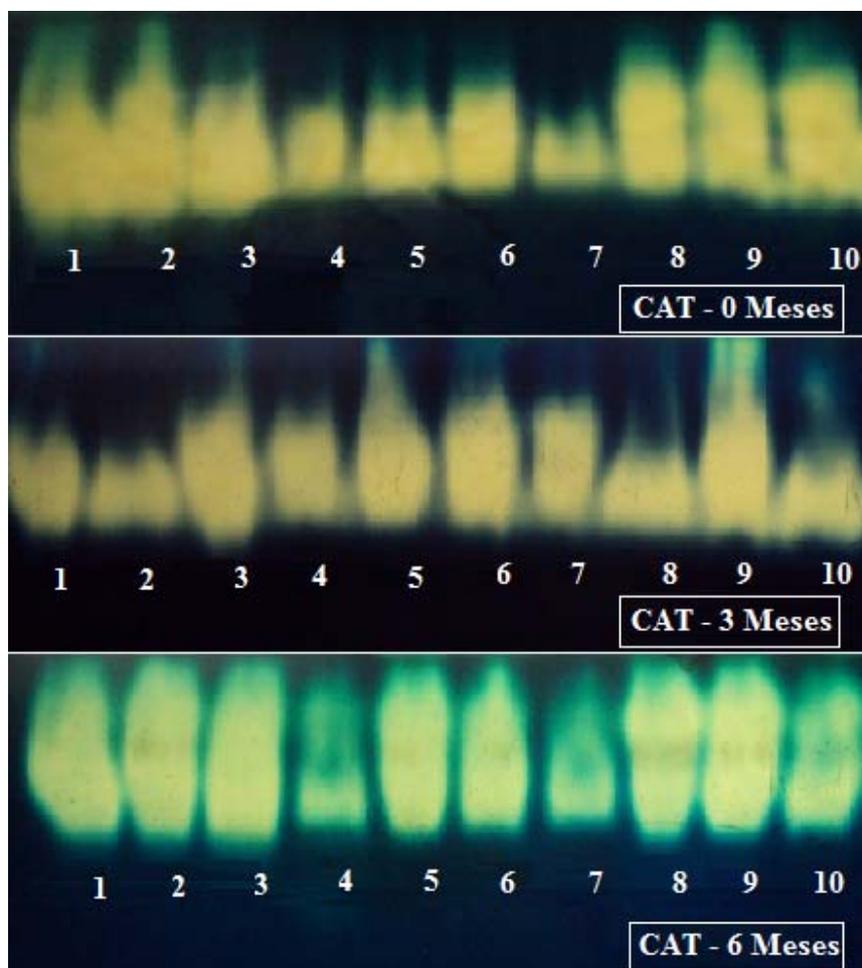


Figura 5 Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima catalase (CAT), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Enzimas envolvidas nos processos de respiração como a malato desidrogenase e a álcool desidrogenase, dentre outras, possuem um grande potencial como marcadores moleculares para monitorar e caracterizar a qualidade fisiológica de sementes (VEIGA et al., 2010). Na Figura 6, tem-se a expressão enzimática da enzima álcool desidrogenase (ADH), na primeira época

de avaliação e aos três e seis meses de armazenamento. Observa-se que os Lotes 1 e 10, de qualidade sensorial e fisiológica inferiores, apresentaram maior atividade da enzima álcool desidrogenase (Tabelas 5, 6 e 7). O Lote 6, apesar de ter apresentado qualidade sensorial e fisiológica superiores, também apresentou elevada expressão da álcool desidrogenase, quando comparado com os demais lotes.

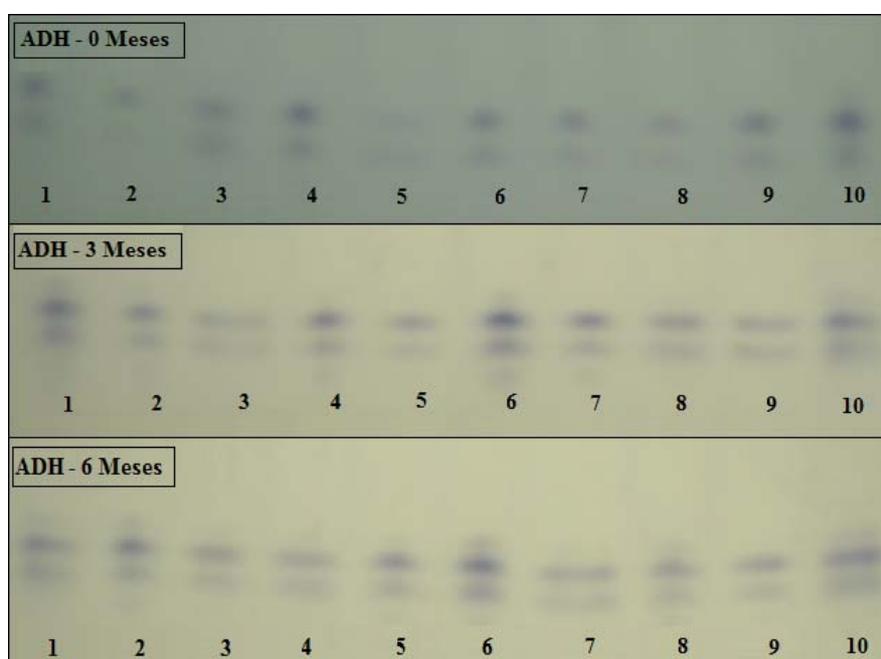


Figura 6 Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima álcool desidrogenase (ADH), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Ao observar a Figura 7, nota-se que não há evidências de diferenças na expressão da enzima malato desidrogenase (MDH) que possibilitassem a distinção dos lotes, em cada época de avaliação, conforme foi observado na avaliação da qualidade fisiológica e sensorial. Taveira et al. (2012), pesquisando a alteração na expressão da enzima malato desidrogenase com relação ao

processamento e secagem de grãos de café, também não detectou diferenciação na expressão desta enzima entre os tratamentos.

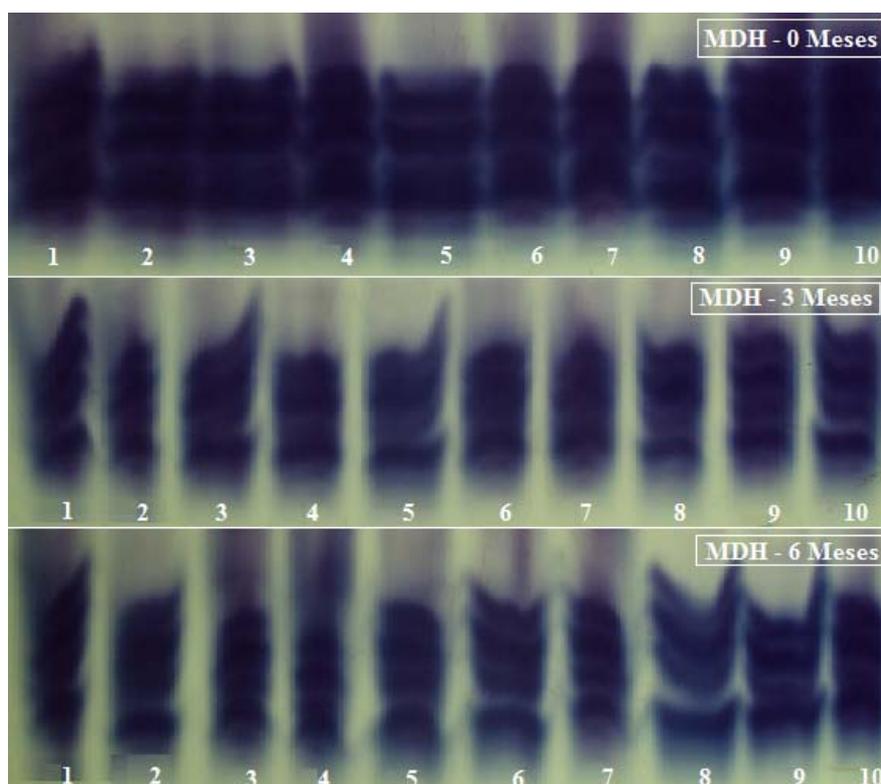


Figura 7 Padrões isoenzimáticos de grãos de café revelados para a enzima malato desidrogenase (MDH), ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

A atividade da enzima endo- β -mananase está relacionada com o processo de germinação das sementes de café, no entanto, não existem relatos na literatura que a associem com a qualidade da bebida do café. Foi realizada análise de variância dos resultados da enzima endo- β -mananase, com interação significativa dos fatores lote e tempo de armazenamento, nas épocas 0, 3 e 6 (Tabela 4A, APÊNDICE A). De acordo com a Figura 8, na primeira avaliação não houve diferenças significativas na expressão da enzima endo- β -mananase.

No entanto, aos três e seis meses de armazenamento a expressão enzimática diferiu entre os lotes. Aos três meses de armazenamento, os Lotes 3, 6, 7, 8 e 10 apresentaram maior atividade da endo- β -mananase, e o Lote 1 apresentou menor atividade. Aos seis meses de armazenamento, o Lote 3 apresentou maior atividade e os Lotes 8 e 10 menor atividade da enzima β -mananase.

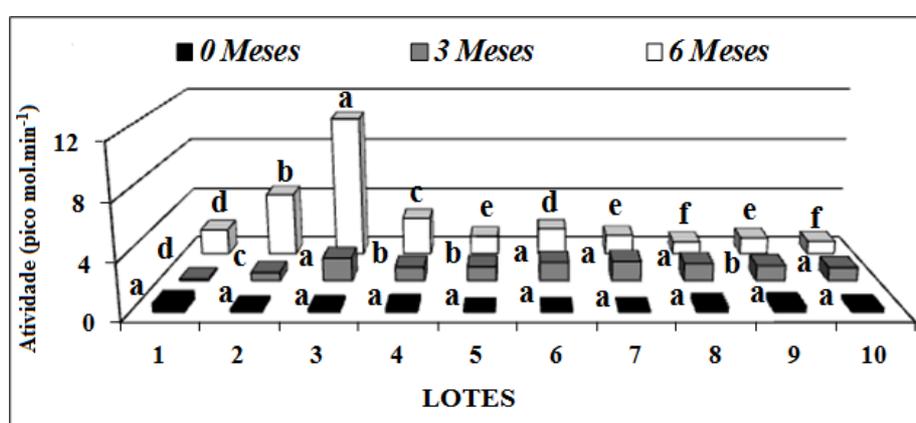


Figura 8 Médias da atividade enzimática da endo- β -mananase (pico mol.min⁻¹) em grãos de *Coffea arabica* L., ao 0, 3 e 6 meses de armazenamento.

¹Médias seguidas de mesma letra não diferenciam os lotes, em cada determinação da endo- β -mananase, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Foi realizada a análise de correlação entre os resultados da atividade da enzimática da endo- β -mananase e os aspectos da análise sensorial, em cada época de armazenamento. Os coeficientes de correlação encontram-se no Quadro 1. Observa-se que os coeficientes de correlação foram reduzidos e não significativos, mostrando que esta enzima possui baixa correlação com a qualidade de bebida.

Quadro 1 Resultados da análise de correlação entre a atividade enzimática da endo- β -mananase e a análise sensorial de grãos de *Coffea arabica* L., aos 0, 3 e 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Testes ¹	Atividade enzimática da endo- β -mananase		
	0 Meses	3 Meses	6 Meses
FA	0.05 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.19 ^{ns}
UN	-0.08 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.21 ^{ns}
AD	-0.05 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.21 ^{ns}
DÇ	-0.05 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.21 ^{ns}
SA	0.01 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.04 ^{ns}
AC	-0.24 ^{ns}	0.37 ^{ns}	0.17 ^{ns}
CO	0.09 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.02 ^{ns}
FI	-0.01 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	0.04 ^{ns}
EQ	-0.20 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.02 ^{ns}
FN	-0.08 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	0.06 ^{ns}
TO	-0.07 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.16 ^{ns}

¹FA: Fragrância e Aroma; UN: Uniformidade; AD: Ausência de Defeitos; DÇ: Doçura; SA: Sabor; AC: Acidez; CO: Corpo; FI: Finalização; EQ: Equilíbrio; FN: Final; TO: Total. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

Após seis meses de armazenamento dos grãos de café foi determinada a composição química, acidez titulável, sólidos solúveis, extrato etéreo, açúcares redutores, totais e não redutores dos grãos de café. Da análise de variância destes resultados, constatou-se que o fator lote foi significativo para todas as variáveis respostas (Tabela 5A, APÊNDICE A). Na Tabela 9 encontram-se os resultados de acidez, sólidos solúveis, extrato etéreo e açúcares redutores, não redutores e totais dos grãos de café, após seis meses de armazenamento. Foi realizada a análise de correlação entre os dados da composição química e os aspectos relativos à qualidade sensorial dos grãos de café (Quadro 2).

Tabela 9 Resultados da acidez total titulável (ACT), dos sólidos solúveis (SOS), do extrato etéreo (EXE), dos açúcares redutores (AÇR), açúcares não redutores (AÇNR) e açúcares totais (AÇT) de grãos de *Coffea arabica* L., após 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	ACT	SOS	EXE	AÇR	AÇNR	AÇT
	- mL de NaOH 100 g ⁻¹ -	----- % -----				
1	205 d	27.50 c	12.435 c	0.495 d	7.200 a	8.075 c
2	200 d	27.50 c	12.390 c	0.550 c	7.195 a	8.125 c
3	200 d	30.00 b	12.680 b	0.695 a	7.765 a	8.875 a
4	190 c	30.00 b	12.150 d	0.655 b	7.590 a	8.650 b
5	165 b	32.50 a	11.890 d	0.575 c	7.670 a	8.655 b
6	150 a	31.25 a	12.910 a	0.575 c	7.950 a	8.950 a
7	160 b	32.50 a	12.000 d	0.590 c	7.750 a	8.750 b
8	190 c	32.50 a	11.320 e	0.705 a	7.830 a	8.950 a
9	150 a	28.75 b	12.260 c	0.700 a	7.470 a	9.070 a
10	195 c	32.50 a	12.850 a	0.590 c	7.560 a	8.550 b
CV (%)	2.15	2.59	0.66	2.47	2.63	1.00

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

Quadro 2 Resultados da análise de correlação entre os dados da composição química e da análise sensorial de grãos de *Coffea arabica* L., após 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Testes ¹	ACT	SOS	EXE	AÇR	AÇT	AÇNR
FA	0.57**	-0.34*	0.41**	-0.18 ^{ns}	-0.44**	-0.41**
UN	-0.19 ^{ns}	-0.21 ^{ns}	-0.42**	0.38*	0.23 ^{ns}	-0.03 ^{ns}
AD	-0.23 ^{ns}	-0.33*	-0.41**	0.11 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.05 ^{ns}
DÇ	-0.23 ^{ns}	-0.33*	-0.41**	0.11 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.05 ^{ns}
SA	-0.23 ^{ns}	-0.33*	-0.41**	0.11 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.05 ^{ns}
AC	-0.48**	-0.04 ^{ns}	-0.41**	0.35*	0.35*	0.24 ^{ns}
CO	-0.21 ^{ns}	-0.55**	-0.30 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.04 ^{ns}	-0.19 ^{ns}
FI	-0.47**	-0.21 ^{ns}	-0.38*	0.34*	0.31*	0.06 ^{ns}
EQ	-0.49**	0.00 ^{ns}	-0.40**	0.43**	0.46**	0.29 ^{ns}
FN	-0.38*	-0.20 ^{ns}	-0.48**	0.10 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.05 ^{ns}
TO	-0.32*	-0.11 ^{ns}	-0.57**	0.44**	0.32*	0.12 ^{ns}

¹FA: Fragrância e Aroma; UN: Uniformidade; AD: Ausência de Defeitos; DÇ: Doçura; SA: Sabor; AC: Acidez; CO: Corpo; FI: Finalização; EQ: Equilíbrio; FN: Final; TO: Total; ACT: Acidez total titulável; SOS: Sólidos solúveis; EXE: Extrato etéreo; AÇR: Açúcares redutores; AÇT: Açúcares totais; AÇNR: Açúcares não redutores. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

Os valores médios de acidez titulável permitiram a diferenciação dos lotes em quatro classes distintas. No entanto a correlação entre a acidez titulável e a nota total da análise sensorial foi de apenas 0.32. Este resultado demonstra a inconsistência do atributo acidez titulável em refletir a qualidade dos grãos de café, uma vez que o índice de correlação entre a acidez titulável e o aspecto acidez, segundo a nota da escala SCAA, foi de apenas 0.48, com relação inversa (Quadro 2). Este resultado é contraditório, visto que se esperava uma elevada correlação entre os aspectos por tratarem de sensações semelhantes ao paladar do analista. Estes resultados se contrapõem aos resultados nos trabalhos de Afonso Junior (2001), quem demonstrou que a acidez é um bom indicativo da qualidade do café.

Malta, Santos e Silva (2002) avaliaram amostras de grãos de café cereja de oito cultivares com relação à acidez titulável total e condutividade elétrica. Os autores verificaram que o cultivar Acaia do cerrado apresentou maiores valores de condutividade elétrica e acidez titulável total, sendo classificado com qualidade inferior de bebida.

Os valores de extrato etéreo estão dentro do estabelecido pela legislação (BRASIL, 2003), com valores aproximados de 11% a 13% (Tabela 9). No entanto, o índice de correlação entre o extrato etéreo e a nota global da análise sensorial da bebida de café foi de apenas -0.57 (Quadro 2). Barbosa, Silva e Regazzi (2002) e Saath (2010) também verificaram que não há relação entre a qualidade dos grãos e os resultados de s extrato etéreo dos mesmos. Os baixos índices de correlação entre os testes corroboram esta afirmação, visto que os valores de extrato etéreo não propiciaram a diferenciação dos lotes conforme a análise sensorial.

Conforme Tabela 9, a variável sólidos solúveis permitiu a diferenciação dos lotes em três classes, sendo que este índice correlacionou-se negativamente com a análise sensorial, com valor de apenas 0.11 (Quadro 2). Estes resultados

demonstram que a quantidade de sólidos solúveis não está intimamente relacionada com os aspectos sensoriais da qualidade de bebida.

Para a variável açúcares totais (sacarose, glicose, frutose, manose), ocorreu a separação dos lotes em três classes distintas (Tabela 9). Já o índice de correlação entre a nota global da análise sensorial e os açúcares totais foi de apenas 0.32 (Quadro 2). Sendo esta, portanto, uma variável com baixa associação com a análise de qualidade de bebida. Os valores de açúcares totais em grãos de café encontram-se entre 8 a 9.5%, de acordo com Borém et al. (2008) e Pimenta e Vilela (2002). Para a variável açúcares não redutores, os lotes não diferiram estatisticamente, sendo desta forma, agrupados na mesma classe (Tabela 9). O índice de correlação entre os resultados de açúcares não redutores e da análise sensorial foi de apenas 0.12 (Quadro 2). Já para os açúcares redutores (glicose, frutose, manose), os lotes foram estratificados em quatro classes, sendo que o Lote1 apresentou o pior resultado, correspondendo à classe D, e os Lotes 3, 9 e 8, os melhores resultados, correspondendo a classe A (Tabela 9). O índice de correlação entre os açúcares redutores e a análise sensorial foi de 0.44 (Quadro 2).

Saath (2010) defende que maiores quantidades de açúcares são encontrados em grãos de café classificados sensorialmente como de melhor bebida. No entanto, neste trabalho este aspecto não foi observado.

4 CONCLUSÕES

Existe alta correlação entre os resultados da análise sensorial e dos testes fisiológicos e bioquímicos, sendo que os testes de tetrazólio, de protrusão radicular e de condutividade elétrica apresentam altas correlações com a qualidade do café, com índices de correlação significativos e superiores a 0,85. Os resultados de plântulas normais fortes e lixiviação de potássio tiveram reduzida correlação com a análise sensorial.

Os testes fisiológicos são mais sensíveis em detectar alterações da qualidade de grãos de café, quando comparados com a análise sensorial.

A expressão das enzimas superóxido dismutase, esterase, catalase, álcool desidrogenase, malato desidrogenase e são marcadores pouco precisos da qualidade de bebida do café, apesar de demonstrarem a perda da qualidade ao longo do armazenamento.

A atividade enzimática da endo- β -mananase, bem como os resultados de composição química, apresentam baixas correlações com os resultados da análise sensorial de grãos de café.

REFERÊNCIAS

- AFONSO JÚNIOR, C. **Aspectos físicos, fisiológicos e de qualidade do café em função da secagem e do armazenamento**. 2001. 384 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.
- AFONSO JÚNIOR, P. C. et al. Contribuição das etapas do pré-processamento para a qualidade do café. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 29, n. 8, p. 6-53, 2004. Edição especial.
- AGUIAR, A. T. E. et al. Variação no teor de lipídios em grãos de variedades de *Coffea Canephora*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 12, p. 1251-1254, dez. 2005.
- ALFENAS, A. C. **Eletroforese de enzimas e proteínas afins**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 574 p.
- AMORIM, H. V. **Aspectos bioquímicos e histoquímicos do grão de café verde relacionados com a deterioração da qualidade**. 1978. 85 f. Tese (Livre Docência em Bioquímica) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1978.
- ANGÉLICO, C. L. et al. Diferentes estádios de maturação e tempos de ensacamento sobre a qualidade do café. **Coffee Science**, Lavras, v. 6, n. 1, p. 8-19, jan./mar. 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15th ed. Washington, 1990. 2 v.
- BARBOSA, R. M.; SILVA, P. H. A.; REGAZZI, A. J. Composição química de seis categorias da bebida café previamente classificada pelo teste da xícara. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, n. 4, p. 45-51, 2002. Especial café.
- BEWLEY, J. D. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration in storage. In: MCDONALD, M. B.; NELSON, C. J. (Ed.). **Physiology of seed deterioration**. Madison: Crop Science Society American, 1986. p. 27-45.

BORÉM, F. M. Processamento do café. In: _____. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008. p. 127-158.

BORÉM, F. M. et al. Qualidade do café natural e despulpado após a secagem em terreiro e com altas temperaturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1609-1615, set./out. 2008.

BRANDÃO JÚNIOR, D. da S.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 114-121, 1999.

BRANDÃO JÚNIOR, D. da S.; VIEIRA, M. G. G. C.; HILHOST, H. W. Aquisição da tolerância à dessecação nos diferentes estádios de desenvolvimento de sementes de cafeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 4, p. 673-681, jul./ago. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 11 de junho de 2003. Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 13 jun. 2003a. Seção 1, p. 22-29. Disponível em: <<http://www.ministério.gov.com.br>>. Acesso em: 12 nov. 2012.

_____. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.

BYTOF, G. et al. Transient occurrence of seed germination processes during coffee post-harvest treatment. **Annals of Botany**, London, v. 100, n. 1, p. 61-66, Jan. 2007.

CARDOSO, D. Venda de café especial para os E.U.A. **Gazeta Mercantil**, São Paulo, 19 abr. 2002. Suplemento Agribusiness, p. 22, c. 1-5.

CHAGAS, S. J. R.; MALTA, M. R.; PEREIRA, R. G. F. A. Potencial da região sul de Minas Gerais para a produção de cafés especiais: I, atividade da polifenoloxidase, condutividade elétrica e lixiviação de potássio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 590-597, maio/jun. 2005.

CLEMENTE, A. C. S. et al. Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 38-44, jul. 2011.

CORADI, P. C. et al. Effect of drying and storage conditions on the quality of natural and washed coffee. **Coffe Science**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 38-47, Jan./June 2007.

DOWNIE, B.; HILHORST, H. W. M.; BEWLEY, J. D. A new assay for quantifying endo- α -mannanase activity using Congo Red dye. **Phytochemistry**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 829-835, July 1994.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour?: I., coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990.

FAVARIN, J. L. et al. Qualidade da bebida de café de frutos cereja submetido a diferentes manejos póscolheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 187-192, fev. 2004.

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas (statistical analysis software) e planejamento de experimentos - SISVAR 5.0, build 67**. Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software.

HAMID, A. A. et al. Characterisation of antioxidative activities of various extracts of *Centella asiatica* (L) Urban. **Journal of Food Chemistry**, Washington, v. 77, n. 4, p. 465-469, June 2002.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; DENNIS, J. B. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Amsterdam, v. 13, n. 10, p. 572-584, Oct. 2002.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Green coffee**: determination of loss mass at 105 °C, ISO 6673. Geneva, 1999. 4 p.

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook**: a systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor. Washington: Coffee Development Group, 1986. 32 p.

MALTA, M. R.; SANTOS, M. L.; SILVA, F. A. M. Qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1385-1390, 2002.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

NAKADA, P. G. et al. Desempenho durante o armazenamento de sementes de pepino submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 42-51, 2010.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-21.

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

OLIVEIRA, P. D. **Aspectos ultraestruturais e fisiológicos associados à qualidade da bebida de café arábica submetido a diferentes métodos de processamento e secagem**. 2010. 109 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

PIMENTA, C. J. **Qualidade do café**. Lavras: UFLA, 2004. 304 p.

PIMENTA, C. J.; VILELLA, E. R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras/MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 1481-1491, dez. 2002. Número especial.

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 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1992.

ROMERO, J. C. P.; ROMERO, J. P.; GOMES, F. P. Condutividade elétrica (CE) do exsudato de grãos de *Coffea arabica* em 18 cultivares analisados no período de 1993 a 2002. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 78, n. 3, p. 293-302, dez. 2003.

ROSA, S. D. V. F. et al. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas lea associadas à tolerância de sementes milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 91-101, 2005.

SAATH, R. **Qualidade do café natural e despulpado em diferentes condições de secagem e tempos de armazenamento**. 2010. 246 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2010.

SELMAR, D. et al. Biochemical insights into coffee processing: quality and nature of green coffee are interconnected with an active seed metabolism. In: INTERNATIONAL CONFERENCE IN COFFEE SCIENCE, 20., 2004, Bangalore. **Proceedings...** Bangalore: ASIC, 2004. 1 CD-ROM.

SILVA, E. A. A. da et al. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* L., cv. Rubi) seed germination. **Planta**, Berlin, v. 220, n. 2, p. 251-261, Dec. 2004.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009, Reno. **Proceedings...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. 1 CD-ROM.

TAVEIRA, J. H. S. et al. Perfis proteicos e desempenho fisiológico de sementes de café submetidas a diferentes métodos de processamento e secagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 10, p. 1413-1554, out. 2012.

VEIGA, A. D. et al. Armazenabilidade de sementes de cafeeiro colhidas em diferentes estádios de maturação e submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 83-91, jan. 2007.

_____. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 953-960, jul./ago. 2010.

APÊNDICE A

Tabela 1A Resumo das análises de variância das variáveis fragrância/aroma (FA), sabor (AS), acidez (AC), corpo (CO), finalização (FZ), equilíbrio (EQ), final (FN) e nota total (NT) do teste de análise sensorial, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios							
		FA	AS	AC	CO	FZ	EQ	FN	NT
Lotes (L)	9	0,6222*	1,3593*	1,0000*	0,9352*	1,0782*	1,0412*	0,9741*	429,2481*
Épocas (E)	2	0,3792*	0,0542 ^{ns}	0,0542*	0,0792*	0,4875*	0,6542*	0,0792*	5,7542*
L X E	18	0,2125*	0,2301*	0,0958*	0,2782*	0,2977*	0,1495*	0,2227*	7,6523*
Erro	30	0,0250	0,0167	0,0083	0,0083	0,0292	0,0292	0,0167	1,2750
CV (%)		2,22	1,80	1,29	1,24	2,41	2,39	1,84	1,45

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Tabela 2A Resumo das análises de variância das variáveis protrusão radicular (PR), germinação (G), plântulas normais fortes (PNF), folhas cotiledonares (FC), massa seca de raiz (MSR) e massa seca de hipocótilo (MSH), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios					
		PR	G	PNF	FC	MSR	MSH
Lotes (L)	9	8820,3741*	8925,0556*	1207,3370*	5119,2630*	0,000073*	0,000202*
Épocas (E)	2	156,6333*	58,6333 ^{ns}	1302,3000*	5925,1000*	0,000017*	0,000002 ^{ns}
L X E	18	112,9296*	187,6333*	139,6704*	437,8407*	0,000005*	0,000004*
Erro	90	25,2111	51,3222	52,5667	65,0111	4,882055E-0007	0,000001
CV (%)		6,26	12,26	41,31	18,56	13,71	13,65

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Tabela 3A Resumo das análises de variância das variáveis condutividade elétrica (CE), lixiviação de potássio (LK) e tetrazólio (TZ), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios		
		CE	LK	TZ
Lotes (L)	9	4936,1510*	1904,2592*	9077,0370*
Épocas (E)	2	8,8727 ^{ns}	1,0805 ^{ns}	1355,2000*
L X E	18	8,0650 ^{ns}	13,3963*	178,0148*
Erro	90	7,5473	3,6407	27,8222*
CV (%)		12,49	6,90	6,59

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Tabela 4A Resumo da análise de variância da atividade enzimática da endo- β -mananase de grãos de café, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio
		Atividade da endo- β -mananase
Lotes (L)	9	9,4594*
Épocas (E)	2	49,5126*
L X E	18	8,5444*
Erro	60	0,0707
CV (%)		19,31

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Tabela 5A Resumo das análises de variância das variáveis de composição química dos grãos de café, após 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios					
		Acidez	Sólidos Solúveis	Extrato etéreo	Açúcares redutores	Açúcares Não redutores	Açúcares Totais
Lotes (L)	9	949,4444*	8,4722*	0,4637*	0,0103*	0,1272*	0,2291*
Erro	10	15,0000	0,6250	0,0065	0,0002	0,0400	0,0075
CV (%)		2,15	2,59	0,66	2,47	2,63	1,00

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Quadro 1A Resultados da análise de correlação entre os dados dos testes fisiológicos e da análise sensorial de grãos de café, antes do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Testes ¹	FA	UN	AD	DÇ	SA	AC	CO	FI	EQ	FN	TO
PR	0.45**	0.76**	0.90**	0.90**	0.76**	0.75**	0.27 ^{ns}	0.54**	0.66**	0.65**	0.88**
PN	0.54**	0.63**	0.73**	0.73**	0.60**	0.70**	0.34*	0.51**	0.65**	0.58**	0.75**
PN Fortes	0.57**	0.53**	0.49**	0.49**	0.52**	0.54**	0.42**	0.73**	0.74**	0.67**	0.61**
FC	0.46**	0.58**	0.62**	0.62**	0.59**	0.59**	0.39*	0.46**	0.55**	0.47**	0.65**
MSR	0.50**	0.67**	0.68**	0.68**	0.58**	0.66**	0.49**	0.44**	0.62**	0.56**	0.72**
MSH	0.59**	0.60**	0.73**	0.73**	0.60**	0.69**	0.29 ^{ns}	0.56**	0.69**	0.62**	0.75**
TZ	0.20 ^{ns}	0.90**	0.94**	0.94**	0.83**	0.84**	0.44**	0.63**	0.68**	0.74**	0.94**
CE	-0.48**	-0.71**	-0.90**	-0.90**	-0.76**	-0.77**	-0.18 ^{ns}	-0.58**	-0.66**	-0.66**	-0.87**
LK	-0.61**	-0.27 ^{ns}	-0.51**	-0.51**	-0.45**	-0.46**	0.15 ^{ns}	-0.47**	-0.47**	-0.47**	0.50**

¹FA: Fragrância e Aroma; UN: Uniformidade; AD: Ausência de Defeitos; DÇ: Doçura; SA: Sabor; AC: Acidez; CO: Corpo; FI: Finalização; EQ: Equilíbrio; FN: Final; TO: Total; PR: Protrusão radicular; PN: Plântulas normais; PN Fortes: Plântulas normais fortes; FC: Folhas cotiledonares abertas aos 45 dias; MSR: Massa seca da raiz; MSH: Massa seca do hipocótilo; TZ: Tetrazólio; CE: Condutividade elétrica; LK: Lixiviação de potássio. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

Quadro 2A Resultados da análise de correlação entre os dados dos testes fisiológicos e da análise sensorial de grãos de café, após 3 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Testes ¹	FA	UN	AD	DÇ	SA	AC	CO	FI	EQ	FN	TO
PR	0.83**	0.97**	0.97**	0.97**	0.86**	0.84**	0.95**	0.67**	0.62**	0.73**	0.97**
PN	0.70**	0.72**	0.72**	0.72**	0.79**	0.72**	0.77**	0.37*	0.60**	0.50**	0.73**
PN Fortes	0.45**	0.45**	0.45**	0.45**	0.43**	0.44**	0.53**	0.11 ^{ns}	0.52**	0.36*	0.46**
FC	0.61**	0.68**	0.68**	0.68**	0.72**	0.64**	0.74**	0.33*	0.56**	0.47**	0.69**
MSR	0.68**	0.67**	0.67**	0.67**	0.74**	0.70**	0.75**	0.32*	0.65**	0.49**	0.70**
MSH	0.69**	0.70**	0.70**	0.70**	0.78**	0.72**	0.76**	0.36*	0.61**	0.51**	0.72**
TZ	0.83**	0.98**	0.98**	0.98**	0.88**	0.85**	0.94**	0.69**	0.59**	0.73**	0.97**
CE	-0.82**	-0.90**	-0.90**	-0.90**	-0.85**	-0.82**	-0.87**	-0.56**	-0.54**	-0.65**	-0.89**
LK	-0.36*	-0.37*	-0.37*	-0.37*	-0.43**	-0.36*	-0.36*	-0.03 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	-0.35*

¹FA: Fragrância e Aroma; UN: Uniformidade; AD: Ausência de Defeitos; DÇ: Doçura; SA: Sabor; AC: Acidez; CO: Corpo; FI: Finalização; EQ: Equilíbrio; FN: Final; TO: Total; PR: Protrusão radicular; PN: Plântulas normais; PN Fortes: Plântulas normais fortes; FC: Folhas cotiledonares abertas aos 45 dias; MSR: Massa seca da raiz; MSH: Massa seca do hipocótilo; TZ: Tetrazólio; CE: Condutividade elétrica; LK: Lixiviação de potássio. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

Quadro 3A Resultados da análise de correlação entre os dados dos testes fisiológicos e da análise sensorial de grãos de café, após 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Testes ¹	FA	UN	AD	DÇ	SA	AC	CO	FI	EQ	FN	TO
PR	0.76**	0.94**	0.94**	0.94**	0.71**	0.79**	0.76**	0.80**	0.89**	0.81**	0.94**
PN	0.73**	0.68**	0.68**	0.68**	0.72**	0.57**	0.70**	0.79**	0.77**	0.76**	0.75**
PN Fortes	0.68**	0.51**	0.51**	0.51**	0.66**	0.52**	0.69**	0.72**	0.66**	0.71**	0.62**
FC	0.74**	0.66**	0.66**	0.66**	0.71**	0.55**	0.69**	0.78**	0.77**	0.77**	0.73**
MSR	0.72**	0.65**	0.65**	0.65**	0.67**	0.51**	0.64**	0.75**	0.73**	0.71**	0.71**
MSH	0.73**	0.66**	0.66**	0.66**	0.70**	0.55**	0.68**	0.78**	0.76**	0.75**	0.73**
TZ	0.75**	0.95**	0.95**	0.95**	0.66**	0.79**	0.73**	0.74**	0.89**	0.78**	0.94**
CE	-0.69**	-0.89**	-0.89**	-0.89**	-0.63**	-0.68**	-0.65**	-0.71**	-0.82**	-0.72**	-0.86**
LK	-0.43**	-0.52**	-0.52**	-0.52**	-0.43**	-0.31**	-0.38**	-0.49**	-0.54**	-0.43**	-0.51**

¹FA: Fragrância e Aroma; UN: Uniformidade; AD: Ausência de Defeitos; DÇ: Doçura; SA: Sabor; AC: Acidez; CO: Corpo; FI: Finalização; EQ: Equilíbrio; FN: Final; TO: Total; PR: Protrusão radicular; PN: Plântulas normais; PN Fortes: Plântulas normais fortes; FC: Folhas cotiledonares abertas aos 45 dias; MSR: Massa seca da raiz; MSH: Massa seca do hipocótilo; TZ: Tetrázólio; CE: Condutividade elétrica; LK: Lixiviação de potássio. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

CAPÍTULO 3

APLICAÇÃO DO PRINCÍPIO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAR A QUALIDADE DE BEBIDA DE CAFÉ, POR PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS

RESUMO

O teste de tetrazólio é amplamente utilizado na avaliação da viabilidade de sementes de café. Na produção de grãos de café destinados a torrefação, não se faz necessária a avaliação da viabilidade dos grãos. No entanto, estudos recentes, demonstram alta associação entre a viabilidade do endosperma de grãos de café e a qualidade de bebida. Neste sentido, objetivou-se com este trabalho a aplicação do princípio do teste de tetrazólio para avaliar a coloração do endosperma dos grãos de café, por meio do processamento digital de imagens, bem como da análise visual das imagens, como indicadores da qualidade do café. Foram utilizados 10 lotes de café, os quais foram armazenados em câmara fria a 10°C e avaliados antes e após, 3 e 6 meses de armazenamento. Os grãos de café foram submetidos à análise sensorial e ao teste de tetrazólio modificado, o qual consistiu na avaliação da coloração de endospermas seccionados transversalmente e mantidas em solução de tetrazólio 0,1% a 30 °C por 24 horas, quando foram capturadas as imagens, por meio de escâner invertido. As imagens foram processadas automaticamente, por meio do programa Matlab, utilizando-se as bandas do vermelho, verde e azul do espectro, sendo calculados índices em diferentes thresholds (limiares). Foram, também, calculados índices a partir de avaliações visuais (IAV), atribuindo-se notas de 0 a 5, de acordo com o padrão de coloração. Os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de correlação. Os limiares 0,6; 0,8 e 1,0, da banda verde, e 0,8, da banda azul, apresentam elevada correlação com a análise sensorial dos grãos de café. O índice de análise visual da coloração do endosperma dos grãos de café (IAV) também apresenta elevada correlação com a análise sensorial. Conclui-se que o teste de tetrazólio modificado, utilizando o processamento digital de imagens, é uma ferramenta promissora para complementar a análise sensorial de café, sendo de grande interesse, a execução de pesquisas adicionais para viabilizar sua utilização.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L. Processamento Digital de Imagens. Análise sensorial. Teste de tetrazólio.

ABSTRACT

The tetrazolium test is widely used to assess the viability of coffee seeds. In the production of coffee beans for roasting, it is not necessary to assess the viability of the grains. However, recent studies demonstrate a high correlation between viability endosperm tissue of the coffee grains and maintaining the quality of the beverage. In this sense, the aim of this work was the application of the tetrazolium test to assess the color of the endosperm tissue of the coffee beans through digital image processing and visual analysis of the images, as indicators of quality of the beverage. 10 batches of coffee beans were used, which were stored in a cold chamber at 10 ° C and analyzed at 0, 3 and 6 months of storage, providing a 10 x 3 factorial design. The grains were subjected to sensory analysis and to the modified tetrazolium test, which consisted of the evaluation of the staining of 50 coffee beans sectioned for each repetition. The sectioned grains were maintained in 0.1% tetrazolium solution at 30 ° C for 24 hours, when the images were captured, via inverse scanner. The images were processed automatically using the Matlab program, using the bands of red, green and blue of the spectrum; indices were calculated in different thresholds. Indices were also calculated from visual evaluations (IAV) by assigning scores from 0 to 5, according to the staining pattern. The results were submitted to analysis of variance and correlation test. The thresholds 0.6, 0.8 and 1.0 of the green band, and the threshold 0.8 of the blue one showed high correlation with the sensory analysis of the coffee grains. The index of visual analysis of the color of endosperm of coffee beans (IAV) also showed high correlation with sensory analysis. We conclude that the modified tetrazolium test, using the digital image processing is a promising tool to complement the sensory analysis of coffee beverage, it is of great interest the implementation of additional research to allow its use.

Keywords: *Coffea arabica* L. Digital Image Processing. Sensory analysis. Tetrazolium test.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade do café é de substancial importância para a valorização do produto frente ao mercado internacional (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION - ICO, 2011). A avaliação da qualidade da bebida de cafés fundamenta-se em parâmetros de natureza física e química dos grãos, além da análise sensorial. Estudos documentam a subjetividade e as algumas inconsistências dos resultados obtidos pelas análises sensoriais e químicas de grãos de café e a necessidade de identificar testes mais consistentes aos métodos tradicionais de classificação (CHAGAS, 1994; PIMENTA; CHAGAS; COSTA, 1997; SOUZA, 1996).

O sal 2,3,5 trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio é amplamente utilizado como agente de coloração para avaliar a viabilidade de sementes, sendo recomendado para avaliação rotineira de sementes de café (BRASIL, 2009). O tetrazólio é facilmente absorvido nos tecidos vegetais, o qual é reduzido ao composto denominado trifenilformazan corante vermelho indifusível que confere coloração vermelha ao tecido vivo do embrião, devida à atividade de enzimas desidrogenases. Desta forma, o tecido vivo é marcado em vermelho brilhante, enquanto o tecido morto permanece inalterado, fornecendo uma maneira fácil e eficaz para avaliar a viabilidade das sementes (DELOUCHE et al., 1976).

Para os lotes de café destinados ao consumo, ou seja, para os grãos de café com fins de torrefação e moagem, não existe a necessidade de comprovar a viabilidade dos embriões, pois os grãos não serão conduzidos à formação de mudas. Além disso, a avaliação da viabilidade do embrião, que constitui uma parte mínima do total do grão de café, não é considerada como um índice de qualidade de bebida. No entanto, em estudos recentes foi demonstrado que o endosperma viável, maior fração do grão de café e um tecido vivo que colore

quando embebido em solução do sal de tetrazólio, possui ampla relação com qualidade sensorial da bebida de grãos de café (TERRA et al., 2010).

Neste sentido, a utilização da análise de imagem vem destacando-se como uma importante ferramenta, aliada a métodos de análises tradicionais utilizadas, dando confiabilidade e precisão aos resultados. Três etapas são necessárias no processamento de imagens: i) a captura da imagem, ii) a segmentação da imagem e iii) a extração de dados da imagem. A etapa de captura é o momento da formação da imagem com o uso de um dispositivo físico como uma câmera digital ou um escaner. A etapa de segmentação visa à separação do objeto (região de interesse da imagem) em relação ao fundo (região sem interesse). Após a segmentação são realizadas medidas dos objetos segmentados, o que constitui a etapa de extração de dados (GONZALEZ; WOODS, 2010).

Assim, objetivou-se com este trabalho investigar a aplicação do princípio do teste de tetrazólio para avaliar a coloração dos endospermas dos grãos de café, utilizando-se índices calculados por meio do processamento digital de imagens nas bandas do vermelho, verde e azul em diferentes thresholds (limiares) e da análise visual das imagens, para correlacionar com a qualidade sensorial da bebida.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada no Laboratório Central de Análise de Sementes, do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, MG. Foram selecionados 10 lotes de grãos de café (*Coffea arabica* L.), de diferentes qualidades, os quais foram obtidos de diferentes métodos de processamento e de secagem. Os grãos foram beneficiados, acondicionados em embalagens plásticas e armazenados em câmara fria regulada à temperatura de 10 °C e umidade relativa do ar a 45% ± 1%, por um período de seis meses, de novembro de 2011 até maio de 2012. O armazenamento somente teve como finalidade a obtenção de grãos de café de diferentes níveis de qualidade.

Os grãos de café foram submetidos à análise sensorial e ao teste de tetrazólio modificado, antes e após três e seis meses de armazenamento por meio dos testes descritos abaixo.

Análise sensorial: foi realizada por dois provadores treinados e qualificados como juízes certificados de cafés especiais, utilizando-se a metodologia proposta pela Associação Americana de Cafés Especiais (SCCA), para a avaliação sensorial de cafés especiais (LINGLE, 1986). Foram atribuídas notas, no intervalo de 0 a 10 pontos, para cada um dos atributos de fragrância/aroma, uniformidade, ausência de defeitos, doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio e final. Em cada avaliação foram degustadas cinco xícaras de café representativas de cada lote. Os resultados finais da avaliação sensorial foram constituídos pela soma de todos os atributos, representando a nota total.

Teste de tetrazólio modificado: foi realizado associado a um programa computacional de análise de imagens para determinar índices de coloração nos tecidos dos grãos de café. O teste foi realizado utilizando-se quatro repetições de 25 grãos, totalizando 100 grãos em cada lote. Inicialmente os grãos foram embebidos em água por 36 horas a 30°C, para facilitar o corte transversal dos mesmos, com auxílio de bisturi. Em seguida, os grãos seccionados foram mantidos em solução antioxidante de polivinilpirrolidona (PVP), desde o momento do corte até serem imersos na solução de tetrazólio. Ao término dos cortes, as partes dos grãos foram lavadas em água e embebidas em solução de tetrazólio 0,1% utilizando frascos escuros e mantidas à temperatura de 30°C por 24 horas. A concentração do sal de tetrazólio e o tempo de coloração das partes foram determinados após a realização de pré-testes. Após coloração, as partes seccionadas dos grãos foram cuidadosamente lavadas para remoção do excesso de sal e distribuídas em placas de vidro de 5mm de espessura, com as faces planas viradas para cima, totalizando 50 partes de grãos por lote, em cada placa de vidro. As imagens foram capturadas (300 dpi) em escaner HP Scanjet G2410, operado por *software* Photosmart, com resolução de 100 dpi, e salvas no formato TIFF. A imagem foi feita com o fundo branco padronizado para garantir uma homogeneidade e contraste com as partes dos grãos de café coloridos, conforme Figura 1. No entanto, não houve controle do brilho no escaner durante o processo de aquisição das imagens.

Após a aquisição das imagens, estas foram processadas automaticamente, por meio do programa Matlab R2009b com as *toolboxes* de processamento de imagens e a SDC Morphology Toolbox 1.6. O processamento automático foi feito com o uso de técnicas de processamento digital de imagens (GONZALEZ; WOODS, 2010) e morfologia matemática (DOUGHERTY; LOTUFO, 2003), que consistiu nos seguintes passos:

Passo 1: Isolamento da repetição

Neste primeiro passo, as imagens que continham duas repetições, foram submetidas ao isolamento, na qual cada repetição foi colocada em um novo arquivo.

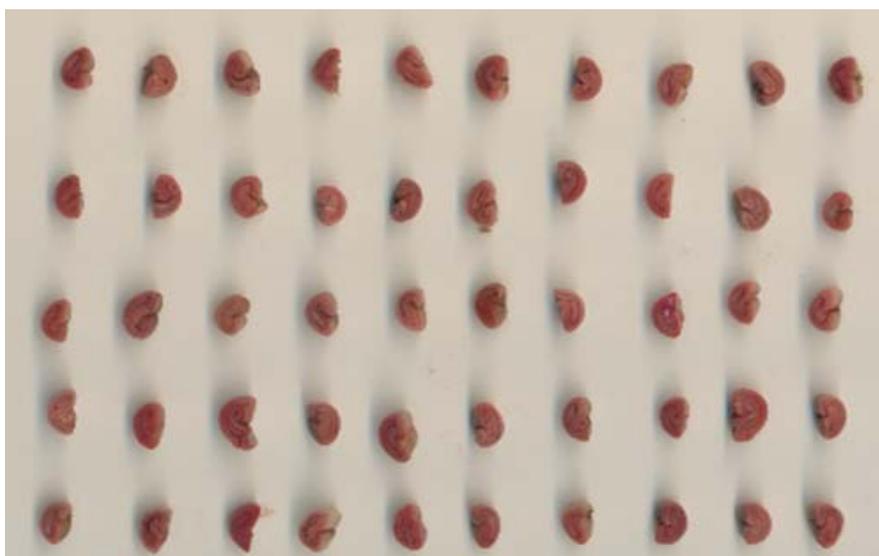


Figura 1 Ilustração da etapa de isolamento das imagens de cada repetição, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Passo 2: Segmentação das partes dos grãos

Após o isolamento de cada repetição, a imagem foi segmentada, ou seja, foram detectadas as partes dos grãos de café na imagem. Para a distinção das partes na imagem, foi utilizada a banda azul, uma vez que esta banda apresentou melhor contraste das partes dos grãos em relação ao plano de fundo da imagem (Figura 2).

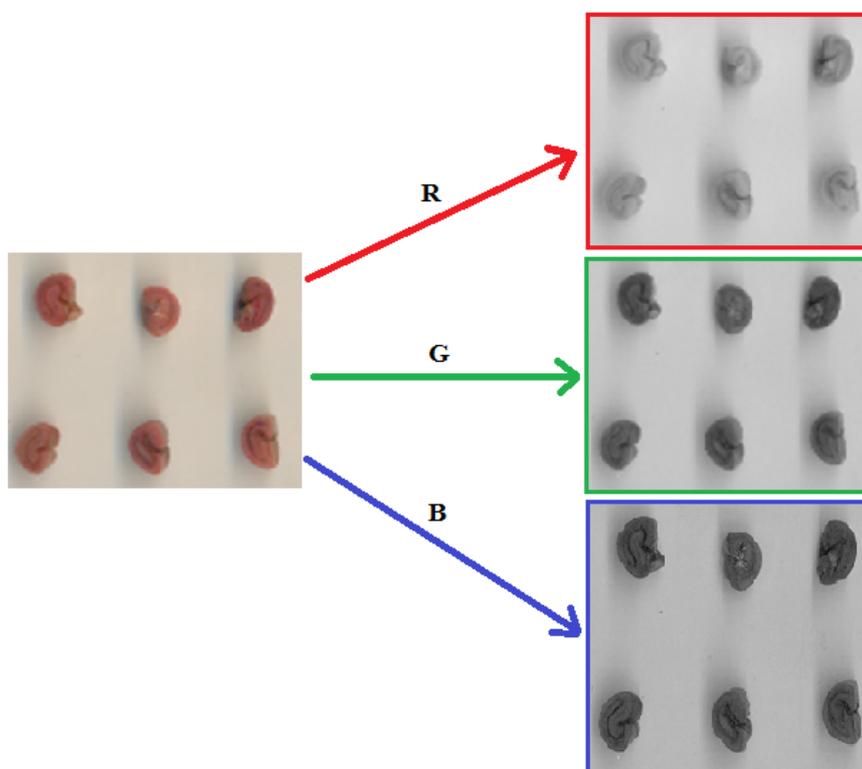


Figura 2 Ilustração da separação das imagens nas bandas do vermelho (R-red), verde (G-green) e azul (B-blue). UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

A segmentação ocorreu em duas etapas: uma segmentação grosseira e um refinamento da segmentação. Pelo fato das imagens terem sido obtidas sem o controle rígido do brilho e da intensidade de iluminação, durante a fase de aquisição da imagem. A segmentação grosseira foi feita com o uso de *thresholds* de valores variáveis, que se adequavam a cada imagem. A metodologia do *threshold* automático usada foi a proposta por Otsu, um método clássico usado em situações em que há variações de iluminação, que visa minimizar os problemas advindos da falta de padronização na captura das imagens (GONZALEZ; WOODS, 2010; OTSU, 1979). Após a segmentação grosseira, foram observados pequenos desvios das informações, cuja área segmentada

aparecia com pequenos “buracos” e o fundo aparecia com pequenos pontos (Figura 3). Este problema foi corrigido com a utilização da morfologia matemática por meio do uso de aberturas e fechamentos morfológicos, conforme apresentado no Anexo A (DOUGHERTY; LOTUFO, 2003).

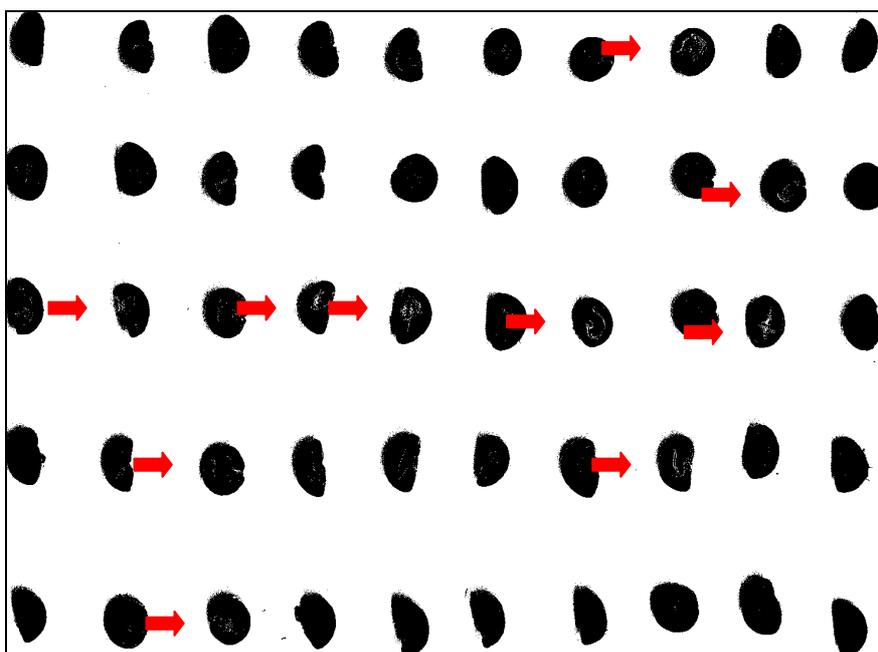


Figura 3 Aspecto das imagens após a fase de segmentação. Setas indicam os “buracos” nas partes dos grãos de café, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Após o tratamento computacional das imagens, aplicando-se a morfologia matemática, as imagens foram consolidadas e a seleção dos objetos de interesse, correspondentes às partes seccionadas dos grãos de café, tornou-se homogênea sem a presença dos denominados “buracos”.

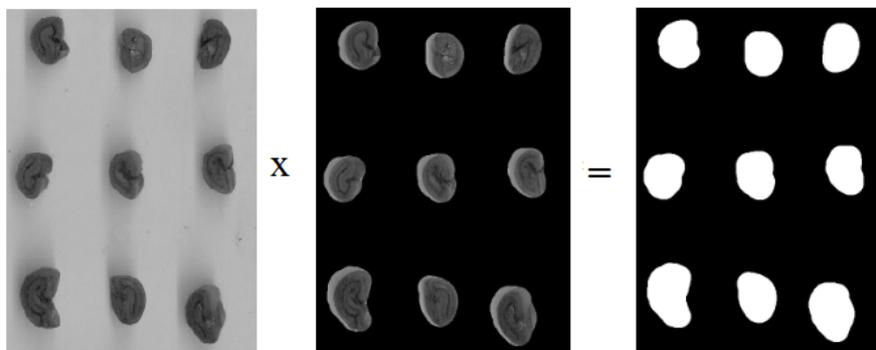


Figura 4 Seleção da área de interesse. Imagem após a fase de segmentação e o tratamento com a utilização da morfologia matemática, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Passo 3: Extração das medidas

Após a definição das áreas de interesse, que compreendiam as frações dos grãos de café nas imagens, a intensidade do padrão da banda do vermelho, azul e verde foi mensurada em cada parte, pela Equação 1:

$$area(th,i) / area(segmentacao,i) \quad (1)$$

onde:

$area(th,i)$: é a área, em número de pixels da imagem, na região da parte seccionada do grão de café; após um *threshold* th ;

$area(segmentacao,i)$: é a área total da parte seccionada do grão de i , detectadas no Passo 2.

Para cada repetição, foram extraídas medidas correspondentes às bandas verde, vermelho e azul da imagem. Para cada imagem i , foram utilizados sete valores de *threshold*, sendo:

$$th1 = 0.2 th$$

$$th2 = 0.4 th$$

$$th3 = 0.6 th$$

$$th4 = 0.8 th$$

$$th5 = th(i)$$

$$th6 = 1.2 th$$

$$th7 = 1.4 th$$

onde: $th(i)$ é o *threshold* de Otsu da imagem i .

A Figura 5 ilustra o *threshold* $th3$ da banda vermelha de uma imagem (i).

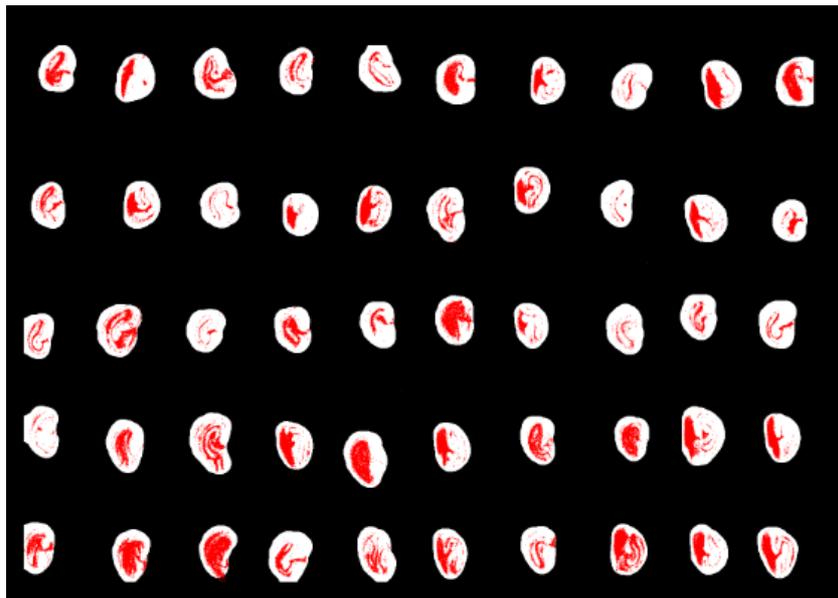


Figura 5 Otsu na banda do vermelho no threshold 3. A área em vermelho corresponde ao valor $area(th,i)$, e o valor $area(segmentacao,i)$ corresponde a área total da parte seccionada de cada grão de i , UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Análise visual do padrão de coloração do endosperma de grãos de café: a análise visual consistiu na avaliação visual das 50 partes seccionadas dos grãos de café que compunham cada imagem, às quais foram atribuídas notas de 0 a 5 correspondentes ao padrão de coloração da banda do vermelho nos endospermas dos grãos de café. A análise foi realizada com a casualização dos lotes e por apenas um avaliador, com o objetivo de minimizar possíveis erros. A classificação da coloração do endosperma de cada parte do grão de café foi determinada de acordo com a Figura 6.

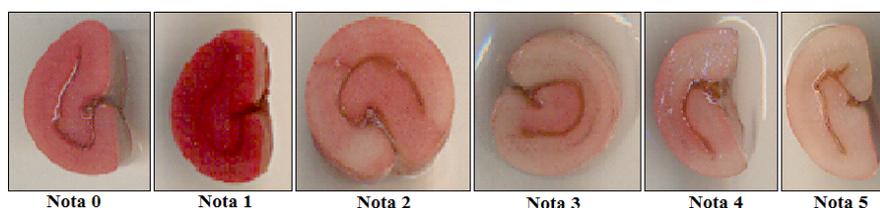


Figura 6 Nota 0, endosperma completamente róseo a vermelho brilhante; Nota 1, endosperma colorido por vermelho intenso e pontuações enegrecidas; Nota 2, endosperma com 1 a 25% de área branca; Nota 3, endosperma com 26 a 50% de área branca; Nota 4, endosperma com 51 a 75% de área branca e Nota 5, endosperma com 76 a 100% de área branca, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Após a avaliação visual, pela escala descritiva, foi contabilizada a quantidade de partes seccionadas de grãos de café que correspondiam a cada nota em cada repetição e foi utilizada a fórmula adaptada do índice de McKinney (1923) (Equação 2), a qual é usualmente empregada para definir a severidade da infecção por doenças em uma cultura, e que possibilita a determinação de valores de 0, para nenhuma doença, a 100%, nível máximo de doença. O mesmo conceito foi utilizado para calcular o índice de análise visual da imagem (IAV), no qual valores de 0, caracterizam pouca deterioração do grão de café e valores iguais a 100%, caracterizam o nível máximo de deterioração ou inviabilidade do tecido.

$$IAV = \frac{\Sigma (\text{grau da escala} \times \text{frequência}) \times 100}{(\text{n}^\circ \text{ total de unidades} \times \text{grau máximo da escala})} \quad (2)$$

Delineamento experimental e análises estatísticas: foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 10 x 3, sendo o primeiro fator relativo a 10 lotes de grãos de café e o segundo fator a 3 épocas de armazenamento (0, 3 e 6 meses), com quatro repetições para o teste de tetrazólio modificado e duas repetições para a análise sensorial de qualidade de bebida. As médias resultantes das análises sensoriais, dos índices de processamento digital das imagens e do índice de análise visual da imagem (IAV) do teste de tetrazólio modificado foram submetidas à análise de variância e ao teste de comparação de médias, por meio do teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o software Sisvar (FERREIRA, 2003). Foram ainda, realizadas análises de correlação entre os resultados das análises sensoriais, índices da análise digital de imagem e IAV, utilizando-se o programa ASSISTAT (SILVA; AZEVEDO, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as análises de variância dos resultados da análise sensorial dos grãos de café, houve efeito significativo das variáveis fragrância/aroma, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio, final e nota total, assim como da interação entre os fatores lote e período de armazenamento (Tabela 1B, APÊNDICE B). Para as variáveis uniformidade, ausência de defeitos e doçura não foi possível realizar a análise de variância, pois as notas atribuídas pelos juízes que realizaram as análises sensoriais, foram iguais, para o mesmo lote. Na Tabela 1, encontram-se as notas, nas quais para o aspecto de uniformidade, antes do armazenamento, os provadores atribuíram aos Lotes 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 e 9 nota 10, ao Lote 4 foi designado, por ambos os provadores, nota 8 e ao Lote 10, nota 6. Após 3 e 6 meses de armazenamento, ainda com relação ao atributo uniformidade, apenas o Lote 10 obteve 6 pontos e os demais lotes tiveram a pontuação máxima de 10 pontos, este resultado foi semelhante para a característica ausência de defeitos, que corresponde a fermentações e amargor indesejáveis, e doçura em todas as três épocas avaliadas.

Tabela 1 Resultados das notas obtidas para os atributos uniformidade, ausência de defeitos e doçura, da análise sensorial dos grãos de *Coffea arabica* L., ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	Uniformidade			Ausência de defeitos	Doçura
	0 Meses	3 Meses	6 Meses		
1	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
2	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
3	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
4	8.00	10.00	10.00	10.00	10.00
5	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
6	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
7	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
8	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
9	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
10	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

Nas Tabelas 2 e 3 encontra-se a classificação dos lotes de grãos de café para os atributos sabor, acidez, finalização, equilíbrio, fragrância/aroma, corpo, nota final e nota total da análise sensorial ao longo do armazenamento.

Tabela 2 Resultados das notas obtidas para os atributos de sabor, acidez, finalização e equilíbrio, da análise sensorial dos grãos de *Coffea arabica* L., ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	Sabor			Acidez			Finalização			Equilíbrio		
	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses
1	7.50 a	7.00 c	6.00 d	7.00 b	7.00 c	7.00 c	7.25 a	7.50 a	6.25 c	7.00 b	7.50 b	7.00 b
2	7.25 a	7.25 b	8.00 a	7.50 a	7.00 c	7.50 a	7.00 b	7.50 a	7.50 a	7.00 b	7.50 b	7.75 a
3	7.00 b	7.25 b	7.00 c	7.00 b	7.25 b	7.00 c	6.00 d	7.25 b	7.00 b	6.50 c	7.00 c	7.00 b
4	7.00 b	7.00 c	7.50 b	7.00 b	7.00 c	7.25 b	6.50 c	6.75 c	7.50 a	6.50 c	7.00 c	7.50 a
5	7.50 a	7.50 a	7.50 b	7.50 a	7.00 c	7.00 c	7.50 a	7.25 b	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.50 a
6	7.50 a	7.50 a	7.50 b	7.50 a	7.50 a	7.00 c	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.00 c	7.50 a
7	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.00 b	7.50 a	7.00 c	6.75 b	7.50 a	7.50 a	7.00 b	7.50 b	7.50 a
8	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.00 b	7.50 a	7.00 c	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	8.00 a	7.50 a
9	7.50 a	7.50 a	7.75 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.00 b	7.00 b	7.50 a	7.00 b	7.50 b	7.50 a
10	6.00 c	6.00 d	6.00 d	6.00 c	6.00 d	6.00 d	6.00 d	6.25 d	6.00 c	6.00 d	6.50 d	6.00 c
CV (%)	1.80			1.29			2.41			2.39		

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

Tabela 3 Resultados das notas obtidas para os atributos fragrância/aroma, corpo, nota final e nota total, da análise sensorial dos grãos de *Coffea arabica* L., ao longo do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	Fragrância/Aroma			Corpo			Nota Final			Nota Total		
	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses
1	7.25 a	7.25 a	7.25 a	7.50 a	7.50 b	6.50 e	7.25 b	7.50 a	6.50 c	80,75 a	81,25 a	75,75 c
2	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 a	7.50 b	8.00 a	7.00 c	7.00 b	7.50 a	80,25 a	80,50 a	83,75 a
3	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.00 d	6.50 d	7.00 b	7.00 b	77,50 b	80,25 a	79,00 b
4	7.50 a	7.00 b	7.00 b	6.75 c	7.50 b	7.50 b	6.50 d	6.75 b	7.50 a	75,75 b	79,00 a	82,25 a
5	7.75 a	7.00 b	7.00 b	7.50 a	7.50 b	7.25 c	7.50 a	7.00 b	7.00 b	82,75 a	80,50 a	80,25 a
6	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 b	7.50 b	7.50 a	7.00 b	7.00 b	82,50 a	81,50 a	81,00 a
7	6.75 b	7.50 a	7.50 a	7.00 b	7.50 b	7.50 b	7.00 c	7.50 a	7.50 a	78,50 b	82,50 a	81,50 a
8	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	8.00 a	7.50 b	7.25 b	7.50 a	7.50 a	81,25 a	83,50 a	81,75 a
9	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 a	7.50 b	8.00 a	7.25 b	7.00 b	7.50 a	81,25 a	81,50 a	83,00 a
10	7.00 b	6.00 c	6.00 c	7.00 b	6.00 c	6.00 f	6.00 e	6.00 c	6.00 d	54,00 c	52,75 b	56,00 d
CV (%)	2.22			1.24			1.84			1.45		

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

A nota total ou resultado global como também é denominada, considera os critérios de descrição e classificação de cada amostra, sendo denominada por café especial, toda amostra de grão de café que atingir no mínimo 80 pontos. Antes do armazenamento, os Lotes 3, 4, 7 e 10 foram classificados como cafés não especiais e os demais Lotes foram classificados em cafés especiais, por apresentarem pontuação acima de 80, de acordo com a Specialty Coffee Association of America - SCAA (2009) (Tabela 3).

O resultado global deve apresentar coerência em relação à avaliação realizada pelo degustador da bebida de café, para cada atributo avaliado na análise sensorial. Neste sentido, pode-se verificar que antes do armazenamento os Lotes 3, 4, 7 apontados como cafés não especiais, também foram enquadrados em cafés de sabor, acidez e nota final inferior em relação aos demais Lotes. No entanto, para os atributos fragrância/aroma e corpo, o Lote 4 e 3, respectivamente, apresentaram qualidade superior, e a nota total não refletiu este comportamento (Tabelas 3).

Após 3 meses de armazenamento, os Lotes 4 e 10 foram designados, de acordo com a SCAA (2009), em cafés não especiais. Na avaliação correspondente a nota total, o Lote 10 foi o de pior qualidade e o Lote 4 apresentou avaliação estatisticamente semelhante aos demais Lotes, classificados como cafés especiais. Este fato pode ser explicado pela nota global do Lote 4 ter sido de 79 pontos, faltando apenas 1 ponto para enquadrá-lo como café especial. É importante ressaltar que o atributo nota total não refletiu as diferenças nos aspectos de fragrância/aroma, sabor, finalização, equilíbrio, acidez e corpo, cuja classificação possibilitou a maior diferenciação dos lotes.

Após 6 meses de armazenamento, os Lotes 1, 3 e 10 foram enquadrados como cafés não especiais (SCAA, 2009). A qualidade inferior destes lotes foi verificada por meio da redução das notas dos atributos fragrância/aroma, sabor, finalização, equilíbrio, acidez, corpo e da nota final.

Ao observar as médias dos lotes, de nota total na análise sensorial, verifica-se que, de forma geral, os lotes apresentaram um aumento das notas ao longo do armazenamento (Tabela 3). Durante o armazenamento, existe uma tendência do comportamento dos grãos de café, em apresentar uma redução da qualidade sensorial (BORÉM, 2008), principalmente quando as condições de armazenamento não favorecem a manutenção da qualidade dos grãos, ocorrendo transformações físicas, químicas, bioquímicas e sensoriais nos mesmos (AFONSO JÚNIOR, 2001).

Na Tabela 4, têm-se os índices de correlação dos atributos da análise sensorial do café e os parâmetros de resposta dos limiares verde 0,6; verde 0,8; verde 1,0 e azul 0,8. Estes índices foram selecionados, uma vez que, para as três épocas avaliadas (0, 3 e 6 meses), estes intervalos do espectro de coloração apresentaram maiores correlações com os resultados das análises sensoriais, quando comparados aos demais limiares avaliados das bandas vermelha, verde e azul (Quadros 1B, 2B e 3B, APÊNDICE B), principalmente quando é considerada a nota total da análise sensorial. A banda do verde 0,8 na primeira avaliação e aos 6 meses, apresentou valores de correlação iguais a 85,9 e 85,3, respectivamente, e aos 3 meses de armazenamento o limiar da banda do azul 0,8, apresentou valor de correlação de 70,8 (Tabela 4).

Tabela 4 Coeficientes de correlação entre os resultados da análise sensorial de grãos de café os índices obtidos da análise digital, em cada período de armazenamento. UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

	FA ¹	UM	AD	DÇ	AS	AC	CO	FI	EQ	FN	TO
0 Meses											
V0.6²	-13.2 ^{ns}	59.7	70.4	70.4	56.7	57.7	16.6 ^{ns}	34.3	40.1	36.3	64.4
V0.8	17.1 ^{ns}	77.3	87.5	87.5	76.9	69.0	26.6 ^{ns}	61.5	67.0	64.6	85.9
V1.0	24.0 ^{ns}	63.4	67.0	67.0	67.6	54.7	21.5 ^{ns}	70.2	72.4	67.3	71.5
B0.8	17.3 ^{ns}	76.7	81.2	81.2	75.9	59.2	32.3	61.3	64.5	66.3	81.6
3 Meses											
V0.6	60.0	49.9	49.9	49.9	44.1	61.5	60.4	43.9	70.6	66.6	55.6
V0.8	68.1	60.4	60.4	60.4	55.5	69.1	66.5	49.1	73.4	71.9	65.4
V1.0	57.0	56.3	56.3	56.3	51.0	61.6	60.2	42.3	58.8	60.0	59.4
B0.8	65.1	68.6	68.6	68.6	60.3	69.6	71.4	50.0	63.1	66.4	70.8
6 Meses											
V0.6	65.8	79.0	79.0	79.0	40.1	75.7	50.1	44.4	63.5	49.5	72.7
V0.8	72.9	90.9	90.9	90.9	51.7	82.2	62.4	60.0	76.4	66.2	85.3
V1.0	65.9	79.5	79.5	79.5	47.7	71.0	56.7	60.5	67.1	65.0	78.6
B0.8	70.7	88.7	88.7	88.7	51.4	79.2	59.1	56.9	74.4	62.9	83.6

¹FA: Fragrância e Aroma; UN: Uniformidade; AD: Ausência de Defeitos; DÇ: Doçura; SA: Sabor; AC: Acidez; CO: Corpo; FI: Finalização; EQ: Equilíbrio; FN: Final; TO: Total.²V0.6: verde 0,6; V0.8: verde 0,8; V1.0: verde 1,0; B0.8: azul 0,8. *significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). ^{ns}Não significativo.

A resposta ao espectro de banda do vermelho, de acordo com a análise da imagem do endosperma dos grãos de café, por meio do software Matlab, apresentou baixa correlação com a análise sensorial (Quadros 1B, 2B e 3B, APÊNDICE B). Este resultado contrapõe ao observado por Schäfer, Schulte e Thier (2002), cujo estudo para viabilizar um parâmetro de análise mais consistente para avaliar a redução da qualidade de avelãs provenientes de diferentes épocas de colheita, demonstrou que a banda do vermelho é eficiente na análise da viabilidade de nozes.

Schäfer, Schulte e Thier (2002) utilizaram a metodologia do teste de tetrazólio aplicado à nozes, na qual, após o corte ao meio, uma das partes foi

submetida à coloração em solução de tetrazólio. Em seguida as partes coloridas foram escaneadas e para a sua avaliação foi utilizada a ferramenta de análise de imagem do software “Photoshop” para determinar o valor, denominado de índice de vitalidade, correspondente a relação da quantidade de pixels brancos na banda vermelha da imagem após um threshold de valor fixo e a quantidade de pixels selecionados, ou seja, os pixels brancos correspondiam à coloração vermelha na imagem e os pixels pretos correspondiam às outras colorações. Os autores concluíram que a análise de imagem, mostra-se como uma ferramenta eficiente para monitorar as condições de qualidade de avelãs.

Terra et al. (2010) também observaram a eficiência da banda do vermelho para classificar lotes de grãos de café provenientes de cinco países, Etiópia, Índia, Costa Rica, El Salvador e Guatemala, armazenados por um ano, por meio da aplicação do teste de tetrazólio modificado, utilizando para o processamento o software Photoshop 7.0, adaptando o método de Schäfer, Schulte e Thier (2002). Os autores controlaram o brilho e utilizaram a banda do verde, apenas para diferenciar o fundo da imagem em relação as partes dos grãos de café e o limiar da banda do vermelho foi correlacionado com a análise sensorial da qualidade de bebida. Terra et al. (2010) concluíram que a análise de imagem do endosperma de grãos de café corados pelo tetrazólio, mostra-se como uma ferramenta promissora para avaliar a qualidade de bebida de grãos provenientes de diferentes origens.

A baixa correlação encontrada entre a resposta à banda do vermelho e a análise sensorial (Quadros 1B, 2B e 3B, APÊNDICE B), pode ser explicada pela contribuição expressiva das demais cores primárias, verde e azul, a cada imagem, o que pode ser observado pelas altas médias dos limiares referentes a estas bandas (Tabela 5). Outro aspecto relevante é o fato de que quando ocorre à mistura de cores primárias, duas a duas, são produzidas as chamadas cores secundárias, tais como o magenta, formado pela mistura da banda vermelha e

azul; o amarelo, que constitui a mistura do vermelho e verde e o ciano ou turquesa, mistura do verde e azul (GONZALEZ; WOODS, 2010). O processamento das imagens das partes dos grãos de café, executado pelo Matlab, não foi efetuado para a identificação de cores secundárias.

É importante ressaltar que a não correspondência obtida neste trabalho, para os limiares da banda do vermelho, contrariando os resultados obtidos por Schäfer, Schulte e Thier (2002) e Terra et al. (2010), podem também ter como causas a coloração dos grãos de café dos lotes utilizados neste trabalho, que é diferente em relação as amostras utilizadas nos trabalhos dos outros autores, visto que foi utilizada concentração do sal de tetrazólio e tempo de coloração distintos em ambos os trabalhos.

A outra explicação provável para a reduzida correlação da banda vermelha consiste na diferença do método de aquisição de imagens realizada neste trabalho em relação ao trabalho de Schäfer, Schulte e Thier (2002) e Terra et al. (2010). Ressalta-se ainda que durante a aquisição, muitos fatores podem alterar as cores que se mostram na imagem digital, tais como o espaçamento entre as partes dos grãos de café; o simples fato de termos usado fundo branco, ao invés do preto; a marca do scanner, estes aspectos podem alterar as cores, pois o scanner faz uma calibração automática de branco. Para a calibração, o scanner emite uma luz e captura uma resposta à luz. De acordo com a resposta, é realizado um cálculo automático (tipo o de Otsu) para tentar detectar que resposta à luz corresponde ao branco. O scanner utiliza esta resposta como branco de referência. Todas as outras respostas à luz serão representadas com cores relativas a este branco de referência. Isto faz com que um vermelho intenso em um scanner pode apresentar-se rosado em outro aparelho. Neste sentido é importante ressaltar que não é possível a repetição exata do que foi realizado neste trabalho e nos trabalhos de Shaffer, Shulte e Thier (2002) e Terra

et al. (2010), haja visto a dimensão de fatores que interferem no procedimento de captura da imagem.

As análises de variância para os limiares das bandas do verde 0,6; 0,8 e 1,0 e do azul 0,8, bandas do espectro que mostraram maior correlação com a nota total da análise sensorial, apresentaram significância para a interação entre os fatores lote e tempo de armazenamento (Tabelas 3A e 4A, APÊNDICE B). Terra et al. (2010) também verificaram, que a coloração vermelha do endosperma dos grãos de café dos seus lotes, provenientes de origens diferentes, variavam de acordo com o tempo.

De forma geral, os lotes de grãos de café apresentaram um aumento dos índices de coloração do endosperma para os limiares verde 0,6; verde 0,8, verde 1,0 e azul 0,8, ao longo do armazenamento (Tabela 5).

O teste de médias para o desdobramento dos lotes em relação às épocas de avaliação nos limiares de coloração do verde 0,6; 0,8 e 1,0 e azul 0,8 (Tabela 5) possibilitou a diferenciação dos lotes em classes distintas. Os limiares da banda do verde, 0,6; 0,8 e 1,0 e do azul 0,8 propiciaram a separação dos lotes em maior número de classes, quando comparado à classificação dos lotes pela nota total da análise sensorial. O Lote 10 que apresentou pior qualidade sensorial em todas as épocas de avaliação (Tabela 3), também apresentou a menor resposta aos limiares das bandas verde 0,6; 0,8 e 1,0 e do azul 0,8 (Tabela 5).

Contraopondo ao resultado observado de aumento nos limiares do verde e azul, para a maioria dos Lotes, Terra et al. (2010) observaram que a coloração vermelha do endosperma dos grãos de café diminuiu gradualmente ao longo dos 12 meses, refletindo a redução da viabilidade dos grãos de café armazenados. Ainda segundo os autores, o tetrazólio modificado pode ser uma ferramenta útil para monitorar o comportamento de redução da qualidade de lotes de grãos de café e da presença de defeitos relacionados ao armazenamento que tem como reflexo a redução da coloração vermelha do endosperma dos grãos de café.

Tabela 5 Índices obtidos da análise digital , da banda verde, threshold 0,6, 0,8 e 1,0 e da banda azul, threshold 0,8, após coloração em sal de tetrazólio, em cada período de armazenamento. UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	Verde 0.6			Verde 0.8			Verde 1.0			Blue 0.8		
	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses	0 Meses	3 Meses	6 Meses
1	0.265 b	0.379 b	0.521 b	0.598 a	0.631 a	0.691 b	0.768 a	0.764 a	0.770 a	0.694 a	0.673 a	0.747 a
2	0.331 a	0.273 c	0.543 a	0.554 b	0.591 b	0.692 b	0.722 b	0.759 a	0.765 a	0.607 c	0.671 a	0.746 a
3	0.192 c	0.363 b	0.565 a	0.468 c	0.622 a	0.712 a	0.685 c	0.766 a	0.786 a	0.585 c	0.680 a	0.764 a
4	0.238 c	0.271 c	0.578 a	0.538 b	0.572 b	0.732 a	0.729 b	0.747 b	0.797 a	0.605 c	0.648 a	0.770 a
5	0.207 c	0.216 d	0.474 c	0.512 c	0.541 c	0.667 b	0.733 b	0.736 b	0.758 a	0.598 c	0.627 b	0.760 a
6	0.207 c	0.260 c	0.496 b	0.552 b	0.547 c	0.684 b	0.755 a	0.734 b	0.780 a	0.634 b	0.631 b	0.747 a
7	0.249 c	0.336 b	0.391 d	0.565 b	0.648 a	0.669 b	0.761 a	0.771 a	0.779 a	0.641 b	0.675 a	0.741 a
8	0.196 c	0.427 a	0.400 d	0.554 b	0.660 a	0.643 b	0.756 a	0.775 a	0.770 a	0.642 b	0.687 a	0.729 a
9	0.151 d	0.393 a	0.472 c	0.496 c	0.661 a	0.682 b	0.738 b	0.780 a	0.778 a	0.610 c	0.692 a	0.748 a
10	0.059 e	0.189 d	0.187 e	0.279 d	0.490 d	0.428 c	0.655 d	0.712 c	0.697 b	0.463 d	0.578 c	0.635 b
CV (%)	10.77			4.73			2.31			2.91		

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

A análise de variância para o índice da avaliação visual do endosperma dos grãos de café (IAV) apresentou significância para a interação entre os fatores lote e tempo de armazenamento (Tabela 5A, APÊNDICE B). Na Tabela 6, encontra-se o desdobramento dos lotes em cada época de avaliação (0, 3 e 6 meses).

Com relação ao IAV, antes do armazenamento, os Lotes 4, 5, 6, 7, 8 e 9 foram classificados em uma mesma classe, os Lotes 2 e 3 foram agrupados juntos, o Lote 1 foi agrupado em uma classe inferior e o Lote 10 agrupado em uma classe como o de pior qualidade. Após 3 meses de armazenamento, a classificação dos lotes pelo IAV refletiu a redução da qualidade sensorial, verificada após 6 meses de armazenamento, de acordo com a nota total (Tabela 3), cujos Lotes 1 e 3 foram designados de qualidade inferior e o Lote 10 foi agrupado novamente como o lote de pior qualidade. Após 6 meses de armazenamento, para o Lote 2, o índice de análise visual (IAV) apresentou aumento, agrupando este Lote na mesma classe dos Lotes 1 e 3 (Tabela 6).

Tabela 6 Índices obtidos da análise visual (IAV) de grãos de café, após coloração em sal de tetrazólio, em cada período de . UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	IAV		
	0 Meses	3 Meses	6 Meses
1	19.00 c	19.10 c	19.90 c
2	14.30 b	4.30 a	21.70 c
3	9.60 b	15.70 c	22.20 c
4	3.00 a	2.70 a	17.60 b
5	3.80 a	1.00 a	16.40 b
6	3.80 a	3.80 a	16.10 b
7	2.80 a	9.50 b	9.50 a
8	0.80 a	11.80 b	11.50 a
9	2.30 a	12.00 b	15.20 b
10	55.70 d	47.30 d	53.50 d
CV (%)	26.43		

*Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Scott-knott.

O índice de análise visual do endosperma dos grãos de café (IAV) apresentou alta relação com a nota total da análise sensorial, com índices de correlação acima de 85%, para as três épocas de avaliação. No entanto, o IAV apresentou baixa correlação com os limiares verde 0,6; 0,8 e 1,0 e azul 0,8 (Tabela 7). Este fato era esperado, visto que a análise visual considerou somente as nuances da tonalidade vermelha no endosperma dos grãos, mostrando assim baixa correlação com as bandas do verde e azul. Schäfer, Schulte e Thier (2002) avaliando a viabilidade do endosperma de nozes submetidas ao teste de tetrazólio também correlacionaram o índice obtido pelo processamento digital das imagens com a avaliação visual da viabilidade, no entanto, os autores encontraram uma alta relação entre os dois parâmetros.

Tabela 7 Coeficientes de correlação entre os índices obtidos da análise visual e da análise digital de grãos de café, após coloração em sal de tetrazólio. e os resultados de nota total da análise sensorial, em cada período de armazenamento. UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

	Índice de Análise Visual (IAV)		
	0 Meses	3 Meses	6 Meses
Verde 0.6	-0.48	-0.15 ^{ns}	-0.55
Verde 0.8	-0.73	-0.30 ^{ns}	-0.74
Verde 1.0	-0.61	-0.30 ^{ns}	-0.65
Azul 0.8	-0.66	-0.41	-0.71
AS	-0.88	-0.86	-0.86

Ao longo do armazenamento, os limiares das bandas do verde 0,6; 0,8 e 1,0 e azul 0,8, de forma geral, apresentaram um aumento para todos os lotes avaliados, exceto para os Lotes 8 e 10. Este fato pode ser explicado pela presença de tecidos com aspecto vermelho intenso ou em alguns casos com pontuações enegrecidas no endosperma dos grãos de café (Figuras 7, 8 e 9), tal coloração mais escura possui a contribuição das cores verde e azul na sua constituição, portanto foram determinadas no processamento das imagens. Em

contrapartida, o Lote 10 que apresentou os grãos com endosperma com coloração mais clara chegando a branco em algumas partes (Figura 10), demonstra o fato de que este aspecto comprova a inferioridade dos grãos o que teve correspondência pela análise sensorial (Tabelas 2 e 3) e pelo IAV (Tabela 6).

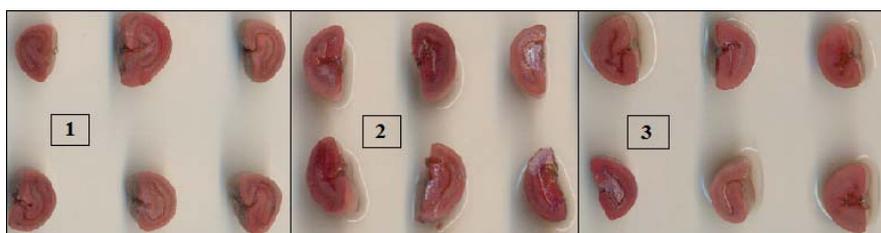


Figura 7 Áreas correspondentes às imagens obtidas na primeira época de avaliação de grãos de café após coloração em sal de tetrazólio, dos Lotes 1, 2 e 3, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

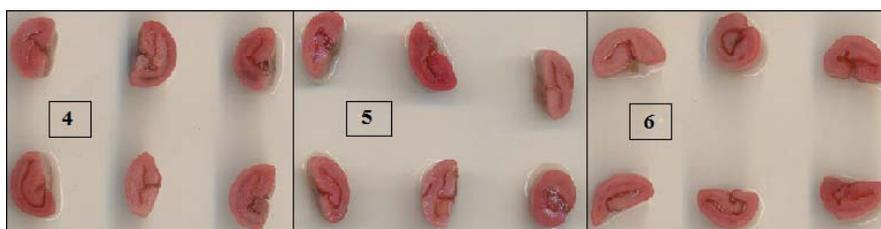


Figura 8 Áreas correspondentes às imagens obtidas na primeira época de avaliação de grãos de café após coloração em sal de tetrazólio, dos Lotes 4, 5 e 6, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.



Figura 9 Áreas correspondentes às imagens obtidas na primeira época de avaliação de grãos de café, após coloração em sal de tetrazólio, dos Lotes 7, 8 e 9, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.



Figura 10 Áreas correspondentes às imagens obtidas na primeira época de avaliação de grãos de café após coloração em sal de tetrazólio, do Lote 10, UFLA. Lavras, MG, Brasil, 2013.

As pontuações enegrecidas presentes em alguns endospermas dos grãos de café pode caracterizar a presença de tecido infectado por microrganismos ou de produtos resultantes da deterioração que podem causar coloração anormal, tais como pontuações mais avermelhadas ou negras, resultantes da reação do tetrazólio com produtos provenientes dos microrganismos ou daqueles resultantes da deterioração, pois altas concentrações de certos produtos tóxicos, metabólitos secundários que são armazenados dentro de vacúolos de células de tecidos normais, tendem a escapar em tecidos enfraquecidos (VIEIRA et al., 1998).

Outro aspecto a ser considerado, que explica a presença de pontuações enegrecidas no endosperma dos grãos de café dos lotes que apresentaram maiores índices dos limiares da coloração do verde e azul refere-se à ocorrência de oxidações nestes tecidos. Schäfer, Schulte e Thier (2002), avaliando a resposta ao espectro de banda do vermelho notaram que as partes das nozes ficavam coradas de vermelho em um tom mais escuro ao longo do tempo, os autores atribuíram a este fato a oxidação do tecido.

Por meio do teste de tetrazólio, em embriões de café, é possível identificar sementes viáveis e não viáveis, e dentro da categoria das viáveis, as sementes de alto e baixo vigor, de acordo com o padrão de coloração dos tecidos. A coloração vermelho brilhante dos embriões é considerada como tecido vivo e vigoroso, no entanto, o tecido branco leitoso e amarelado é considerado tecido morto (VIEIRA et al., 1998).

A intensidade de coloração é uma ferramenta importante a ser utilizada na interpretação do teste tetrazólio em embriões de café. O vermelho intenso associado com tecidos flácidos, ou a coloração vermelho-púrpura ou ainda, a tonalidade marrom anormal associado com tecidos aquosos, representam tecidos enfraquecidos. Sendo que, a pré-necrose é usada para diagnosticar tecidos vivos, porém fracos. Esses tecidos são identificados por colorir mais rapidamente e em tom mais escuro do que os tecidos normais, e com envelhecimento adicional, tendem a colorir mais levemente (VIEIRA et al., 1998).

Neste sentido, utilizando a mesma interpretação do teste de tetrazólio em embriões de café aplicado ao endosperma dos grãos, é possível afirmar que os lotes de grãos de café que apresentam endosperma com coloração vermelho intenso, característica demonstrada pelo aumento dos limiars das bandas do verde e do azul (Tabela 5) e do IAV (Tabela 6) pode refletir uma condição em que a permeabilidade do tecido a solução de tetrazólio, a respiração e a transferência de hidrogênio aumentam temporariamente antes de estabelecer a condição de áreas mortas, não coloridas, como a condição estabelecida no Lote 10. Portanto, o vermelho intenso é um indicativo de uma condição intermediária no processo de deterioração dos grãos.

Tecidos de sementes vigorosas restringem, de certa forma, a entrada rápida da solução de tetrazólio, o que propicia o desenvolvimento de uma coloração rosa claro (VIEIRA et al., 1998), o que é reflexo de menores médias

dos limiares das bandas do verde e azul e valores de IAV e melhor qualidade sensorial.

O tecido morto, dos embriões de café, apresenta uma coloração branca ou amarelada (VIEIRA et al., 1998). Este aspecto de tecido morto é verificado nos endospermas dos grãos de café do Lote 10 (Figura 10), o que refletiu em índices menores de resposta as bandas do verde 0,6; 0,8 e 1,0 e azul 0,8 (Tabela 5), maior IAV (Tabela 6) e pior qualidade sensorial (Tabela 3).

Neste sentido, a classificação dos Lotes 1, 2 e 3 em uma classe superior por apresentarem altos índices dos limiares do verde 0,6; 0,8 e 1,0 e do azul 0,8 (Tabela 5), pode ser considerado como uma condição de transição no processo de redução da qualidade destes grãos, caracterizado pela presença de tecido corado por vermelho intenso ou pontuações enegrecidas, sendo um estágio intermediário da deterioração, que se segue até a morte do tecido, com a coloração branca a amarelada do mesmo, conforme verificado nos grãos de café do Lote 10. O índice de análise visual da coloração do endosperma dos grãos de café (IAV) sustenta tal afirmação, cujos valores tendem a aumentar com a deterioração e por fim a qualidade sensorial destes grãos, também reflete o processo de deterioração, reduzindo seus valores. A aplicação do princípio do teste de tetrazólio para avaliar a coloração do endosperma dos grãos de café, utilizando-se índices calculados por meio do processamento digital de imagens nas bandas do vermelho, verde e azul em diferentes thresholds (limiares) e da análise visual das imagens, para correlacionar com a qualidade sensorial da bebida.

4 CONCLUSÃO

O teste de tetrazólio modificado em endospermas de grãos de café é uma ferramenta promissora para avaliar a qualidade.

Os índices calculados por meio do processamento digital de imagens, nos limiares (*thresholds*) da banda do verde 0,6; verde 0,8 e 1,0 e azul 0,8 apresentam alta correlação com os resultados da análise sensorial de grãos de café.

Os índices calculados por meio de análise visual da coloração de endospermas dos grãos de café (IAV) apresentam alta correlação com os resultados da análise sensorial da bebida de café.

O índice de análise visual da coloração do endosperma dos grãos de café (IAV) apresentou baixa correlação com os limiares (*thresholds*) da banda do verde 0,6; verde 0,8 e 1,0 e azul 0,8.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar dos resultados desta pesquisa indicarem o grande potencial da utilização dos testes fisiológicos e do teste de tetrazólio modificado, como ferramentas promissoras para a avaliação da qualidade sensorial do café, bem como a utilização do processamento de imagem, é necessária a execução de pesquisas adicionais relacionadas a esse tema, em virtude da complexidade do assunto e com a intenção de viabilizar a utilização de forma segura destes testes para complementar os resultados das análises da bebida.

Existe a necessidade de novas pesquisas, tendo como ênfase o estudo dos testes fisiológicos e bioquímicos e a aplicação do tetrazólio modificado, utilizando-se lotes de café com maior variação de qualidade sensorial, visto que a amplitude da qualidade sensorial dos lotes utilizados neste trabalho foi pequena, na qual apenas o Lote 10 apresentava nota sensorial bem distinta dos demais lotes. Novas pesquisas, também devem ser realizadas utilizando um tempo maior de armazenamento das amostras de grãos de café, e por fim, com a avaliação de diferentes origens e métodos de processamentos e de secagem dos grãos de café.

Outro aspecto importante a ser considerado na execução de novas pesquisas, referente à metodologia do tetrazólio modificado utilizando o processamento digital de imagem, está relacionado aos cuidados necessários no momento da aquisição das imagens e execução do processo de segmentação. Na fase da captura da imagem devem ser controlados aspectos como a iluminação, com maior padronização do espaçamento das partes seccionadas dos grãos de café, assim como a segmentação deve ser executada com maior precisão. É aconselhável que durante a realização de novas investigações, haja atenção especial nestes dois processos mencionados, no sentido de reduzir as diferenças entre a medida digital e o índice de análise visual (IAV).

REFERÊNCIAS

AFONSO JÚNIOR, C. **Aspectos físicos, fisiológicos e de qualidade do café em função da secagem e do armazenamento**. 2001. 384 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

BORÉM, F. M. Processamento do café. In: _____. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008. p. 127-158.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.

CHAGAS, S. J. R. de. **Caracterização química e qualitativa de cafés de alguns municípios de três regiões produtoras de Minas Gerais**. 1994. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1994.

DELOUCHE, J. C. et al. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103 p.

DOUGHERTY, E. R.; LOTUFO, R. A. **Hands-on morphological image processing**. Bellingham: SPIE, 2003. 272 p. (SPIE Tutorial Texts in Optical Engineering, TT59).

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas (statistical analysis software) e planejamento de experimentos - SISVAR 5.0, build 67**. Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital image processing**. 3rd ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2010. 976 p.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Monthly coffee market report**. Disponível em: <<http://www.ico.org/>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook: a systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor**. Washington: Coffee Development Group, 1986. 32 p.

MCKINNEY, R. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 6, p. 195-218, 1923.

OTSU, N. A threshold selection method from grey-level histograms. **IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics**, New York, v. 9, p. 62-66, Jan. 1979.

PIMENTA, C. J.; CHAGAS, S. J. de R.; COSTA, L. Polifenoloxidase, lixiviação de potássio e qualidade de bebida do café colhido em quatro estádios de maturação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 171-177, fev. 1997.

SCHÄFER, H.; SCHULTE, E.; THEIR, H. P. A novel and simple approach for assessing the freshness of hazelnuts. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 215, n. 3, p. 249-254, Sept. 2002.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009, Reno. **Proceedings...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009. 1 CD-ROM.

SOUZA, E. M. C. de. **O café (*Coffea arabica* L.) na região Sul de Minas Gerais: relação da qualidade com fatores ambientais estruturais e tecnológicos.** 1996. 171 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. **Metodologia SCAA de avaliação de cafés especiais: guia rápido, green coffee.** Long Beach, 2009. 7 p. Disponível em: <<http://www.scaa.org>>. Acesso em: 23 ago. 2011.

TERRA, L. del et al. A novel approach to triphenyltetrazolium staining as a quality control tool for green coffee: correlation with aging, geographical origin and sensory analysis. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 23., 2010, Bali. **Proceedings...** Bali: ICCS, 2010. p. 1-41.

VIEIRA, M. G. G. C. et al. **Testes rápidos para determinação da viabilidade e da incidência de danos mecânicos em sementes de cafeeiro.** Lavras: UFLA, 1998. 34 p. (Boletim Agropecuário, 26).

APÊNDICE B

Tabela 1B Resumo das análises de variância das variáveis fragrância/aroma (FA), sabor (AS), acidez (AC), corpo (CO), finalização (FZ), equilíbrio (EQ), final (FN) e nota total (NT) do teste de análise sensorial, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios							
		FA	AS	AC	CO	FZ	EQ	FN	NT
Lotes (L)	9	0,6222*	1,3593*	1,0000*	0,9352*	1,0782*	1,0412*	0,9741*	429,2481*
Épocas (E)	2	0,3792*	0,0542 ^{ns}	0,0542*	0,0792*	0,4875*	0,6542*	0,0792*	5,7542*
L X E	18	0,2125*	0,2301*	0,0958*	0,2782*	0,2977*	0,1495*	0,2227*	7,6523*
Erro	30	0,0250	0,0167	0,0083	0,0083	0,0292	0,0292	0,0167	1,2750
CV (%)		2,22	1,80	1,29	1,24	2,41	2,39	1,84	1,45

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Quadro 1B Resultados da análise de correlação, entre os resultados das análises digitais das imagens obtidas no teste de tetrazólio modificado e das análises sensoriais de grãos de café, antes do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

	FA ¹	UM	AD	DÇ	AS	AC	CO	FI	EQ	FN	TO
<i>Vermelho 0.2</i>	-13.03 ^{ns}	13.57 ^{ns}	10.23 ^{ns}	10.23 ^{ns}	4.00 ^{ns}	2.31 ^{ns}	15.51 ^{ns}	-16.08 ^{ns}	7.09 ^{ns}	-6.04 ^{ns}	7.52 ^{ns}
<i>Vermelho 0.4</i>	-29.34 ^{ns}	21.00 ^{ns}	16.76 ^{ns}	16.76 ^{ns}	12.37 ^{ns}	12.57 ^{ns}	18.48 ^{ns}	-5.00 ^{ns}	6.52 ^{ns}	1.40 ^{ns}	14.18 ^{ns}
<i>Vermelho 0.6</i>	-35.58*	25.56 ^{ns}	22.86 ^{ns}	22.86 ^{ns}	17.60 ^{ns}	21.62 ^{ns}	21.27 ^{ns}	0.84 ^{ns}	1.93 ^{ns}	3.08 ^{ns}	19.35 ^{ns}
<i>Vermelho 0.8</i>	- 41.72**	29.38 ^{ns}	28.18 ^{ns}	28.18 ^{ns}	21.64 ^{ns}	23.21 ^{ns}	20.66 ^{ns}	-2.55 ^{ns}	-0.55 ^{ns}	0.50 ^{ns}	22.60 ^{ns}
<i>Vermelho 1.0</i>	- 43.52**	30.00 ^{ns}	30.19 ^{ns}	30.19 ^{ns}	25.18 ^{ns}	24.71 ^{ns}	18.29 ^{ns}	-2.41 ^{ns}	-1.81 ^{ns}	0.83 ^{ns}	23.96 ^{ns}
<i>Vermelho 1.2</i>	- 40.19**	26.28 ^{ns}	29.23 ^{ns}	29.23 ^{ns}	27.91 ^{ns}	18.58 ^{ns}	15.95 ^{ns}	-12.05 ^{ns}	-13.36 ^{ns}	-5.05 ^{ns}	20.94 ^{ns}
<i>Vermelho 1.4</i>	-19.83 ^{ns}	6.05 ^{ns}	2.31 ^{ns}	2.31 ^{ns}	17.29 ^{ns}	-6.79 ^{ns}	12.15 ^{ns}	4.28 ^{ns}	-11.18 ^{ns}	7.31 ^{ns}	2.57 ^{ns}
<i>Verde 0.2</i>	-32.96*	29.45 ^{ns}	28.81 ^{ns}	28.81 ^{ns}	22.42 ^{ns}	38.51*	17.96 ^{ns}	8.82 ^{ns}	11.65 ^{ns}	8.26 ^{ns}	26.12 ^{ns}
<i>Verde 0.4</i>	-29.46 ^{ns}	42.04**	45.24**	45.24**	34.68*	47.76**	17.67 ^{ns}	15.98 ^{ns}	21.86 ^{ns}	17.69 ^{ns}	40.83**
<i>Verde 0.6</i>	-13.16 ^{ns}	59.69**	70.38**	70.38**	56.70**	57.73**	16.60 ^{ns}	34.34*	40.13**	36.28*	64.41**
<i>Verde 0.8</i>	17.13 ^{ns}	77.33**	87.52**	87.52**	76.90**	68.95**	26.57 ^{ns}	61.53**	66.98**	64.57**	85.89**
<i>Verde 1.0</i>	23.98 ^{ns}	63.37**	67.04**	67.04**	67.61**	54.71**	21.45 ^{ns}	70.19**	72.36**	67.32**	71.48**
<i>Verde 1.2</i>	22.21 ^{ns}	-11.66 ^{ns}	-17.13 ^{ns}	-17.13 ^{ns}	1.30 ^{ns}	-19.62 ^{ns}	-11.17 ^{ns}	37.26*	17.37 ^{ns}	30.32 ^{ns}	-6.98 ^{ns}

Quadro 1B “conclusão”

<i>Verde 1.4</i>	22.30 ^{ns}	-26.56 ^{ns}	-25.77 ^{ns}	-25.77 ^{ns}	-10.12 ^{ns}	-30.97*	-18.22 ^{ns}	13.18 ^{ns}	-2.83 ^{ns}	7.69 ^{ns}	-20.20 ^{ns}
<i>Azul 0.2</i>	-28.85 ^{ns}	46.59**	46.87**	46.87**	39.61*	45.02**	27.94 ^{ns}	16.51 ^{ns}	21.20 ^{ns}	19.06 ^{ns}	43.11**
<i>Azul 0.4</i>	-29.23 ^{ns}	47.43**	50.88**	50.88**	41.11**	42.76**	22.20 ^{ns}	15.76 ^{ns}	18.97 ^{ns}	18.98 ^{ns}	45.16**
<i>Azul 0.6</i>	-15.69 ^{ns}	58.03**	67.16**	67.16**	55.45**	44.71**	20.13 ^{ns}	26.86 ^{ns}	28.46 ^{ns}	31.49*	59.96**
<i>Azul 0.8</i>	17.33 ^{ns}	76.73**	81.18**	81.18**	75.89**	59.22**	32.33*	61.33**	64.51**	66.27**	81.61**
<i>Azul 1.0</i>	23.75 ^{ns}	45.11**	43.08**	43.08**	49.23**	29.31 ^{ns}	10.89 ^{ns}	60.57**	61.29**	58.31**	49.76**
<i>Azul 1.2</i>	30.20 ^{ns}	-15.68 ^{ns}	-19.16 ^{ns}	-19.16 ^{ns}	-4.10 ^{ns}	-22.36 ^{ns}	-16.18 ^{ns}	22.88 ^{ns}	12.61 ^{ns}	19.80 ^{ns}	-11.02 ^{ns}
<i>Azul 1.4</i>	28.59 ^{ns}	-28.02 ^{ns}	-26.80 ^{ns}	-26.80 ^{ns}	-14.41 ^{ns}	-29.30 ^{ns}	-23.19 ^{ns}	15.07 ^{ns}	4.77 ^{ns}	4.03 ^{ns}	-20.73 ^{ns}

¹FA: Fragrância e Aroma; UN: Uniformidade; AD: Ausência de Defeitos; DÇ: Doçura; SA: Sabor; AC: Acidez; CO: Corpo; FI: Finalização; EQ: Equilíbrio; FN: Final; TO: Total. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

Quadro 2B Resultados da análise de correlação, entre os resultados das análises digitais das imagens obtidas no teste de tetrazólio modificado e das análises sensoriais de grãos de café, após 3 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

	FA ¹	UM	AD	DÇ	SA	AC	CO	FI	EQ	FN	TO
<i>Vermelho 0.2</i>	7.45 ^{ns}	13.03 ^{ns}	13.03 ^{ns}	13.03 ^{ns}	14.37 ^{ns}	5.51 ^{ns}	20.47 ^{ns}	10.30 ^{ns}	12.70 ^{ns}	14.56 ^{ns}	13.51 ^{ns}
<i>Vermelho 0.4</i>	5.77 ^{ns}	15.67 ^{ns}	15.67 ^{ns}	15.67 ^{ns}	14.69 ^{ns}	3.45 ^{ns}	18.04 ^{ns}	10.23 ^{ns}	1.48 ^{ns}	11.66 ^{ns}	14.36 ^{ns}
<i>Vermelho 0.6</i>	11.07 ^{ns}	21.99 ^{ns}	21.99 ^{ns}	21.99 ^{ns}	13.75 ^{ns}	5.17 ^{ns}	21.16 ^{ns}	20.20 ^{ns}	1.26 ^{ns}	18.36 ^{ns}	20.08 ^{ns}
<i>Vermelho 0.8</i>	11.93 ^{ns}	29.52 ^{ns}	29.52 ^{ns}	29.52 ^{ns}	3.29 ^{ns}	4.01 ^{ns}	26.92 ^{ns}	25.89 ^{ns}	11.54 ^{ns}	33.22*	26.59 ^{ns}
<i>Vermelho 1.0</i>	14.13 ^{ns}	30.71 ^{ns}	30.71 ^{ns}	30.71 ^{ns}	-0.61 ^{ns}	7.59 ^{ns}	27.85 ^{ns}	26.23 ^{ns}	20.35 ^{ns}	39.49*	28.30 ^{ns}
<i>Vermelho 1.2</i>	20.51 ^{ns}	35.23*	35.23*	35.23*	3.87 ^{ns}	15.70 ^{ns}	33.02*	21.28 ^{ns}	28.48 ^{ns}	40.55**	32.92*
<i>Vermelho 1.4</i>	17.83 ^{ns}	31.50*	31.50*	31.50*	3.46 ^{ns}	13.82 ^{ns}	31.14*	7.16 ^{ns}	30.82*	35.67*	29.11 ^{ns}
<i>Verde 0.2</i>	32.92*	34.23*	34.23*	34.23*	18.92	33.41*	44.27**	33.73*	50.99**	52.62**	37.49*
<i>Verde 0.4</i>	41.98**	40.03**	40.03**	40.03**	29.79	45.05**	50.31**	36.24*	56.91**	54.58**	44.03**
<i>Verde 0.6</i>	59.98**	49.90**	49.90**	49.90**	44.10**	61.47**	60.43**	43.87**	70.61**	66.58**	55.63**
<i>Verde 0.8</i>	68.06**	60.41**	60.41**	60.41**	55.48**	69.09**	66.53**	49.08**	73.40**	71.92**	65.37**
<i>Verde 1.0</i>	57.02**	56.34**	56.34**	56.34**	50.96**	61.62**	60.18**	42.27**	58.77**	59.96**	59.35**
<i>Verde 1.2</i>	13.75 ^{ns}	29.02 ^{ns}	29.02 ^{ns}	29.02 ^{ns}	26.64 ^{ns}	22.57 ^{ns}	26.64 ^{ns}	10.09 ^{ns}	6.59 ^{ns}	7.48 ^{ns}	26.19 ^{ns}

Quadro 2B “conclusão”

<i>Verde 1.4</i>	-17.60 ^{ns}	7.72 ^{ns}	7.72 ^{ns}	7.72 ^{ns}	-3.68 ^{ns}	-9.91 ^{ns}	-1.42 ^{ns}	5.95 ^{ns}	-16.41 ^{ns}	-5.33 ^{ns}	2.98 ^{ns}
<i>Azul 0.2</i>	24.21 ^{ns}	41.29**	41.29**	41.29**	17.71 ^{ns}	24.95 ^{ns}	40.61**	37.74*	25.13 ^{ns}	43.29**	39.77*
<i>Azul 0.4</i>	27.57 ^{ns}	41.89**	41.89**	41.89**	23.59 ^{ns}	31.58*	44.09**	37.64*	31.82*	42.31**	41.48**
<i>Azul 0.6</i>	50.46**	53.51**	53.51**	53.51**	40.16**	53.46**	60.11**	43.33**	55.59**	57.45**	55.83**
<i>Azul 0.8</i>	65.14**	68.64**	68.64**	68.64**	60.33**	69.63**	71.35**	49.96**	63.05**	66.40**	70.79**
<i>Azul 1.0</i>	53.69**	68.21**	68.21**	68.21**	57.02**	61.29**	64.66**	39.96**	35.25*	46.86**	66.14**
<i>Azul 1.2</i>	14.04 ^{ns}	33.38*	33.38*	33.38*	30.43 ^{ns}	22.34 ^{ns}	24.37 ^{ns}	20.04 ^{ns}	0.32 ^{ns}	12.30 ^{ns}	29.77 ^{ns}
<i>Azul 1.4</i>	-10.23 ^{ns}	12.24 ^{ns}	12.24 ^{ns}	12.24 ^{ns}	10.73 ^{ns}	0.10 ^{ns}	3.31 ^{ns}	11.46 ^{ns}	-15.22 ^{ns}	-1.09 ^{ns}	8.57 ^{ns}

¹FA: Fragrância e Aroma; UN: Uniformidade; AD: Ausência de Defeitos; DÇ: Doçura; SA: Sabor; AC: Acidez; CO: Corpo; FI: Finalização; EQ: Equilíbrio; FN: Final; TO: Total. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

Quadro 3B Resultados da análise de correlação, entre os resultados das análises digitais das imagens obtidas no teste de tetrazólio modificado e das análises sensoriais de grãos de café, após 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

	FA ¹	UM	AD	DÇ	SA	AC	CO	FI	EQ	FN	TO
<i>Vermelho 0.2</i>	-7.68 ^{ns}	6.66 ^{ns}	6.66 ^{ns}	6.66 ^{ns}	-3.30 ^{ns}	-9.57 ^{ns}	-0.53 ^{ns}	2.42 ^{ns}	8.54 ^{ns}	2.23 ^{ns}	5.36 ^{ns}
<i>Vermelho 0.4</i>	-16.98 ^{ns}	-2.75 ^{ns}	-2.75 ^{ns}	-2.75 ^{ns}	-7.72 ^{ns}	-19.09 ^{ns}	-8.04 ^{ns}	-0.71 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.02 ^{ns}	-3.20 ^{ns}
<i>Vermelho 0.6</i>	-31.62*	-24.18 ^{ns}	-24.18 ^{ns}	-24.18 ^{ns}	-15.07 ^{ns}	-33.76*	-20.76 ^{ns}	-12.34 ^{ns}	-18.52 ^{ns}	-7.97 ^{ns}	-22.21 ^{ns}
<i>Vermelho 0.8</i>	-29.54 ^{ns}	-21.39 ^{ns}	-21.39 ^{ns}	-21.39 ^{ns}	-13.70 ^{ns}	-30.58 ^{ns}	-19.47 ^{ns}	-12.00 ^{ns}	-19.57 ^{ns}	-6.56 ^{ns}	-21.06 ^{ns}
<i>Vermelho 1.0</i>	-31.13*	-14.79 ^{ns}	-14.79 ^{ns}	-14.79 ^{ns}	-28.93 ^{ns}	-28.87 ^{ns}	-33.98*	-22.84 ^{ns}	-30.68 ^{ns}	-16.38 ^{ns}	-21.76 ^{ns}
<i>Vermelho 1.2</i>	-19.33 ^{ns}	-1.35 ^{ns}	-1.35 ^{ns}	-1.35 ^{ns}	-38.30*	-8.56 ^{ns}	-34.51*	-30.82*	-28.92 ^{ns}	-17.65 ^{ns}	-12.83 ^{ns}
<i>Vermelho 1.4</i>	-7.13 ^{ns}	1.81 ^{ns}	1.81 ^{ns}	1.81 ^{ns}	-30.58 ^{ns}	2.01 ^{ns}	-20.23 ^{ns}	-18.38 ^{ns}	-17.99 ^{ns}	-1.27 ^{ns}	-5.87 ^{ns}
<i>Verde 0.2</i>	39.97* *	50.11**	50.11**	50.11**	19.09 ^{ns}	51.16**	23.81 ^{ns}	18.12 ^{ns}	34.66*	18.18 ^{ns}	43.26**
<i>Verde 0.4</i>	49.85* *	60.61**	60.61**	60.61**	25.83 ^{ns}	61.22**	32.83*	26.07 ^{ns}	44.30**	28.02 ^{ns}	53.64**
<i>Verde 0.6</i>	65.76* *	79.02**	79.02**	79.02**	40.06**	75.72**	50.12**	44.44**	63.45**	49.47**	72.65**
<i>Verde 0.8</i>	72.88* *	90.89**	90.89**	90.89**	51.65**	82.18**	62.40**	59.95**	76.43**	66.19**	85.30**
<i>Verde 1.0</i>	65.93* *	79.45**	79.45**	79.45**	47.71**	70.95**	56.69**	60.49**	67.07**	65.02**	78.56**
<i>Verde 1.2</i>	-39.57*	-46.30**	-46.30**	-46.30**	-29.72 ^{ns}	-48.41**	-32.06*	-14.22 ^{ns}	-40.01**	-19.58 ^{ns}	-40.72**

Quadro 3B “conclusão”

<i>Verde 1.4</i>	-28.52 ^{ns}	-27.82 ^{ns}	-27.82 ^{ns}	-27.82 ^{ns}	-26.03 ^{ns}	-30.19 ^{ns}	-20.51 ^{ns}	-7.28 ^{ns}	-25.34 ^{ns}	-13.95 ^{ns}	-25.76 ^{ns}
<i>Azul 0.2</i>	18.89 ^{ns}	29.88 ^{ns}	29.88 ^{ns}	29.88 ^{ns}	21.17 ^{ns}	23.26 ^{ns}	11.66 ^{ns}	0.10 ^{ns}	27.01 ^{ns}	2.33 ^{ns}	24.74 ^{ns}
<i>Azul 0.4</i>	35.28*	47.26**	47.26**	47.26**	26.56 ^{ns}	43.57**	23.01 ^{ns}	10.68 ^{ns}	38.08*	14.75 ^{ns}	40.62**
<i>Azul 0.6</i>	60.57**	75.09**	75.09**	75.09**	41.61**	70.38**	45.99**	36.56*	62.10**	43.88**	68.44**
<i>Azul 0.8</i>	70.66**	88.66**	88.66**	88.66**	51.41**	79.19**	59.13**	56.93**	74.37**	62.87**	83.55**
<i>Azul 1.0</i>	3.71 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.29 ^{ns}	-1.13 ^{ns}	0.40 ^{ns}	-10.14 ^{ns}	3.56 ^{ns}	-6.13 ^{ns}	1.31 ^{ns}	0.16 ^{ns}
<i>Azul 1.2</i>	-43.90**	-50.07**	-50.07**	-50.07**	-32.26*	-53.54**	-35.53*	-19.01 ^{ns}	-41.11**	-27.91 ^{ns}	-45.32**
<i>Azul 1.4</i>	-13.65 ^{ns}	-16.09 ^{ns}	-16.09 ^{ns}	-16.09 ^{ns}	-21.37 ^{ns}	-14.55 ^{ns}	-18.77 ^{ns}	-4.80 ^{ns}	-17.40 ^{ns}	-13.58 ^{ns}	-15.21 ^{ns}

¹FA: Fragrância e Aroma; UN: Uniformidade; AD: Ausência de Defeitos; DÇ: Doçura; SA: Sabor; AC: Acidez; CO: Corpo; FI: Finalização; EQ: Equilíbrio; FN: Final; TO: Total. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

Tabela 2B Resumo das análises de variância dos índices obtidos das análises digitais de imagens, para os limiares (*Thresholds*) correspondentes à resposta a banda do vermelho, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios						
		Red 0.2	Red 0.4	Red 0.6	Red 0.8	Red 1.0	Red 1.2	Red 1.4
Lotes (L)	9	2,04E-08 ^{ns}	1,40E-07 ^{ns}	0,000006 ^{ns}	0,000554*	0,014503*	0,087293*	0,044853*
Épocas (E)	2	5,31E-07*	0,000002*	0,000016*	0,000180 ^{ns}	0,047398*	1,021159*	1,943934*
L X E	18	2,43E-08 ^{ns}	2,16E-07 ^{ns}	0,000010*	0,000456*	0,006877*	0,016937*	0,015538*
Erro	90	2,10E-08	1,45E-07	0,000004	0,000061	0,000543	0,001954	0,001181
CV (%)		176,15	146,64	111,82	54,62	28,82	13,12	4,52

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Tabela 3B Resumo das análises de variância dos índices obtidos das análises digitais de imagens, para os limiares (*Thresholds*) correspondentes à resposta a banda do verde, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios						
		Green 0.2	Green 0.4	Green 0.6	Green 0.8	Green 1.0	Green 1.2	Green 1.4
Lotes (L)	9	0,006111*	0,020381*	0,059165*	0,057590*	0,006965*	0,000931*	0,000719*
Épocas (E)	2	0,174794*	0,456086*	0,649303*	0,222048*	0,014635*	0,069364*	0,014468*
L X E	18	0,004797*	0,011848*	0,020143*	0,008471*	0,001474*	0,000843*	0,000693*
Erro	90	0,000351	0,000690	0,001246	0,000776	0,000300	0,000134	0,000079
CV (%)		38,85	21,45	10,77	4,73	2,31	1,28	0,91

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Tabela 4B Resumo das análises de variância dos índices obtidos das análises digitais de imagens, para os limiares (*Thresholds*) correspondentes à resposta a banda do azul, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios						
		Blue 0.2	Blue 0.4	Blue 0.6	Blue 0.8	Blue 1.0	Blue 1.2	Blue 1.4
Lotes (L)	9	0,000250*	0,022651*	0,042495*	0,019095*	0,000793*	0,000514*	0,000088*
Épocas (E)	2	0,011279*	0,732255*	0,861650*	0,175186*	0,001989*	0,032456*	0,002263*
L X E	18	0,298144*	0,015547*	0,011974*	0,002954*	0,000712*	0,000671*	0,000165*
Erro	90	0,012080	0,000555	0,000882	0,000378	0,000119	0,000092	0,000030
CV (%)		23,51	15,17	7,56	2,91	1,33	1,03	0,55

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

^{ns}Não significativo.

Tabela 5B Resumo da análise de variância dos índices obtidos da análise visual (IAV) dos grãos de café após coloração em sal de tetraqzólíio. Lavras, MG, Brasil, 2013.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio
		IC
Lotes (L)	9	2271,7376*
Épocas (E)	2	921,0413*
L X E	18	86,4576*
Erro	90	15,4369
CV (%)		26,43

*Significativo pelo teste de F a 1 e 5% de probabilidade.

Tabela 6B Frequência média de partes dos grãos de café para as notas atribuídas na análise visual da imagem do endosperma, corado pelo tetrazólio, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

Lotes	0 Meses						3 Meses						6 Meses					
	Notas						Notas						Notas					
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
1	22.25	13.75	9.00	4.50	0.25	0.25	3.25	45.75	1.00	0.00	0.00	0.00	7.00	36.50	6.25	0.25	0.00	0.00
2	21.50	21.25	7.25	0.00	0.00	0.00	41.75	5.75	2.50	0.00	0.00	0.00	4.50	38.25	6.00	1.00	0.25	0.00
3	36.25	4.75	7.75	1.25	0.00	0.00	12.00	36.75	1.25	0.00	0.00	0.00	1.25	42.50	5.75	0.50	0.00	0.00
4	43.00	6.50	0.50	0.00	0.00	0.00	45.00	3.25	1.75	0.00	0.00	0.00	8.75	38.50	2.75	0.00	0.00	0.00
5	43.00	4.50	2.50	0.00	0.00	0.00	48.25	1.00	0.75	0.00	0.00	0.00	15.25	29.00	5.25	0.50	0.00	0.00
6	43.00	4.50	2.50	0.00	0.00	0.00	44.25	2.25	3.25	0.25	0.00	0.00	18.25	24.50	6.00	1.25	0.00	0.00
7	44.00	5.00	1.00	0.00	0.00	0.00	26.50	23.25	0.25	0.00	0.00	0.00	32.00	13.00	4.25	0.75	0.00	0.00
8	48.75	0.50	0.75	0.00	0.00	0.00	20.50	29.50	0.00	0.00	0.00	0.00	28.50	15.00	5.75	0.75	0.00	0.00
9	46.00	2.25	1.75	0.00	0.00	0.00	20.00	30.00	0.00	0.00	0.00	0.00	15.50	31.25	3.00	0.25	0.00	0.00
10	7.50	0.00	9.50	16.00	12.75	4.25	9.00	8.75	7.25	9.75	10.50	4.75	1.50	7.00	15.75	12.00	9.50	4.25

Quadro 4B Resultados da análise de correlação entre os índices de análise visuals de grãos de café (IAV), cada nota atribuída no teste de análise visual e a análise digital de imagens do tetrazólio modificado e a nota total da avaliação sensorial de grãos de café, antes do armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

	IAV	Nota 0	Nota 1	Nota 2	Nota 3	Nota 4	Nota 5
<i>Vermelho 0.2</i>	-0.05 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.22 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	-0.09 ^{ns}	-0.09 ^{ns}
<i>Vermelho 0.4</i>	-0.03 ^{ns}	-0.18 ^{ns}	0.42**	0.35*	-0.16 ^{ns}	-0.16 ^{ns}	-0.15 ^{ns}
<i>Vermelho 0.6</i>	-0.01 ^{ns}	-0.29 ^{ns}	0.69**	0.37*	-0.18 ^{ns}	-0.21 ^{ns}	-0.19 ^{ns}
<i>Vermelho 0.8</i>	-0.01 ^{ns}	-0.33*	0.78**	0.38*	-0.16 ^{ns}	-0.24 ^{ns}	-0.22 ^{ns}
<i>Vermelho 1.0</i>	-0.01 ^{ns}	-0.34*	0.81**	0.36*	-0.16 ^{ns}	-0.25 ^{ns}	-0.22 ^{ns}
<i>Vermelho 1.2</i>	0.01 ^{ns}	-0.33*	0.71**	0.38*	-0.11 ^{ns}	-0.23 ^{ns}	-0.18 ^{ns}
<i>Vermelho 1.4</i>	0.17 ^{ns}	-0.31 ^{ns}	0.34*	0.28 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.05 ^{ns}
<i>Verde 0.2</i>	-0.09 ^{ns}	-0.23 ^{ns}	0.79**	0.15 ^{ns}	-0.24 ^{ns}	-0.25 ^{ns}	-0.23 ^{ns}
<i>Verde 0.4</i>	-0.24 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.82**	0.07 ^{ns}	-0.36*	-0.39*	-0.36*
<i>Verde 0.6</i>	-0.48**	0.13 ^{ns}	0.75**	-0.09 ^{ns}	-0.53**	-0.60**	-0.54**
<i>Verde 0.8</i>	-0.73**	0.50**	0.42**	-0.36*	-0.68**	-0.74**	-0.66**
<i>Verde 1.0</i>	-0.61**	0.50**	0.16 ^{ns}	-0.46**	-0.51**	-0.54**	-0.47**
<i>Verde 1.2</i>	0.08 ^{ns}	0.01 ^{ns}	-0.20 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.12 ^{ns}
<i>Verde 1.4</i>	0.17 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	-0.29 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.16 ^{ns}
<i>Azul 0.2</i>	-0.20 ^{ns}	-0.17 ^{ns}	0.86**	0.18 ^{ns}	-0.34*	-0.39*	-0.36*

Quadro 4B “conclusão”

<i>Azul 0.4</i>	-0.22 ^{ns}	-0.16 ^{ns}	0.87**	0.18 ^{ns}	-0.35*	-0.42**	-0.38*
<i>Azul 0.6</i>	-0.39*	0.03 ^{ns}	0.74**	0.09 ^{ns}	-0.44**	-0.57**	-0.51**
<i>Azul 0.8</i>	-0.66**	0.46**	0.32*	-0.29 ^{ns}	-0.60**	-0.68**	-0.59**
<i>Azul 1.0</i>	-0.44**	0.47**	-0.13 ^{ns}	-0.45**	-0.29 ^{ns}	-0.35*	-0.31 ^{ns}
<i>Azul 1.2</i>	0.01 ^{ns}	0.21 ^{ns}	-0.52**	-0.25 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.09 ^{ns}
<i>Azul 1.4</i>	0.12 ^{ns}	0.11 ^{ns}	-0.48**	-0.25 ^{ns}	0.23 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.23 ^{ns}
Nota Total	-0.88**	0.67**	0.28 ^{ns}	-0.42**	-0.79**	-0.84**	-0.76**

IAV: índice de análise visual. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

Quadro 5B Resultados da análise de correlação entre o índice de análise visual do endosperma de grãos de café (IAV), cada nota atribuída no teste de análise visual e a análise digital de imagens do tetrazólio modificado e a nota total da avaliação sensorial de grãos de café, após 3 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

	IAV	Nota 0	Nota 1	Nota 2	Nota 3	Nota 4	Nota 5
<i>Vermelho 0.2</i>	-0.17 ^{ns}	0.15 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.13 ^{ns}	-0.13 ^{ns}	-0.13 ^{ns}
<i>Vermelho 0.4</i>	-0.23 ^{ns}	0.25 ^{ns}	-0.17 ^{ns}	-0.07 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	-0.15 ^{ns}
<i>Vermelho 0.6</i>	-0.25 ^{ns}	0.19 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	-0.21 ^{ns}	-0.21 ^{ns}	-0.22 ^{ns}
<i>Vermelho 0.8</i>	-0.11 ^{ns}	-0.18 ^{ns}	0.34*	-0.16 ^{ns}	-0.29 ^{ns}	-0.28 ^{ns}	-0.29 ^{ns}
<i>Vermelho 1.0</i>	0.01 ^{ns}	-0.45**	0.64**	-0.22 ^{ns}	-0.31 ^{ns}	-0.29 ^{ns}	-0.30 ^{ns}
<i>Vermelho 1.2</i>	0.00 ^{ns}	-0.50**	0.73**	-0.33*	-0.35*	-0.35*	-0.34*
<i>Vermelho 1.4</i>	-0.00 ^{ns}	-0.45**	0.66**	-0.35*	-0.28 ^{ns}	-0.32*	-0.31 ^{ns}
<i>Verde 0.2</i>	0.01 ^{ns}	-0.53**	0.76**	-0.42**	-0.37*	-0.30 ^{ns}	-0.35*
<i>Verde 0.4</i>	-0.05 ^{ns}	-0.50**	0.77**	-0.51**	-0.44**	-0.35*	-0.41**
<i>Verde 0.6</i>	-0.15 ^{ns}	-0.45**	0.79**	-0.65**	-0.54**	-0.45**	-0.50**
<i>Verde 0.8</i>	-0.30 ^{ns}	-0.30 ^{ns}	0.69**	-0.70**	-0.64**	-0.55**	-0.61**
<i>Verde 1.0</i>	-0.30 ^{ns}	-0.21 ^{ns}	0.57**	-0.56**	-0.61**	-0.49**	-0.59**
<i>Verde 1.2</i>	-0.29 ^{ns}	0.20 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	-0.24 ^{ns}	-0.24 ^{ns}	-0.34*
<i>Verde 1.4</i>	-0.07 ^{ns}	0.07 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	0.08 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.09 ^{ns}
<i>Azul 0.2</i>	-0.13 ^{ns}	-0.32*	0.57**	-0.34*	-0.44**	-0.35*	-0.44**
<i>Azul 0.4</i>	-0.13 ^{ns}	-0.34*	0.60**	-0.39*	-0.46**	-0.35*	-0.44**

Quadro 5B “conclusão”

<i>Azul 0.6</i>	-0.19 ^{ns}	-0.39*	0.74**	-0.60**	-0.57**	-0.48**	-0.55**
<i>Azul 0.8</i>	-0.41**	-0.16 ^{ns}	0.58**	-0.65**	-0.69**	-0.63**	-0.70**
<i>Azul 1.0</i>	-0.52**	0.09 ^{ns}	0.29 ^{ns}	-0.48**	-0.65**	-0.62**	-0.72**
<i>Azul 1.2</i>	-0.37**	0.30 ^{ns}	-0.14 ^{ns}	-0.16 ^{ns}	-0.25 ^{ns}	-0.33*	-0.35*
<i>Azul 1.4</i>	-0.21 ^{ns}	0.26 ^{ns}	-0.21 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	-0.16 ^{ns}	-0.10 ^{ns}
Nota Total	-0.86**	0.32*	0.25 ^{ns}	-0.77**	-0.94**	-0.96**	-0.97**

¹IAV: índice de análise visual. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

Quadro 6B Resultados da análise de correlação entre o índice de análise visual do endosperma de grãos de café (IAV), cada nota atribuída no teste de análise visual e a análise digital de imagens do tetrazólio modificado e a nota total da avaliação sensorial de grãos de café, após 6 meses de armazenamento, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2013.

	IAV	Nota 0	Nota 1	Nota 2	Nota 3	Nota 4	Nota 5
<i>Vermelho 0.2</i>	-0.05 ^{ns}	0.06 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	0.03 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	0.00 ^{ns}
<i>Vermelho 0.4</i>	-0.03 ^{ns}	0.18 ^{ns}	-0.21 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.06 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	0.08 ^{ns}
<i>Vermelho 0.6</i>	0.07 ^{ns}	0.29 ^{ns}	-0.44**	0.08 ^{ns}	0.27 ^{ns}	0.20 ^{ns}	0.20 ^{ns}
<i>Vermelho 0.8</i>	0.01 ^{ns}	0.35*	-0.43**	-0.04 ^{ns}	0.24 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.16 ^{ns}
<i>Vermelho 1.0</i>	0.07 ^{ns}	0.06 ^{ns}	-0.14 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.09 ^{ns}
<i>Vermelho 1.2</i>	0.12 ^{ns}	-0.32*	0.28 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.02 ^{ns}	-0.01 ^{ns}
<i>Vermelho 1.4</i>	0.04 ^{ns}	-0.19 ^{ns}	0.22 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	0.01 ^{ns}	-0.04 ^{ns}
<i>Verde 0.2</i>	-0.21 ^{ns}	-0.46**	0.82**	-0.31*	-0.47**	-0.46**	-0.44**
<i>Verde 0.4</i>	-0.32*	-0.42**	0.88**	-0.40*	-0.59**	-0.55**	-0.53**
<i>Verde 0.6</i>	-0.55**	-0.20 ^{ns}	0.86**	-0.58**	-0.77**	-0.71**	-0.69**
<i>Verde 0.8</i>	-0.74**	0.09 ^{ns}	0.72**	-0.70**	-0.86**	-0.79**	-0.79**
<i>Verde 1.0</i>	-0.65**	0.18 ^{ns}	0.54**	-0.71**	-0.71**	-0.62**	-0.62**
<i>Verde 1.2</i>	0.27 ^{ns}	0.30 ^{ns}	-0.65**	0.18 ^{ns}	0.51**	0.51**	0.42**
<i>Verde 1.4</i>	0.16 ^{ns}	0.24 ^{ns}	-0.49**	0.24 ^{ns}	0.32*	0.28 ^{ns}	0.25 ^{ns}
<i>Azul 0.2</i>	-0.16 ^{ns}	-0.23 ^{ns}	0.46**	-0.18 ^{ns}	-0.31*	-0.30 ^{ns}	-0.26 ^{ns}
<i>Azul 0.4</i>	-0.26 ^{ns}	-0.33*	0.70**	-0.30	-0.49**	-0.46**	-0.42**

Quadro 6B “conclusão”

<i>Azul 0.6</i>	-0.53**	-0.18 ^{ns}	0.82**	-0.52**	-0.75**	-0.71**	-0.64**
<i>Azul 0.8</i>	-0.71**	0.10 ^{ns}	0.68**	-0.65**	-0.86**	-0.79**	-0.71**
<i>Azul 1.0</i>	-0.00 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	0.09 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	0.00 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	0.01 ^{ns}
<i>Azul 1.2</i>	0.31 ^{ns}	0.31 ^{ns}	-0.74**	0.38*	0.54**	0.48**	0.45**
<i>Azul 1.4</i>	0.19 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	-0.18 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.15 ^{ns}
Nota Total	-0.86**	0.38*	0.46**	-0.69**	-0.87**	-0.86**	-0.75**

¹IAV: índice de análise visual. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$). * significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0.01 \leq p < 0.05$). ^{ns}Não significativo.

ANEXOS

ANEXO A. Segmentação das partes dos grãos

A segmentação das partes dos grãos de café foi realizada na imagem já cortada, onde além das partes dos grãos aparecem na imagem os espaços brancos entre elas.

Para a distinção das partes dos grãos na imagem, foi utilizada a banda azul, pois esta banda apresentou melhor contraste das partes em relação ao plano de fundo da imagem (Figura 2).

A segmentação ocorreu em duas etapas: uma segmentação grosseira e um refinamento da segmentação.

Segmentação grosseira: foi realizado o threshold de Otsu na banda azul, com o uso das seguintes funções da Image Processing Toolbox do Matlab:

```
% segmentação grosseira  
otsu = graythresh(ff);
```

O resultado obtido é similar ao apresentado na Figura 3, com muitos buracos e pontos isolados fora das partes dos grãos de café. Nota-se que a parte do grão está em preto e o fundo da imagem em branco.

Refinamento da segmentação: Primeiramente, foi inserida uma borda branca na imagem, para que todas as ferramentas de morfologia matemática funcionasse corretamente, conforme o procedimento abaixo:

```
% inserir frame  
s = size(bin);  
sbin = 255*uint8(ones(s + 2));  
sbin(2:end-1,2:end-1) = bin;
```

Em seguida, é feita uma seqüência de operações morfológicas para:

- i) remover linhas verticais e pontos brancos no interior. Faz-se a erosão da imagem por um segmento de reta horizontal menor que a largura da parte do grão de café. Função `mmero` da SDC Morphology Toolbox 1.6.
- ii) remover pontos ou regiões pretas fora das partes dos grãos. Faz-se um fechamento por área menor que a área da parte do grão. A área de uma parte do grão é estimada com base no tamanho da imagem e o número de partes nela presentes. Função `mmareaclose` da SDC Morphology Toolbox 1.6.
- iii) suavizar as bordas das partes dos grãos segmentada. Faz-se uma abertura seguida de um fechamento por discos Euclidianos. Funções `mmopen` e `mmclose` da SDC Morphology Toolbox 1.6.
- iv) negar a imagem para deixar a parte do grão em branco e o fundo em preto. Função `mmneg` da SDC Morphology Toolbox 1.6.

Abaixo o código Matlab em continuação do código apresentado acima.

O resultado obtido é similar ao apresentado na Figura 4.

```
% morfologia matematica com tamanhos relativos
v = mmero(sbin, mmseline(8));
ss = s(1)*s(2)/500;
v = mmareaclose(v, ss);
v = mmopen(v, mmsedisk(s(2)/125));
v = mmclose(v, mmsedisk(s(2)/75));
v = mmneg(v);
```