



**QUALIDADE DA BEBIDA E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE DO CAFÉ *IN VIVO* E *IN VITRO***

SHEILA ANDRADE ABRAHÃO

2007

SHEILA ANDRADE ABRAHÃO

**QUALIDADE DA BEBIDA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO
CAFÉ *IN VIVO* E *IN VITRO***

**Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Lavras, como parte das
exigências do Programa de Pós Graduação
Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos,
para a obtenção do título de “Mestre”.**

Orientadora:

Profa. Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira

LAVRAS, MG

2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Abrahão, Sheila Andrade.

Qualidade da bebida e atividade antioxidante do café *in vivo* e *in vitro*. /
Sheila Andrade Abrahão. -- Lavras : UFLA, 2007.

82 p. : il.

Orientador: Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Café. 2. Qualidade. 3. Antioxidante. 4. Peroxidação lipídica.

I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD- 663.93

SHEILA ANDRADE ABRAHÃO

**QUALIDADE DA BEBIDA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO
CAFÉ *IN VIVO* E *IN VITRO***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 27 de julho de 2007

Profa. Dra. Stella Maris da Silveira Duarte

UNIFAL-MG

Profa. Dra. Maria de Fátima Píccolo Barcelos

UFLA

Prof. Dr. Raimundo Vicente de Souza

UFLA

Profa. Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira

UFLA

(Orientadora)

LAVRAS, MG

2007

A Deus, pela saúde, força e coragem.

OFEREÇO.

Aos meus pais, Edinaldo e Marise.

Ao meu irmão, Adriano.

Ao Filipe.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realização do curso.

À professora Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira, pela oportunidade de me desenvolver profissionalmente, por sua valiosa orientação em todas as etapas desse trabalho, pela amizade e estímulo sempre demonstrados.

Aos professores do Programa de Pós Graduação do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, pela formação acadêmica que me proporcionaram.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Às colegas de pós-graduação e principalmente amigas, Marisa e Suzana, pelo companheirismo.

À Adriene pela essencial colaboração e amizade.

Ao Jorge Menezes de Assis, pela concessão das amostras.

À Eliana, Tina, Sandra e Edson por toda atenção, simpatia, apoio e dedicação.

À Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL – MG), pela oportunidade, em especial à professora Dra. Stela Maris da Silveira Duarte, minha co-orientadora, pela orientação, ensinamentos e amizade durante o curso de pós-graduação.

À Elisângela e Leandro, pelos valiosos ensinamentos, amizade e auxílio.

Ao Eric pelas sugestões e apoio nas análises estatísticas.

À todos que direta ou indiretamente, contribuíram de forma positiva para a realização deste trabalho, meu profundo agradecimento.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	04
2.1 Importância econômica do café.....	04
2.2 Preparo e Consumo do Café.....	06
2.3 Qualidade e Classificação do Café.....	09
2.4 Composição Química em Relação à Qualidade da Bebida.....	13
2.5 Compostos Fenólicos.....	17
2.6 Café e Saúde.....	20
2.6.1 Café e Oxidações Biológicas.....	22
2.6.2 Café e Danos Hepáticos.....	27
2.7 Indução de Injúria Hepática com Tetracloreto de Carbono (CCl ₄) e Testes da Função Hepática.....	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1 Matéria-prima e Instalações.....	33
3.2 Análise Sensorial.....	33
3.3 Preparo da amostra.....	33
3.4 Análise de cor.....	34
3.5 Preparo da bebida.....	35
3.6 Análise de sólidos solúveis	35
3.7 Determinação do teor de compostos fenólicos.....	35
3.8 Determinação dos teores de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico.....	36
3.9 Atividade antioxidante <i>in vitro</i>	36
3.9.1 Atividade Sequestrante de radicais livres DPPH.....	36

3.9.2 Avaliação do poder redutor.....	37
3.10 Análises <i>in vivo</i>	37
3.10.1 Determinação da inibição da peroxidação de lipídeos.....	38
3.10.2 Determinação da concentração de proteínas.....	39
3.10.3 Determinação dos marcadores de função hepática.....	39
3.11 Tratamentos e Delineamento Experimental.....	40
3.12 Análise Estatística.....	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1 Análise de Cor.....	41
4.2 Compostos Fenólicos.....	42
4.3 Extrato Aquoso.....	44
4.4 Cafeína, Trigonelina e Ácido Clorogênico.....	45
4.5 Atividade Seqüestrante de Radicais Livres.....	49
4.6 Poder redutor.....	52
4.7 Inibição da peroxidação de lipídios <i>in vivo</i>	53
4.8 Provas da função hepática.....	57
4.8.1 Atividade das transaminases ALT e AST.....	57
4.8.2 Gama GT, Glicose, Fosfatase Alcalina e Uréia.....	60
5 CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
ANEXO.....	78

RESUMO

ABRAHÃO, Sheila Andrade. **Qualidade da bebida e atividade antioxidante do café *in vivo* e *in vitro***. 2007. 82p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. *

O presente trabalho se propôs a avaliar o potencial antioxidante e protetor hepático de dois padrões da bebida do café (rio e mole), utilizando modelos *in vitro* e *in vivo*. Em todos os experimentos foram utilizadas bebidas preparadas no momento do uso, seguindo a mesma metodologia. Foram determinados o teor de compostos fenólicos, ácido clorogênico, cafeína, trigonelina e extrato aquoso das bebidas. A avaliação *in vitro* do potencial antioxidante foi investigada pelos métodos de captação do radical DPPH e pelo poder redutor. Com o intuito de avaliar o papel hepatoprotetor do café contra o estresse oxidativo *in vivo*, os animais receberam doses intraperitoneais de tetracloreto de carbono e doses diárias de café por gavagem. Após o tratamento foi traçado o perfil hepático dos animais por meio dos parâmetros bioquímicos AST, ALT, GGT, fosfatase alcalina, glicose e uréia. Os dois padrões de bebida do café analisados não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quanto aos parâmetros cor, extrato aquoso, ácido clorogênico e cafeína. O café *in natura* bebida rio apresentou maior teor de polifenóis e trigonelina que o café bebida mole. Houve diminuição dos teores de compostos fenólicos, ácido clorogênico e trigonelina após a torração. A bebida do café independente da qualidade sensorial apresentou alto poder redutor e importante atividade sequestrante de radicais livres. O café administrado inibiu significativamente a peroxidação lipídica induzida pelo tetracloreto de carbono ($p < 0,05$) quando comparada ao controle. O tratamento com café torrado bebida mole foi eficaz na proteção do fígado dos animais contra a injúria provocada pelo tetracloreto de carbono, sendo este efeito hepatoprotetor comprovado pelas provas da função hepática. Os dados obtidos permitem sugerir que a bebida do café apresenta potencial atividade antioxidante e considerável efeito hepatoprotetor.

* Comitê Orientador: Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira – UFLA (Orientadora), Stella Maris da Silveira Duarte – UNIFAL-MG (Co-Orientadora), Eric Batista Ferreira – UFLA (Co-Orientador).

ABSTRACT

ABRAHÃO, Sheila Andrade. **Quality of the beverage and antioxidant activity of the coffee *in vivo* and *in vitro***. 2007. 82p. Dissertation (Master degree in Food Science) – Federal University of Lavras, Lavras.*

The present work had the purpose of evaluating the antioxidant potential and liver protector effect of two coffee sorts (soft and river), being used models *in vitro* and *in vivo*. In all the experiments had been used beverages prepared at the moment of the use, following the same methodology. Had been determined the phenolic composite content, chlorogenic acid, caffeine, trigonelline and watery extract of the beverages. The evaluation *in vitro* of the antioxidant potential was investigated by the methods of captation of radical DPPH and by the reducing power. With intention to evaluate the hepatoprotector paper of the coffee against it in oxidative stress *in vivo*, the animals had received intraperitoneally doses from carbon tetrachloride and daily doses of coffee for gavage. After the treatment was traced the liver profile of the animals by means of the parameters biochemists AST, ALT, GGT, alkaline phosphatase, glucose and urea. The two analyzed sorts of coffee had not presented statistic differences for the parameters color, watery extract, chlorogenic acid and caffeine. The raw coffee in river beverage presented greater content of phenolics and trigonelline that the coffee soft beverage. It had reduction of phenolic composite content, chlorogenic acid and trigonelline after the toast. The coffee independent of the sensorial quality presented high reducing ability and important captation activity of free radicals. The managed coffee significantly inhibited the induced lipid peroxidation for the tetrachloride ($p < 0,05$) when compared with the control. The treatment with toasted coffee soft beverage was efficient in the protection of the liver of the animals against the injury provoked for the carbon tetrachloride, being this hetoprotector effect proven by the tests of the liver function. The achieved data allow suggesting that coffee presents potential antioxidant activity and considerable hepatoprotector effect.

* Guidance Committee: Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira – UFLA (Adviser), Stella Maris da Silveira Duarte – UNIFAL-MG (Co-Adviser), Eric Batista Ferreira – UFLA (Co-Adviser).

1 INTRODUÇÃO

O café é um produto nobre do agronegócio e da pauta de exportações no Brasil, ocupando lugar de destaque na história do desenvolvimento do país. O sabor e o aroma de sua bebida conferem grande receptividade a este produto, cujo consumo se tornou um hábito mundial.

Na última década a demanda por cafés diferenciados intensificou-se, o setor cafeeiro vem investindo cada vez mais na produção de cafés com qualidade devido à exigência do mercado consumidor. Para se enquadrar neste novo cenário os produtores necessitam, cada vez mais, dedicar grande atenção às diversas etapas da cadeia agroindustrial como condução da lavoura, colheita e pós-colheita, visto que atributos físicos e sensoriais de sabor e aroma, influenciados por estes processos, são decisivos para classificação dos cafés.

A classificação oficial da bebida do café é realizada após a degustação da amostra por provadores treinados que podem enquadrá-la em classes superiores como estritamente mole, mole e apenas mole, classe intermediária como a classificação de bebida dura, ou classes inferiores como bebida riada, rio e rio zona. A classificação é uma operação importante em nível comercial, pois através dela é determinada a qualidade do café, da qual depende seu preço e sua aceitação no mercado.

Inúmeros trabalhos tentam correlacionar a qualidade final da bebida do café com a composição química do grão cru, sugerindo que cafés de qualidade inferior apresentam menores teores de açúcares e proteínas e maiores teores de acidez total titulável e, principalmente, de compostos fenólicos, porém os resultados ainda não são conclusivos.

Os compostos fenólicos além de serem relatados como contribuintes do sabor e aroma característicos das bebidas de café são conhecidos devido às propriedades fisiológicas e farmacológicas que conferem a saúde humana, como

a atividade antioxidante *in vitro* e efeito hepatoprotetor. Entre os principais componentes da fração fenólica figuram os ácidos clorogênicos (CGA) e seus isômeros, considerados os mais importantes e os que se apresentam em maior quantidade nos grãos de café cru. Durante o processamento do café, os CGA podem sofrer alterações. As altas temperaturas utilizadas no processo de torrefação produzem a polimerização dos CGA com outros componentes do café para formar melanoidinas, as quais demonstram efeitos duplos *in vitro*, de ação pro e antioxidante.

Além do prazer proporcionado pela degustação de bebidas diversificadas, o potencial do café como um alimento nutracêutico (nutricional e farmacêutico), capaz de incrementar a qualidade de vida da população, tem despertado a atenção de pesquisadores e consumidores. Entre os prováveis efeitos benéficos atribuídos ao consumo do café destacam-se os antidepressivos, menores riscos de suicídio, ajuda na redução de colesterol do sangue, diminuição do desenvolvimento da doença de Parkinson, proteção contra diabetes do tipo 2 e ação antioxidante (Encarnação & Lima, 2003).

Constatações científicas deixam cada vez mais evidente que o café, devido ao seu potencial poder antioxidante, contribui significativamente para a proteção do fígado contra o desenvolvimento de doenças. Estudos epidemiológicos demonstram um efeito favorável do café na função hepática, principalmente como agente capaz de impedir injúrias no fígado e cirrose, além de reduzir a formação de carcinoma hepatocelular, sendo o café um meio eficaz, barato e agradável de combater tais patologias. No entanto, outras pesquisas contradizem os efeitos benéficos da ingestão da bebida do café, indicando uma possível ação deste sobre o desenvolvimento de diferentes tipos de tumores, inclusive no fígado. Segundo Ozercan (2006), mais trabalhos *in vivo* são necessários para elucidar os efeitos do consumo de café na injúria hepática.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo analisar a influência de dois padrões da bebida do café na atividade antioxidante *in vitro* e na lipoperoxidação hepática induzida por tetracloreto de carbono *in vivo*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância econômica do café

O cafeeiro pertence ao gênero *Coffea*, membro da família *Rubiaceae*. Apesar de apresentar mais de oitenta espécies, a produção comercial do café baseia-se em apenas duas, *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre (robusta) (Monroy, 2005). É uma planta perene, dicotiledônea, de porte arbustivo ou arbóreo, de caule lenhoso, folhas persistentes e flores hermafroditas. O café arábica tem a altura média de 3 a 5 metros, podendo chegar a 10 metros, seu tronco tem de 8 a 10 centímetros de diâmetro, suas raízes podem chegar a até 1,5m de profundidade e seus frutos vão do verde ao vermelho, passando pelo amarelo (Smith & Anderson, 1987). É uma planta originária do Continente Africano, das regiões altas da Etiópia (Cafa e Enária), podendo ser a região de Cafa responsável pela origem do nome café (Graner & Godoy Junior, 1967).

No Brasil, as primeiras plantas foram cultivadas em 1727, provenientes da Guiana Francesa. Nesta época, a maior parte do capital e da mão de obra disponíveis era atraída pela mineração, o que não permitiu um rápido avanço da cultura cafeeira. Só no começo do século XIX o café surgiu como produto economicamente importante para o país, pois o esgotamento do ouro fez renascer as atividades agrícolas. Mesmo assim até 1830, o açúcar e o algodão desfavoreciam a plantação de cafezais, pois o café, era tido como um vegetal exigente, que precisava de temperatura amena, solo nutritivo e chuvas regulares e bem distribuídas pelo ano (Domingues & Fiusa, 1996).

A partir de então, a cultura cafeeira evoluiu e ocupou relevante espaço na economia nacional (Encarnação & Lima, 2003). Atualmente o Brasil ocupa a segunda posição entre os maiores consumidores mundiais de café e a primeira dentre os maiores produtores, destacando-se ainda, o fato de ser o único país

produtor que consome parcela significativa da sua produção. Esse fato garante ao país certa vantagem comparativa diante dos concorrentes, que dependem fortemente do mercado externo para comercializar suas produções (Trugo & Moraes, 2001). Em relação ao consumo per capita, o Brasil ocupa posição intermediária, situando-se entre os países nórdicos e os europeus, que têm os maiores índices mundiais, e os EUA, os países orientais e as demais nações do mundo (Associação Brasileira da Indústria de Café - ABIC, 2007).

O café é um dos produtos de maior comercialização no mercado internacional, devido à grande receptividade que tem a sua bebida. O cultivo, a industrialização e a comercialização deste produto são de extrema importância para o Brasil, pois geram grandes divisas para o país (Trugo & Moraes, 2001).

Além de contribuir com significativa geração de divisas para o Brasil, a atividade cafeeira proporciona ainda o efeito multiplicador, na forma de taxas e impostos arrecadados pelos governos dos estados e dos municípios, o que resulta em renda e empregos para os setores da indústria e do comércio (Matiello, 1991). No tocante a valores econômicos, eles podem ser estimados em pelo menos 15 bilhões de dólares, e no relativo a aspectos sociais, a cafeicultura (e atividades relacionadas) é a principal fonte de emprego dos países produtores totalizando 25 milhões de empregos diretos no campo em tempo integral e 100 milhões, se considerarmos a área industrial (processamento, comercialização, torrefação e transporte) (Bonilla, 2001).

No Brasil, o estado que mais contribui em termos produtivos é Minas Gerais, com cerca de 50% da produção nacional, estando entre os demais estados produtores Espírito Santo, Bahia, São Paulo e Rondônia. O Sul de Minas é a principal região produtora de café, respondendo por cerca de 50% da produção, com praticamente 100% de seu parque cafeeiro constituído pela espécie *Coffea arabica* L. (Mendes & Guimarães, 1997).

2.2 Preparo e consumo do café

Após os processos de produção, armazenamento e industrialização, o café passa pela etapa do preparo da bebida para o consumo. O preparo correto é fundamental, pois é nesta etapa que todo esforço de produzir um café de qualidade culmina.

Estudos têm demonstrado que as diferentes etapas e técnicas utilizadas no preparo da bebida podem produzir variação no teor de algumas substâncias, tais como os ácidos clorogênicos, cafeol, cafestol, melanoidinas e cafeína contidas no mesmo, assim como conferir maior ou menor atividade antioxidante e antimutagênica, atuando diretamente na proteção de estruturas biológicas (O'Brien & Morrissey, 1989).

A adição de água quente (livre de resíduos minerais e de boa qualidade) ao café torrado e moído, produzindo então a bebida café, é um processo chamado de infusão, o qual pode ocorrer por filtração, percolação, prensagem ou pressão, cada um destes produzindo bebidas distintas. O processo de filtração, método mais comum entre os brasileiros, consiste no acondicionamento do pó em um filtro, de papel ou tecido, com adição de água a 90^oC. A percolação é o método pelo qual o pó de café é colocado no centro de um equipamento moka, que após aquecimento faz com que a água entre em ebulição e pressione o café líquido para um recipiente. Na prensagem o pó é colocado em um recipiente de vidro misturado com água quente não fervente e em seguida introduz-se um filtro que é pressionado por um êmbolo que separa o pó do café. No método de pressão conhecido também como café expresso, o café é moído na hora e acondicionado em um filtro que sofre uma pressão durante 30 segundos em média, gerando uma bebida cremosa e aromática. Criado pelos franceses, o café expresso é considerado um dos métodos mais apropriados para apreciação de todas as nuances desta bebida.

O consumo de café representa um hábito mundial e sua bebida é uma das mais consumidas no mundo. O sabor e o aroma do café são atrativos que justificam e estimulam a grande aceitação e consumo desta bebida (Araujo & Mancini-Filho, 2006).

O consumo interno de café no Brasil antes de 1959 era relativamente baixo, visto que se situava em torno de 2,8 milhões de sacas ao ano. Com a adoção de políticas de valorização do produto nos anos 50, houve excesso de produção no final daquela década, o que forçou o governo a lançar, em 1958, a “Campanha de Aumento do Consumo Interno de Café”. O sucesso dessa campanha resultou em um aumento de 5,12 milhões de sacas no volume consumido, o que tornou o Brasil o segundo maior consumidor de café no mundo já naquela época, precedido somente pelos EUA. O consumo na década de 90 caracterizou-se pela busca da melhoria da qualidade e também pela diversidade de produtos à base de café oferecidos aos consumidores. O crescimento dos pontos de venda de cafés no mundo, por meio de lojas especializadas, é um bom exemplo da nova dinâmica do consumo (Vegro, 2002).

O consumo interno brasileiro de café em 2006 cresceu de forma acentuada. No período compreendido entre novembro de 2005 e outubro de 2006, registrou-se o consumo de 16,33 milhões de sacas, representando um acréscimo de 5,10% em relação ao período anterior correspondente (base 2005), quando o volume apurado havia sido de 15,53 milhões de sacas. A diferença de 800 mil sacas em apenas um ano é maior que o consumo anual de muitos países produtores de café. O mercado brasileiro representa 14% da demanda mundial, e mais de 50% do consumo interno de todos os 57 países produtores de café. Já o consumo por habitante/ano (per capita) foi de 4,27 kg de café torrado, quase 70 litros para cada brasileiro, registrando uma evolução de 3,9% em relação a 2005

(contra 2,7% no período anterior de 2005), significando que as pessoas estão consumindo mais xícaras de café por dia (ABIC, 2007).

A Associação Brasileira da Indústria do Café (ABIC) (2007), atribui o crescimento do consumo a um conjunto de fatores que se repete há anos, de forma consistente e duradoura. Entre estes fatores estão a melhoria contínua da qualidade do café oferecido aos consumidores, a consolidação do mercado de cafés tipo Gourmet ou Especiais, diferenciados e de alta qualidade e a melhora muito significativa da percepção do café quanto aos aspectos dos benefícios para a saúde, embora, em uma pesquisa realizada com os não bebedores de café o prejuízo à saúde seja o motivo mais citado para justificar o não consumo (Figura 1).



FIGURA 1 Razões citadas em entrevista para justificativa do não consumo de café (ABIC, 2007).

Atualmente, o Brasil ainda ocupa a segunda posição entre os maiores países consumidores de café no mundo, o que evidencia a importância do mercado interno brasileiro para a economia cafeeira.

Visando preservar esta situação de mercado, o setor de café tenta manter ritmo de “marketing” e modernização da indústria de bebidas implementando estratégias mercadológicas que estimulem o consumo de café e seus derivados. Neste contexto, a inovação em tecnologias e produtos e a melhoria contínua de sua qualidade constituem elementos decisivos para alcançar e sustentar vantagens competitivas e, assim, favorecer o crescimento econômico, a geração de riqueza, a qualidade de vida da sociedade e a satisfação dos consumidores (Rocha & Ferreira, 2001).

2.3 Qualidade e classificação do café

Desde o século XIX, a importância da cafeicultura para o desenvolvimento econômico do Brasil é indiscutível. Porém, nas últimas décadas, o setor passou por altos e baixos, tornando imprescindível a busca pela melhoria da qualidade tanto no setor de café solúvel como no de torrado e moído, procurando ampliar não só o consumo de café no mercado brasileiro, mas, também, as exportações (Menezes, 1994).

A qualidade de um produto possui uma relação direta com o consumidor, o qual pode aceitá-lo ou rejeitá-lo dependendo das características físicas, sensoriais e químicas. Na cadeia de comercialização atributos de qualidade de um alimento, como aparência, sabor, odor, textura, valor nutritivo e segurança assumem um papel preponderante, porém com alta variabilidade de importância entre o consumidor e o produtor (Chitarra & Chitarra, 1990).

A qualidade dos produtos agrícolas não é facilmente definida ou mensurada como se faz com a produção. O padrão de qualidade depende do propósito, pelos quais a planta ou parte dela é utilizada (Mengel & Kirkby,

1987). No caso do café, as características físicas são destacadas pelo tipo, coloração e peneira; os atributos sensoriais pela bebida, sabor, aroma e textura oral e as características de segurança, quando o produto não é seguro ao consumidor pela presença de substâncias tóxicas, contaminação pelo uso inadequado de defensivos agrícolas e contaminação microbiana (Chagas, Malta & Pereira, 2005).

A maioria dos consumidores brasileiros adquire o café torrado e moído em função do preço, marca (tradição, marketing), rendimento e presença de selo de pureza e qualidade. Porém, quando questionados sobre os critérios considerados na apreciação do produto, segundo a qualidade em termos de sabor e aroma, a maioria associa café de melhor qualidade com maior rendimento no preparo da bebida. Por outro lado, as estratégias que vem sendo utilizadas para valorizar o café brasileiro, têm ocasionado uma mudança de comportamento de grande parte destes consumidores, os quais têm demonstrado um interesse crescente no conhecimento dos atributos de qualidade do café, relacionados ao sabor e aroma, tornando-se assim mais exigentes e criteriosos na compra do café torrado e moído (Pereira *et al.*, 2002).

O café é um dos poucos produtos que é valorizado com base em parâmetros qualitativos, assim, quanto melhor a qualidade, maior serão os preços obtidos. Essa qualidade, contudo, é dependente de diversos fatores que se relacionam com todas as etapas da produção, desde a escolha da variedade a ser plantada até o preparo da bebida (Fernandes *et al.*, 2003). A fim de obter café de qualidade superior, os cuidados com a lavoura, a colheita e o manejo pós-colheita tornaram-se fundamentais na comercialização e no aumento do lucro do cafeicultor (Favarin *et al.*, 2004).

As classificações de qualidade mais utilizadas baseiam-se nas características físicas dos grãos (tipo, cor e peneira) e sensoriais da bebida, a qual é realizada pela prova de xícara, onde provadores treinados distinguem

diferentes padrões de bebida. Esta prova é um trabalho complexo que exige conhecimento, grande prática e educação do paladar para uma maior distinção das amostras.

A prova da xícara surgiu no Brasil no início do século XX e foi adotada pela Bolsa Oficial de Café e Mercadorias de Santos, a partir de 1917, pouco depois de sua instalação em 1914. O café após a torração e moagem é colocado em xícaras (pirex ou louça). A técnica correta recomenda que a infusão seja preparada na proporção de 10g de pó para 100 mL de água, a qual é colocada sobre o pó, quando atingir 90° C. Nesta oportunidade o classificador já deve cheirá-la, a fim de obter um julgamento preliminar pelo aroma dos vapores desprendidos. Assim o degustador já poderá ter indicações de certa importância na qualificação da bebida. Após a retirada da espuma sobrenadante o exame final é feito com auxílio de uma concha, servindo-se cuidadosamente algumas porções de infusão, com a finalidade de julgar o sabor e aroma daquela bebida (Pereira & Paiva, 2006).

Na prova de xícara pode-se detectar até sete tipos de bebida diferentes, do estritamente mole ao rio zona (Quadro 1), destacando-se também alguns atributos como doçura, acidez, amargor, corpo e aroma. São, ainda, apreciados na degustação possíveis gostos estranhos, tais como os de terra, mofo, azedo, chuvado, avinagrado, fermentado e enfumaçado (Brasil, 2003).

QUADRO 1 Padrões de bebidas do café segundo a classificação oficial pela prova da xícara.

Padrões da Bebida do Café	Características
Estritamente Mole	Sabor suavíssimo e adocicado
Mole	Sabor suave, acentuado e adocicado
Apenas Mole	Sabor suave com leve adstringência
Dura	Sabor adstringente e gosto áspero
Riada	Leve sabor de iodofórmio ou ácido fênico
Rio	Sabor forte e desagradável lembrando iodofórmio
Rio Zona	Sabor e odor intoleráveis ao paladar e ao olfato

Fonte: Brasil (2003)

Assim, em se tratando do café, Carvalho *et al.* (1994) definem que a qualidade da bebida está associada a diversos fatores, destacando-se entre eles a composição química do grão, determinada por fatores genéticos, culturais e ambientais; o processo de preparo e conservação do grão, no qual intervém a ação da umidade e da temperatura, propiciando infecções microbianas indesejáveis; e a torração e o preparo da infusão, que modificam a constituição química do grão, modificação esta sempre relacionada à composição original do grão cru.

2.4 Composição química em relação à qualidade da bebida

O fruto do cafeeiro é constituído de casca (exocarpo), polpa mais mucilagem ou goma (mesocarpo), pergaminho (endocarpo), película prateada (perisperma) e semente (endosperma) que se constitui no grão propriamente dito (Clarke & Macrae, 1985). Cada parte tem sua composição química característica, podendo sofrer alterações nas diversas fases da produção.

A qualidade da bebida do café é determinada pelos componentes químicos precursores do sabor e aroma que encontram-se no endosperma e que dependem do processo de torração utilizado, quando vários compostos químicos podem ser gerados, convertidos em outros componentes, ou serem termoestáveis, sendo estes últimos pouco susceptíveis a transformações.

De modo geral, o grão de café, apresenta em sua constituição química inúmeros componentes, voláteis e não-voláteis, tais como: ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, trigonelina, compostos fenólicos e cafeína entre outros, que são responsáveis pelo sabor e aroma característicos do café (Tabela 1) (Nascimento, 2006).

TABELA 1 Teores (%) de alguns constituintes de grãos crus e torrados da espécie *Coffea arabica* L.

Constituintes	Grãos crus	Grãos torrados
	Arábica	Arábica
Cafeína	0,9 – 1,2	1,0 – 1,3
Trigonelina	1,0 – 1,2	0,5 – 1,0
Cinzas	3,0 – 4,2	3,0 – 4,5
Ácido clorogênico	5,5 – 8,0	2,2 – 4,5
Outros ácidos	1,5 – 2,0	1,0 – 2,4
Sacarose	6,8 – 8,0	0
Açúcares redutores	0,1 – 1,0	0,2 – 0,3
Polissacarídeos	44,0 – 55,0	24,0 – 39,0
Proteínas	11,0 – 13,0	7,8 - 10,4
Lipídeos	14,0 – 16,0	14,0 – 20,0
Sólidos Solúveis	23,8 – 27,3	26,0 – 30,0

Fonte: Illy & Viani (1995).

Inúmeros trabalhos, que tentam correlacionar a qualidade do café com sua composição química, indicam que os piores cafés, em termos de qualidade de bebida, apresentam menores teores de proteínas solúveis, fenóis hidrolisáveis, ácido ascórbico, carboidratos e lipídios e maiores teores de aminoácidos livres e ácidos graxos livres (Pereira, 1997). Segundo Bassoli (1992) a bebida classificada como mole apresenta maior teor de açúcares totais, não-redutores e redutores e proteínas do que cafés de bebida rio. Cafés de bebida rio apresentam também maior acidez e maior teor de polifenóis quando comparados com cafés de melhor qualidade (Pinto et al., 2001).

No café, os lipídeos desempenham um importante papel na qualidade, particularmente em relação às propriedades organolépticas (aroma e sabor) que o

tornam desejável. Os lipídeos no café não contêm apenas triacilgliceróis, mas uma proporção considerável de outros compostos.

As proteínas, no café, estão livres no citoplasma ou ligadas a polissacarídeos de parede celular, sendo completamente desnaturadas durante a torração (Coelho, 2000). As proteínas originam vários compostos voláteis e não voláteis responsáveis pelo sabor e aroma do café torrado (Lopes, 2000).

O conteúdo de sólidos solúveis é de grande importância para a qualidade da bebida e para o rendimento industrial na produção do café solúvel, sendo relevante o conhecimento do café de maior conteúdo desses sólidos. Segundo Fernandes et al. (2003), uma maior quantidade deste componente é desejável para assegurar o corpo da bebida.

Os açúcares predominantes no café são os não-redutores, particularmente a sacarose; os redutores se apresentam em pequenas quantidades. De acordo com Carvalho et al. (1989), durante o processo de torração do café os açúcares redutores, principalmente, reagem com aminoácidos (reação de Maillard), dando origem a compostos coloridos desejáveis, responsáveis pela cor marrom do café. Nessas reações também são produzidos compostos voláteis, que apresentam grande efeito no aroma do produto final.

As implicações da reação de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos são muito diversas e influenciam aspectos químicos, sensoriais, nutricionais, toxicológicos e apresentam manifestações *in vivo*. Os aspectos químicos estão relacionados com o mecanismo da reação, com o isolamento e identificação dos produtos intermediários e com a estrutura e propriedades dos produtos finais (melanoidinas). Os aspectos sensoriais dizem respeito ao desenvolvimento de aromas e sabores e ao fenômeno do escurecimento. Os aspectos nutricionais são, essencialmente, a perda de aminoácidos (lisina, arginina, entre outros) e de valor nutritivo das fontes de proteína. Os aspectos

toxicológicos estão estritamente relacionados com a formação de mutagênicos e de antimutagênicos. Finalmente, as manifestações dos produtos da reação de Maillard *in vivo* estão diretamente relacionadas com propriedades antioxidantes apresentadas pelos compostos formados (Sgarbieri, 1996).

A trigonelina, presente em torno de 1% no grão cru, sofre desmetilação na torração para formar a niacina, uma vitamina do complexo B, em quantidades que dependem do grau de torração. Por outro lado, diversos componentes voláteis, como piridinas e pirróis são também formados sendo estes alguns dos responsáveis pelo sabor e aroma da bebida (Viani & Horman, 1974).

A cafeína é um alcalóide farmacologicamente ativo, pertencente ao grupo das xantinas e suas principais fontes alimentares são café, mate e guaraná (Arnaud, 1999). É inodora e possui sabor amargo bastante característico, contribuindo com uma nota de amargor importante para o sabor e aroma da bebida do café. É o componente do café mais conhecido, devido às suas propriedades fisiológicas e farmacológicas. Dos diversos efeitos atribuídos à cafeína destacam-se efeito estimulante do sistema nervoso central, a diminuição do sono, estimulante do músculo cardíaco e potencial ação antioxidante (Lima, 2002). Pesquisadores testaram o efeito antioxidante da cafeína na prevenção do dano oxidativo em microsomas de fígado de ratos. A lesão oxidativa foi induzida pelos radicais hidroxil (OH•), peroxil (ROO•) e oxigênio singlete. A cafeína apresentou efetiva inibição sobre a peroxidação lipídica, em concentrações milimolares, contra as três espécies reativas do metabolismo do oxigênio (Araújo, 2007).

A acidez em muitos alimentos é importante na formação das propriedades do flavor. A acidez do café é dada, principalmente, pelos ácidos clorogênico e acético, sendo que o primeiro pode resultar nos ácidos caféico e quínico (Farah & Donangelo, 2006).

Além das investigações relacionando a composição química do grão cru do café com a qualidade da bebida outras pesquisas vêm sendo conduzidas tentando associar tais compostos com a saúde humana, já que o café é consumido por mais de 70% dos brasileiros. Entre os componentes químicos mais especulados na atualidade destaca-se o ácido clorogênico, pertencente à classe dos fenólicos.

2.5 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas envolvidos na adaptação a condições de estresse ambiental. Alguns efeitos fisiológicos, observados em animais e humanos e em estudos "in vitro", são associados à presença de grande quantidade de compostos fenólicos na bebida de café. Os compostos fenólicos podem inibir os processos de oxidação em certos sistemas, mas isso não significa que eles possam proteger as células e os tecidos de todos os tipos de danos oxidativos (Ferreira, 2005).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias. Embora as evidências sejam claras sobre a ação *in vitro* dos fenóis e polifenóis com espécies reativas de oxigênio eles podem, em algumas circunstâncias, tal como o ascorbato e os carotenóides, mostrarem características pró-oxidantes (Souza et al., 2007).

Os ácidos clorogênicos (chlorogenic acids - CGA) e seus isômeros são os principais componentes da fração fenólica dos grãos de café *in natura*, alcançando teores de até 14 % (em peso seco). Estes compostos apresentam

propriedades benéficas à saúde, não só devido à sua potente atividade antioxidante, mas também como agentes hepatoprotetores, hipoglicemiantes, e antivirais (Farah & Donangelo, 2006). Dentre os ácidos clorogênicos o componente majoritário é o ácido cafeoilquínico (5-ACQ), presente em grande quantidade na bebida do café. O principal efeito fisiológico do 5-ACQ é a sua atividade antioxidante, particularmente do seu produto de hidrólise: o ácido caféico (Figura 2).

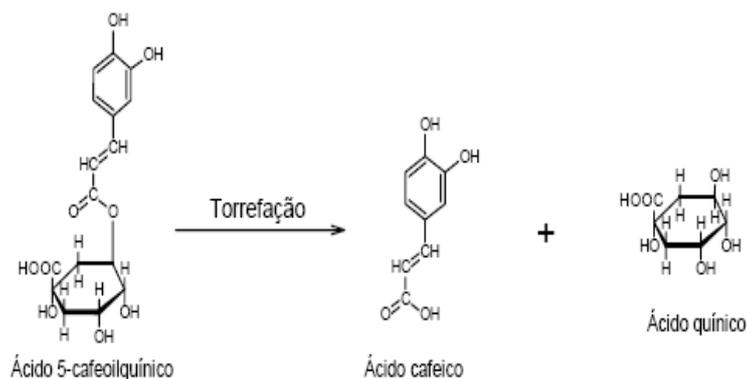


FIGURA 2 Reação do ácido 5-cafeoilquínico durante o processo de torrefação

Durante o processamento do café, os polifenóis podem ser parcialmente isomerizados, hidrolizados ou degradados a compostos de baixo peso molecular. As altas temperaturas observadas no processo de torrefação produzem também a formação de lactonas e a polimerização destes com outros componentes do café para formar melanoidinas. Daglia et al. (2000) afirmaram que os compostos fenólicos parecem ser destruídos com a torração, enquanto são formados outros produtos também com propriedades antioxidantes pela reação de Maillard.

Muitos estudos têm sido feitos para caracterizar a estrutura e as propriedades químicas das melanoidinas, mas nenhuma foi completamente

caracterizada até o momento. O interesse sobre esses compostos tem aumentado devido ao seu efeito antioxidante cujos mecanismos de ação são quelar metais, interromper a reação em cadeia doando um átomo de hidrogênio, reduzindo hidroperóxidos a produtos não radicalares e capturando radical hidroxil (Daglia et al., 2000; Borrelli et al., 2002; Adams et al., 2005).

Existe na literatura muita controvérsia sobre o mecanismo de ação dos compostos fenólicos, com uma variedade de efeitos fisiológicos benéficos e maléficos associados a estes componentes. Assim, atribuir um efeito benéfico ao consumo de café devido ao alto teor de ácidos clorogênicos ainda é de fato uma atitude precipitada.

Os ácidos clorogênicos possuem também um papel importante na formação do aroma e sabor do café, contribuindo com a acidez final e adstringência da bebida (Variyar et al., 2003). Porém, a relação do CGA com a qualidade da bebida de café é ainda controversa. Ohiokpehai (1982) relatou que a adição de CGA conferiu um sabor agradável à bebida do café. Entretanto, de acordo com Silva (1999), o índice mais elevado de CGA é observado em amostras da qualidade mais baixa. Farah et al. (2006), observaram também uma associação forte entre os níveis de CGA e a qualidade inferior na prova da xícara, relacionando os produtos da oxidação de CGA com a diminuição da qualidade. Níveis mais baixos de CGA parecem também explicar a superioridade do café arábica na qualidade da bebida quando comparado com o robusta (Farah & Donangelo, 2006).

A presença de grãos de café defeituosos pode interferir muito na qualidade da bebida. Comparando grãos verdes e preto-verdes com os grãos de boa qualidade, Mazzafera (1999) observou que os índices de substâncias fenólicas totais e de ácido cafeoilquínico (5-ACQ), eram mais elevadas em grãos defeituosos verdes e preto-verdes. Após uma análise de oito isômeros de CGA em grãos de café defeituosos e grãos de boa qualidade, Farah et al. (2005)

observaram também que os grãos defeituosos verdes e preto-verdes contiveram níveis significativamente mais elevados de todos os isômeros de CGA.

Pereira (1997) verificou um aumento no teor de polifenóis com a adição de grãos verdes, ardidos e pretos ao café de bebida estritamente mole, reduzindo a qualidade da bebida. Para Coelho (2000) entre os defeitos, os verdes são os que exibem menores valores de polifenóis em relação aos ardidos e pretos. Esses resultados foram atribuídos ao fato de os frutos colhidos verdes não apresentarem sua composição química completa. Esses resultados diferem dos dados publicados por Pimenta (1995) e Pereira (1997), que observaram maiores valores de polifenóis na presença de cafés verdes.

2.6 Café e saúde

O café constitui uma bebida de grande popularidade, que é consumida mundialmente, com aroma e sabor característicos. Em vista disso, numerosos estudos concernentes à sua segurança e as implicações da sua bebida na saúde têm sido realizados. A esta bebida, em função de sua composição química, têm sido atribuídas inúmeras vantagens e desvantagens para a saúde humana.

Na Figura 3 está apresentada a evolução dos estudos relacionados aos efeitos da ingestão de café na saúde humana.

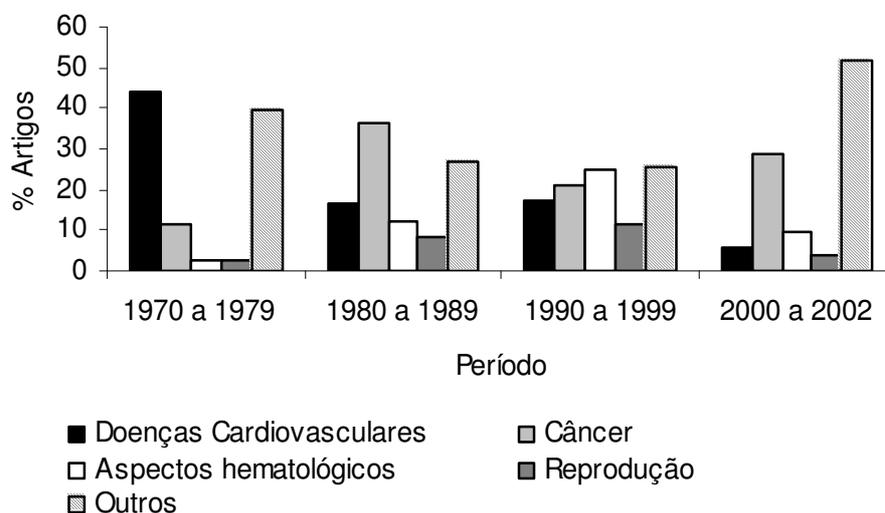


FIGURA 3 Distribuição dos aspectos abordados em estudos realizados sobre o café e seus efeitos na saúde humana no período de 1970 a 2002 (Dorea & Costa, 2005).

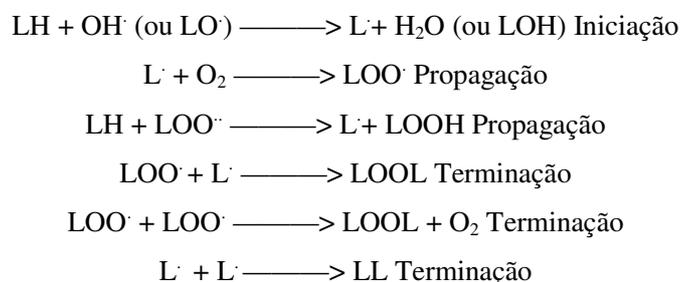
Pode-se observar que, entre 1970 e 1979, 43,9% dos estudos versaram sobre a relação entre o consumo de café e as doenças cardiovasculares; entre 1980 e 1989, 36,2% dos estudos levantados investigaram a relação entre o consumo de café e o desenvolvimento de diferentes tipos de câncer; entre 1990 e 1999, observou-se uma maior tendência de realização de estudos que relacionavam o consumo de café com alterações em aspectos hematológicos (25,0%). A partir do ano 2000, o câncer volta a ser o principal objeto de estudos juntamente com as propriedades antioxidantes (28,9%) (Levinton & Cowan, 2002). Apesar dos efeitos positivos, a maioria dos estudos não menciona o café como um alimento funcional (Dorea & Costa, 2005).

2.6.1 Café e oxidações biológicas

Radicais livres são átomos ou moléculas com um ou mais elétrons não pareados em seu orbital, o que os torna extremamente reativos (Halliwell, 2000). Esses radicais livres cujo elétron encontra-se centrado nos átomos de oxigênio e nitrogênio são denominados, respectivamente, de espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN). No organismo encontram-se envolvidos com a produção de ATP, fagocitose, regulação do crescimento celular entre outros. A produção de radicais livres ocorre naturalmente como um processo fisiológico. Porém, em determinadas condições, pode ocorrer elevação na produção de ERO, levando ao estresse oxidativo, durante o qual algumas destas espécies reativas, tais como o radical superóxido (O_2^-), radical hidroxil (OH^\cdot) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), podem produzir danos ao organismo como a lipoperoxidação de lipídios insaturados das membranas celulares (Husain, 1987).

As espécies reativas de oxigênio são formadas através da redução parcial do oxigênio até a água através de sucessivas reações. A transferência de um elétron para o O_2 produz o primeiro intermediário reativo, o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o qual sofre dismutação espontânea a peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de hidrogênio sofre uma reação de quebra das ligações entre os átomos de O_2 formando o radical hidroxil (OH^\cdot), que pode ser catalisada por metais de transição (reação de Fenton), ou pela combinação do $O_2^{\cdot-}$ com o H_2O_2 (reação de Haber-Weiss) (Ferreira, 2005).

A lipoperoxidação por espécies reativas do oxigênio pode ser dividida em três etapas, iniciação, propagação e terminação (Cerqueira et al., 2007). Estas etapas são apresentadas nas reações seguintes, onde L representa o lipídio:



A reação inicia-se com o seqüestro do hidrogênio do ácido graxo polinsaturado (LH) da membrana celular. Tal seqüestro pode ser realizado pelo OH \cdot ou pelo LO \cdot (radical alcóxila), com conseqüente formação do L \cdot (radical lipídico). Na primeira equação de propagação, o L \cdot reage rapidamente com o O $_2$, resultando em LOO \cdot (radical peróxila), que, por sua vez, seqüestra novo hidrogênio do ácido graxo polinsaturado, formando novamente o L \cdot na segunda equação de propagação. O término da lipoperoxidação ocorre quando os radicais (L \cdot e LOO \cdot) produzidos nas etapas anteriores propagam-se até formarem complexos mais estáveis. O radical hidroxila (OH \cdot) é frequentemente reconhecido como a espécie iniciadora e a mais importante da lipoperoxidação. Entretanto, estudos recentes indicam que o ferro também desempenha papel determinante na iniciação deste processo, sendo necessária uma relação equimolar Fe $^{+++}$: Fe $^{++}$ no meio, para que ocorra a lipoperoxidação (Ferreira & Matsubara, 1997).

Nos últimos anos, uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, hepatopatias, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais. Os danos no DNA causados pelos radicais livres também desempenham um papel importante nos processos de mutagênese e carcinogênese (Atoui et al., 2005).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos. Em um estresse oxidativo a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (Cerutti, 1991, 1994). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres (Sies, 1993).

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos. O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre. Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e a perda da integridade celular. Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas. Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes (Bianchi & Antunes, 1999).

Os compostos antioxidantes podem ter origem endógena (por ex., superóxido dismutase), ou serem provenientes da dieta alimentar e outras fontes. Nestas últimas destacam-se os tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio e carotenóides (El-Agamey et al., 2004). Dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro* (Omoni & Aluko,

2005). Segundo Lafay et al. (2006), a bebida do café é uma das principais fontes de compostos fenólicos na dieta humana.

O amplo consumo de café no mundo tem estimulado pesquisas para o estudo da atividade do café cru e, especialmente, do café torrado, usado para preparar os diferentes tipos de bebida, sobre as oxidações biológicas (Somosa et al., 2003).

Em um modelo de oxidação da LDL (low density lipoprotein) humana *in vitro*, Araujo & Mancini-Filho (2006), observaram um elevado poder antioxidante do café e conseqüente capacidade de reduzir ou evitar a aterogênese neste sistema, com resultados semelhantes aos apresentados nos mesmos testes aplicados para as vitaminas E e C. Segundo Duarte et al. (2005), as bebidas de café apresentam alta atividade seqüestrante de radicais livres *in vitro* e são eficazes na proteção da lipoperoxidação *in vivo*. Nesse estudo, os cafés protegeram contra a peroxidação de lipídeos *in vitro* e, entre os cafés torrados, este efeito aumentou até o grau de torração médio. De acordo com os autores os compostos fenólicos parecem ser destruídos com a torração enquanto os produtos da reação de Maillard, com propriedades antioxidantes são formados.

Daglia et al. (2000), demonstraram que os cafés crus apresentam maior atividade antioxidante que o café torrado. Richelle et al. (2001) demonstraram que o café robusta cru apresentou atividade antioxidante duas vezes maior que o café arábica cru, provavelmente devido à maior concentração de ácido clorogênico.

Segundo Yamato et al. (2002) o café contribui para a redução do estresse oxidativo induzido em cérebro de ratos, porém este efeito está relacionado à cafeína, e não ao ácido clorogênico.

Nicoli et al. (1997) relataram que, no grau de torração médio, a bebida de café arábica apresenta a mais alta atividade antioxidante *in vitro*. Como sugerido por estes autores, os produtos da reação de Maillard conferem ao café

propriedades seqüestranes de oxigênio e estes produtos são reduzidos ou transformados em compostos com menor capacidade seqüestrante, com o avanço da torração.

Nascimento (2006), em seu estudo observou que as bebidas do café são benéficas à saúde humana, sendo eficazes na proteção das células contra efeitos oxidativos. Ação também reportada por Araujo (2007), que constatou que todas as amostras de café analisadas apresentaram percentual de inibição da oxidação lipídica próximos ao butil hidroxi tolueno (BHT), antioxidante sintético normalmente utilizado em alimentos industrializados.

Em contrapartida, alguns trabalhos indicam que a torração possibilita a formação de um composto denominado acrilamida (ACM), o qual apresenta uma potencial atividade cancerígena aos humanos (Neri, 2004).

A presença de substâncias tóxicas nos alimentos sempre constituiu perigo para os consumidores, sendo uma das preocupações dos organismos internacionais em relação à inocuidade alimentar. Em abril de 2002, um grupo de pesquisadores da Suécia reportou a presença de ACM em alimentos ricos em carboidratos, quando assados, fritos ou torrados, sendo os cereais, as batatas e o café possivelmente suas maiores fontes de ingestão (Germano & Germano, 2002). Pesquisas experimentais, em animais, apontaram possível papel da ACM na iniciação do processo cancerígeno. Embora os dados disponíveis sejam limitados na análise de risco da acrilamida em induzir tumores na população humana, ela foi classificada como um provável carcinógeno humano (FAO/WHO, 2002).

Apesar de alguns estudos revelarem uma relação direta entre o consumo de café e a redução de oxidações biológicas, várias investigações em fase de conclusão tem evidenciado a ausência de benefícios, e até mesmo prejuízo da bebida do café sobre o desenvolvimento de diferentes tumores (Higdon & Frei, 2006).

O café apresenta também efeitos pró-oxidantes como a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) devido à auto-oxidação dos polifenóis presentes na bebida na presença de metais de transição. Assim o potencial antioxidante do café é altamente dependente de parâmetros tais como a dose, oxigênio atmosférico, metais de transição e compostos químicos do grão. Conseqüentemente, os dados obtidos relativos às propriedades pró- e antioxidante da bebida devem ser interpretados com cuidado, pois os resultados não são facilmente extrapolados para avaliar o impacto na saúde humana (Stadler et al., 1994).

2.6.2 Café e danos hepáticos

Muitos estudos estão sendo conduzidos para se determinar o efeito do café, amplamente consumido no mundo, na saúde humana. Alguns estudos demonstraram um efeito potencial favorável do café no fígado, sendo capaz de impedir injúrias hepáticas e cirrose, além de reduzir a formação de carcinoma hepatocelular a longo prazo (La Vecchia, 2005).

O fígado é o órgão central do metabolismo no organismo. Embora constitua apenas 2% do peso corporal total, o fígado recebe 1500 mL de sangue por minuto, aproximadamente 28% do débito cardíaco, a fim de realizar suas funções. O fígado realiza inúmeras operações metabólicas nos constituintes sanguíneos, que chegam até este como produtos da degradação ou nutrientes e, por sua vez, muitas atividades hepáticas estão diretamente refletidas nas várias substâncias circulantes no sangue e também presentes em outros fluidos corporais (Basu, 2003).

As doenças hepáticas, em fases avançadas, cursam com graves complicações, responsáveis pela maioria das indicações de internações hospitalares e causas de morte dos pacientes. As manifestações clínicas das hepatopatias são diversas, variando de alterações laboratoriais isoladas e

silenciosas até uma falência hepática dramática e rapidamente progressiva. Esse amplo espectro reflete em parte um grande número de processos fisiopatológicos que podem lesar ainda mais o fígado, e em parte a grande capacidade de reserva do órgão (Ginés et al., 2003).

Danos hepáticos podem resultar de um aumento nos radicais livres do oxigênio devido a várias causas etiológicas (Chen, 2005). Por isso estudos tentam encontrar substâncias que atuem no organismo humano como antioxidantes com a finalidade da proteção de danos no fígado e do processo que conduz à cirrose, sendo uma destas o café.

Em um estudo japonês investigou-se a relação entre o consumo de café e a concentração sérica da aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) em 7313 homens, concluindo que a concentração sérica de AST e ALT são associadas inversamente ao consumo de café, observando-se menores níveis séricos destas enzimas nos consumidores frequentes da bebida. E ainda, o aumento da AST relacionada à ingestão de álcool foi atenuada pelo consumo de café devido a mecanismos biológicos desconhecidos (Nakanishi et al., 2000).

A relação entre a ingestão da bebida do café e o risco de câncer de fígado foi examinada por pelo menos dois estudos, baseados principalmente em dados epidemiológicos, mas também em evidências biológicas e clínicas (La Vecchia, 2005). Um estudo italiano baseado em 151 casos com carcinoma hepatocelular demonstrou uma incidência bem maior da patologia nos não bebedores de café comparados àqueles que ingeriam mais de três xícaras da bebida por dia (La Vecchia et al., 1989). Tal resultado se assemelha ao encontrado em um caso-controle grego incluindo 333 casos e ingestão de mais de 20 xícaras de café por semana (Kuper et al., 2000).

Em uma análise dos dados gregos e italianos citados acima, La Vecchia (2005), acredita que o aparente efeito favorável do consumo do café em

carcinomas hepatocelulares pode ser devido à sua relação inversa com cirrose, sendo a cirrose umas das principais causas deste tipo de câncer. Maciel et al. (2006) também apontam em seu estudo a cirrose como o fator de risco mais importante para o aparecimento deste neoplasma.

Em um estudo de coorte incluindo 59 voluntários, foi demonstrado um risco de cirrose cinco vezes maior naqueles que não ingeriam café (La Vecchia, 2005). Gallus et al. (2002) afirmam que o ato de beber café é um fator de prevenção da cirrose hepática e morte por problemas hepáticos, principalmente em danos pelo álcool. Tverdal & Skurtveit (2003), em seu trabalho também relataram uma menor incidência de mortalidade por cirrose hepática em humanos de meia idade com alto consumo de café quando comparados à não bebedores.

O café parece conseqüentemente ter efeito protetor do fígado dado seus efeitos em enzimas como AST e ALT, na cirrose do fígado e no carcinoma hepatocelular, e o peso da evidência epidemiológica, porém os dados disponíveis ainda são bastante limitados, não havendo nenhuma evidência definitiva *in vivo* (Gelatti et al., 2005). Além disso, existem estudos prospectivos que não encontraram associação positiva entre o consumo de café e a prevenção de algumas doenças crônicas degenerativas, demonstrando até mesmo uma associação positiva entre o consumo de café e a maior incidência de câncer (Higdon & Frei, 2006).

2.7 Indução de injúria hepática com tetracloreto de carbono (CCl₄) e testes da função hepática

O tetracloreto de carbono (CCl₄) é um hidrocarboneto halogenado, muito utilizado em processos de síntese orgânica de compostos clorados, particularmente compostos aromáticos halogenados e também na indústria de

lavagem a seco, sendo um agente químico altamente tóxico, causando principalmente danos hepáticos e renais (Ferreira, 2005).

A administração aguda de CCl_4 aos animais experimentais causa necrose centrilobular e esteatose no fígado. O CCl_4 é metabolizado pelo sistema mitocondrial das monoxigenases (P450). Durante este processo, o radical livre instável do CCl_3 é gerado, o qual transforma-se imediatamente em peróxido Cl_3COO^- . Estes radicais livres causam a peroxidação dos ácidos graxos dos fosfolipídios que constituem as membranas da célula. Conseqüentemente, a estrutura da membrana da célula e da membrana intracelular da organela é deteriorada completamente, e os danos estruturais expandem-se. A peroxidação de lipídios tem um papel fundamental na injúria hepática induzida por CCl_4 (Ozercan et al., 2006).

Embora as funções hepáticas afetem muitos metabólitos, alguns testes correlacionam-se muito bem com a integridade estrutural e funcional do fígado, essas determinações são convencionalmente denominadas de testes da função hepática. Dentre estes testes destacam-se níveis séricos de albumina (capacidade de sintetizar proteínas), uréia (capacidade detoxificante), amônia (integridade da circulação porta), glicose em jejum (indicação das reservas de glicogênio e capacidade de sintetizar glicose), fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e gama glutamiltransferase (Basu, 2003).

Fígados submetidos a estímulos nocivos podem sofrer danos funcionais ou estruturais, transitórios ou permanentes, dependendo da força e da duração do estímulo. A administração aguda do tetracloreto de carbono causa necrose e esteatose centrolobular. Na administração crônica, a repetida exposição à droga promove a degeneração dos hepatócitos, ativando os mecanismos que culminam em fibrose e, posteriormente, em cirrose.

Segundo Bertolami (2005) o dano hepático induzido pode ser hepatocelular, o que se traduzirá por aumento das transaminases oxaloacética e

pirúvica (TGO e TGP), ou colestático, o que levará ao aumento de bilirrubinas, da fosfatase alcalina e da gama-glutamil transferase (GGT).

A gama glutamiltransferase (GGT) é uma enzima encontrada em grande quantidade no fígado, rins, pâncreas, intestino e próstata. Apesar de elevações muito grandes estarem associadas principalmente ao câncer primário ou secundário do fígado e a obstrução biliar, alterações menores são pouco específicas. É considerado um marcador muito sensível de doença hepática, pois está alterado em 90% dos portadores de doença hepatobiliar (Imbert-Bismut et al., 2001).

A fosfatase alcalina trata-se não de uma enzima, mas de uma família de enzimas, presente em praticamente todos os tecidos. No fígado, é encontrada principalmente nos microvilos dos canalículos biliares e na superfície sinusoidal dos hepatócitos. O aumento da fosfatase alcalina hepática é mais evidente na obstrução biliar, onde o acúmulo de sais biliares a solubilizam e a obstrução promove a sua regurgitação entre as células hepáticas até o sangue (Imbert-Bismut et al., 2001).

Também conhecida por transaminase glutâmico oxaloacética (TGO), a aspartato aminotransferase (AST) é encontrada em altas concentrações no citoplasma e nas mitocôndrias do fígado, músculos esquelético e cardíaco, rins, pâncreas e eritrócitos (glóbulos vermelhos do sangue), quando qualquer um desses tecidos é danificado, a AST é liberada no sangue. Como não há um método laboratorial para saber qual a origem da AST encontrada no sangue, o diagnóstico da causa do seu aumento deve levar em consideração a possibilidade de lesão em qualquer um dos órgãos onde é encontrada (Nompleggi & Bonkovsky, 1994).

A alanina aminotransferase (ALT), enzima conhecida também por transaminase glutâmico pirúvica (TGP), catalisa a reação: aspartato e alfa-queroglutarato resultando em piruvato e glutamato. É encontrada em altas

concentrações apenas no citoplasma das células do fígado, o que torna o seu aumento mais específico de lesão hepática (Ruhl & Everhart, 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima e locais de execução

Foram utilizadas neste experimento, amostras de café (*Coffea arabica* L.), provenientes da safra 2005/06 do sul de Minas Gerais.

Para execução deste projeto, foram utilizadas as instalações dos laboratórios de Bioquímica Clínica e Citologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL – MG), Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas – EPAMIG, Lavras, Laboratório de Grãos e Cereais do Departamento de Ciência dos Alimentos e o Pólo de Tecnologia em Qualidade do Café da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

3.2 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada por meio do método oficial brasileiro de classificação do café pela bebida segundo a Instrução Normativa n. 8, de 11 de junho de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, conhecido como prova da xícara (Brasil, 2003). Tal procedimento foi realizado por provadores treinados, os quais não tiveram conhecimento nem do aspecto do grão antes da torração e nem da sua origem. As amostras foram torradas em torrador Probat modelo BRZZ no ponto de torração clara ou americana. Em seguida, foram moídas em moinho Probat com controle da granulometria, adotando-se a moagem grossa. Após a análise foram selecionadas para o experimento as amostras classificadas como bebida mole e bebida rio.

3.3 Preparo da amostra

Amostras de cafés foram torradas em torrador de laboratório da marca Probat com capacidade para 1kg, no grau de torração médio. O ponto ideal de

torração foi determinado pelo binômio tempo/temperatura (180°C por 10 minutos). Em seguida, os grãos torrados foram moídos (moedor elétrico Probat) em granulometria fina (70% retenção em peneira 20), empacotados em embalagens de polietileno/alumínio, selados e armazenados a -20° C, até o uso.

Os grãos crus foram moídos em granulometria fina em moinho refrigerado a 4°C (Tecnal) com auxílio de nitrogênio líquido.

3.4 Análise de cor

A cor do café torrado e moído foi analisada usando-se um colorímetro (Chomameter-2 Reflectance, Minolta, Osaka, Japan) acoplado a um processador de dados (OP-300). O instrumento foi padronizado contra um branco antes de cada leitura. A cor foi expressa em parâmetros da escala desenvolvida pela Commission Internationale de Eclairage (CIE) L^* , a^* , b^* . A coordenada L^* representa quão claro ou escuro é a amostra, com valores entre 0 (totalmente preto) e 100 (totalmente branco). A coordenada a^* pode assumir valores entre -80 a +100, cujos extremos correspondem, respectivamente, ao verde e ao vermelho. A coordenada b^* pode variar de -50 a +70, com intensidade do azul ao amarelo.

A utilização de coordenadas polares permite uma interpretação mais adequada de variações de coloração. As coordenadas polares do sistema CIE $L^*a^*b^*$ são: c^* ou croma, que fornece uma medida da intensidade ou saturação da cor e h_{ab} , que corresponde à tonalidade. Estes parâmetros podem ser calculados a partir dos valores medidos de L^* , a^* e b^* :

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$h_{ab} = \tan^{-1}(b^* / a^*)$$

3.5 Preparo da bebida

A bebida do café foi preparada de acordo com o método de Nicoli et al. (1997). Dez gramas de café em pó (*in natura* e torrado) foram colocados em filtro de papel Whatman n. 3 e, em seguida, foram vertidos 100 mL de água destilada, a 90°C, sobre o pó contido no filtro. Todos os experimentos foram realizados com bebida preparada no momento de uso. Para os ensaios *in vivo* a bebida foi mantida a temperatura ambiente até atingir aproximadamente 30 °C.

3.6 Análise de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis nas bebidas de café foi determinado pelo método de extrato aquoso de acordo com Trugo e Moraes (2001). Uma alíquota de 1 mL de cada extrato foi transferida quantitativamente para pesa-filtros, previamente secos em estufa a 105°C e secados com amostras até peso constante. A massa de cada extrato de café foi determinada em balança analítica, e a porcentagem de sólidos calculada por diferença entre a massa do extrato e a massa do resíduo, seco até peso constante.

3.7 Determinação do teor de compostos fenólicos

A identificação dos polifenóis na bebida do café foi realizada pelo método de Folin Denis, descrito pela AOAC (1990).

3.8 Determinação dos teores de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico

Para determinação de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico) foram utilizados procedimentos de extração com água quente segundo Vitorino et al. (2001) com diluição de 0,5g/100mL de água destilada e análise em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando-se cromatógrafo da marca Shimadzu com coluna em fase reversa C-18. O sistema encontrava-se acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Shimadzu (modelo SPD-10A) conectado por uma interface (CBM-101) a um microcomputador para processamento de dados. As condições de análise utilizadas foram fluxo de 1 mL/min; fase móvel: metanol, água e ácido acético (20:80:1); temperatura ambiente; comprimento de onda 272 nm. A concentração dos compostos foi determinada pela relação entre as áreas dos picos de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico da amostra e dos respectivos padrões de concentrações conhecidas.

3.9 Atividade antioxidante *in vitro*

3.9.1 Atividade seqüestrante de radicais livres DPPH

Para a análise da atividade seqüestrante de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) da bebida de café cada amostra foi diluída em etanol a 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Em 4 mL da amostra foi adicionado 1 mL de DPPH (0,5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) igualmente diluído em etanol. A mistura foi acondicionada em tubo de ensaio âmbar e agitada. Decorridos 30 min, foi realizada a leitura a 517 nm. A diminuição na absorbância indica atividade seqüestrante de radicais livres. Os testes foram realizados em triplicata. A atividade seqüestrante de radicais livres (ASRL) foi expressa em porcentagem por comparação ao controle, BHT nas mesmas diluições das amostras de café, segundo a equação:

$$\% \text{ ASRL} = \frac{Ac - At}{Ac} \times 100$$

Onde, Ac: absorvância controle; At: absorvância teste (amostra).

3.9.2 Avaliação do poder redutor

Alíquotas de 0,01 mL da bebida do café, na concentração final de 200 ppm, foram diluídas em 1 mL de etanol absoluto e transferidas para tubo de ensaio contendo 2,5 mL de tampão fosfato 0,2 M pH 6,6 e 2,5 mL de ferricianeto de potássio a 1% (p/v). A mistura foi incubada em banho-maria a 45°C, por 20 minutos. Alíquotas de 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% (p/v) foram adicionadas ao tubo de ensaio, com posterior agitação. Alíquotas de 2,5 mL da mistura foram transferidas para outro tubo de ensaio, ao qual foram adicionados 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de FeCl₃ a 0,1% (p/v), com posterior agitação. A leitura da absorvância foi realizada a 700 nm. O aumento da absorvância indica o aumento do poder redutor. A atividade redutora da bebida foi expressa como porcentagem de inibição em comparação ao BHT, usado como padrão.

3.10 Análises *in vivo*

Para o ensaio *in vivo*, foram utilizadas ratas adultas (*Rattus norvegicus*), pesando 270 ± 20 g, obtidas do Biotério da Universidade Federal de Alfenas (Unifal – MG), que foram mantidas em caixas de polietileno, recebendo água e ração comercial *ad libitum*. Para indução da injúria hepática foram administrados aos animais doses de 0.5 mL/100g de tetracloreto de carbono (CCl₄) solubilizados em óleo de oliva 1:1 via intraperitoneal por 3 dias (3º, 5º e 7º dia).

Como nos testes realizados *in vitro*, para análise da atividade antioxidante, os cafés amostrados não apresentaram diferenças estatisticamente

significativas, foram selecionadas as amostras de café classificadas como bebida mole para os testes com animais por esta apresentar melhor qualidade sensorial.

Os animais foram divididos em 3 grupos de 8 animais cada:

Grupo 1 – Controle negativo (receberam água)

Grupo 2 – Controle positivo (receberam água e tetracloreto de carbono)

Grupo 3 - Café + CCl₄ (receberam café bebida mole e tetracloreto de carbono)

A bebida de café recém-preparada foi administrada aos animais por gavagem, uma vez ao dia, por 7 dias, assim como a água do controle. A dose utilizada foi de 3,6 mL/kg/dia correspondendo ao consumo humano de 5 xícaras de 50 mL da bebida de café. No oitavo dia, os animais foram anestesiados para retirada do sangue por punção cardíaca, e logo após, submetidos à eutanásia por reforço da anestesia para retirada do fígado. O sangue foi centrifugado em seguida para separação do soro. O fígado foi lavado com solução salina 0,9% e armazenado a – 20°C submerso em solução tampão fosfato (pH 7,4).

Todo o experimento foi conduzido com a devida aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal de Alfenas (MG).

3.10.1 Determinação da inibição da peroxidação de lipídios

A fim de determinar se a bebida de café foi capaz de reduzir o estresse oxidativo, foi analisada a peroxidação de lipídios isolados de fígados de ratos. A peroxidação de lipídios foi determinada pela formação de substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com Winterbourn, Gutteridge & Halliwell (1981). Os produtos da peroxidação de lipídeos reagem com o ácido tiobarbitúrico produzindo um composto que apresenta absorvância a 532 nm.

Os fígados dos animais foram pesados e homogeneizados em homogeneizador de tecidos, em banho de gelo, após adição de PBS 0,1 M, pH

7,4 (volume equivalente a 4 vezes o peso fresco de tecido). O homogeneizado foi centrifugado a 3.000 g, por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante, mantido em banho de gelo, foi utilizado nos ensaios.

Alíquotas de 500 µL do sobrenadante foram misturadas a 500 µL de ácido clorídrico a 25% (v/v), 500 µL de ácido tiobarbitúrico a 1% (p/v, em NaOH 0,05 M) e 45µL de BHT 2% (p/v, em etanol). A mistura foi aquecida em banho de água fervente, durante 10 minutos. Após o resfriamento em banho de gelo por 10 minutos foram adicionados 1,5 mL de butanol e as amostras agitadas vigorosamente em vórtex. A seguir, foram centrifugadas a 900g, por 5 minutos e a fração contendo butanol foi recolhida e utilizada para a determinação da absorbância a 532 nm. A concentração de TBARS foi calculada a partir da curva padrão de dialdeído malônico (MDA; 1,1,3,3 tetraetoxipropano). Os resultados foram expressos em nmoles de MDA/g de proteína.

3.10.2 Determinação da concentração de proteínas

A concentração de proteínas do homogeneizado do fígado foi determinada utilizando-se albumina sérica bovina (BSA) como padrão. Uma alíquota contendo 10µL de homogeneizado de fígado foi adicionada a 790 µL de água destilada e 200 µL de comassie Brilliant Blue G-250 em etanol 95% m/v. Em seguida foi determinada a densidade ótica a 595 nm, em espectrofotômetro. A concentração protéica (µg/10µL) foi calculada por inserção numa curva de calibração previamente feita com BSA (5 – 25 µg/mL).

3.10.3 Determinação dos marcadores de função hepática

Os parâmetros ALT, AST, gama GT, glicose, uréia e fosfatase alcalina foram determinados por método enzimático colorimétrico e cinético no soro dos ratos. O sangue foi coletado nos animais em jejum de 12 horas por punção cardíaca, após anestesia com éter.

3.11 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com parcelas subdivididas

Para os parâmetros extrato aquoso, polifenóis, cafeína, trigonelina, ácido clorogênico e poder redutor utilizou-se 4 tipos de café (café cru bebida rio, café torrado bebida rio, café cru bebida mole e café torrado bebida mole) e 6 repetições para cada tratamento.

Para a atividade sequestrante de radicais livres foram utilizados 4 tipos de bebida (café cru bebida rio, café torrado bebida rio, café cru bebida mole e café torrado bebida mole), 4 concentrações (25, 50, 100, 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e 3 repetições para cada tratamento.

Para as análises *in vivo* utilizou-se 2 tipos de bebida (água e café torrado bebida mole), 2 tratamentos (com indução de injúria hepática e sem indução) e 8 repetições.

3.12 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, quando $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de cor

O ponto de torração das amostras de café foi padronizado pelo binômio tempo / temperatura (180°C/10 min) e logo em seguida a cor foi analisada. Os resultados médios obtidos referentes aos cafés bebida rio e bebida mole para a variável cor são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 Análise de cor dos grãos de café torrado e moído, de acordo com os parâmetros de cromaticidade da escala L* a* b*.

Tipo de Bebida	Parâmetros de Cromaticidade				
	L*	a*	b*	c*	h _{ab} *
<i>Rio</i>	32,95	11,48	8,43	14,24	36,29
<i>Mole</i>	32,83	11,29	8,27	13,99	36,22
Média	32,89	11,38	8,35	14,11	36,25

Os resultados expressos na Tabela acima permitem verificar que não houve diferença nos valores de L* a* b* e c* entre os padrões de bebida analisados e que a tonalidade (h_{ab}) obtida foi a mesma, o que indica que a temperatura e o tempo utilizados permitiram que o mesmo grau de torração fosse obtido. Tal resultado é de grande importância para que a composição química e as propriedades fisiológicas dos cafés amostrados possam ser comparadas.

Os valores de L* e a* encontrados estão de acordo com os citados por Duarte (2004) para cafés descascados no ponto de torração médio. Já o parâmetro b* demonstrou-se superior ao citado pela autora (5,28).

4.2 Compostos fenólicos

Determinou-se o teor de compostos fenólicos totais dos diferentes extratos de café obtidos. Os valores percentuais médios das determinações dos compostos fenólicos totais dos cafés *in natura* e dos cafés torrados são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 Conteúdo de polifenóis (g eq. ac. tânico / 100g) de dois tipos de bebida do café submetido a dois tipos de processamento.

Tipo de Bebida	Processamento		Média
	<i>Cru</i>	<i>Torrado</i>	
<i>Rio</i>	5,43 aA	4,83 aB	4,65
<i>Mole</i>	4,77 bA	4,51 aA	4,77
Média	4,90	4,52	

Médias seguidas por letras minúsculas iguais dentro de cada coluna e médias seguidas por letras maiúsculas iguais dentro de cada linha não diferem entre si ($p>0,05$), pelo teste de Tukey.

Existem indícios de ocorrência de maior concentração de polifenóis em cafés de pior qualidade. Pereira (1997) constatou elevação significativa dos teores de polifenóis na bebida de café com o aumento da inclusão de grãos defeituosos. Pinto et al. (2001), estudando grãos de café arábica da região do sul de Minas Gerais, previamente classificados em diferentes padrões de bebidas, encontrou maior teor de polifenóis nos cafés de bebida rio quando comparados aos cafés classificados como bebida mole. No presente estudo a bebida de pior qualidade analisada, bebida rio, também demonstrou um maior teor de compostos fenólicos (5,43%) do que o café de qualidade superior, bebida mole (4,77%), nas amostras *in natura* ($p<0,05$).

De acordo com os dados expressos na Tabela 3, no grão cru, houve uma variação significativa, nos teores de fenólicos entre os distintos padrões de bebidas analisados, o que não ocorreu com os grãos torrados. A variação na degradação desses compostos com a torração pode ser considerada como causa destas diferenças. A bebida rio destacou-se com o maior teor de fenólicos no grão cru e maior perda destes compostos com a torração. A bebida mole apesar de apresentar um teor de polifenóis mais baixo demonstrou uma maior termoestabilidade, ou seja, menor perda desses compostos durante a torração.

Os resultados obtidos apresentam-se próximos ao intervalo de 4,31 a 6,18 % citados por Fernandes et al. (2003), para cafés crus e torrados da espécie *Coffea arabica* L. da região do sul de Minas Gerais e inferiores aos encontrados por Vilela (2002) em cafés cereja descascado (7,54%).

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos nos vegetais incluindo frutos, legumes, grãos, gramíneas, verduras, sementes, ervas, especiarias e algas, podendo ser obtidos a partir de flores, folhas, raízes e cascas. Estes compostos constituem uma das principais classes de antioxidantes naturais. Karakaya & Tas (2001), avaliaram a atividade antioxidante e o conteúdo de fenólicos totais de alimentos comumente consumidos na Turquia. Os pesquisadores verificaram que tanto o café turco (fervido) quanto o café instantâneo tiveram uma correlação positiva entre o conteúdo de fenólicos e a atividade antioxidante. Tzao et al. (2005), também verificaram uma correlação positiva entre a atividade antioxidante de casca de maçã e o conteúdo de fenólicos.

Sendo assim, como os teores de polifenóis encontrados para os grãos torrados dos dois padrões de bebida estudados não foram estatisticamente diferentes, sugere-se que apesar da diferença apresentada na análise sensorial, os cafés bebida rio e mole possuem a mesma capacidade de atuação contra as oxidações biológicas.

4.3 Extrato aquoso

A análise de sólidos solúveis em cafés torrados e moídos tem sido recomendada tanto para a verificação de fraudes, como método para averiguação do corpo da bebida, requisito apreciado principalmente pelos consumidores brasileiros. Vários trabalhos de pesquisa têm utilizado o refratômetro para medida desta variável, porém, a técnica indicada para tal, de acordo com a portaria nº 377, de 26 de abril de 1999 (Brasil, 1999) é a do extrato aquoso, sendo esta a utilizada neste experimento. O extrato aquoso do café torrado e moído representa a quantidade de substâncias capazes de se solubilizarem em água fervente.

Uma maior quantidade de sólidos é desejada tanto do ponto de vista do rendimento industrial, assim como pela sua contribuição para assegurar o corpo da bebida, sendo interessante a utilização de cafés que apresentem maior conteúdo desta fração, propiciando a obtenção de qualidade.

Os teores médios de sólidos solúveis de grãos crus e torrados das bebidas estudadas estão apresentados na Tabela 4.

TABELA 4 Intervalo de 95% de confiança do conteúdo médio de sólidos solúveis (%) de dois tipos de bebida do café crus e torrados.

Tipo de Bebida	Processamento		Média
	<i>Cru</i>	<i>Torrado</i>	
<i>Rio</i>	[2,14; 2,29]	[2,03; 2,16]	2,15
<i>Mole</i>	[2,21; 2,36]	[1,74; 2,24]	2,13
Média	2,25	2,04	

De acordo com a Tabela 4 pode-se observar que os padrões de bebida analisados não diferiram entre si nos extratos preparados com grãos de cafés, torrados e crus, com intervalo de 95% de confiança, indicando que foram comparadas amostras com rendimento semelhante.

4.4 Cafeína, trigonelina e ácido clorogênico

Os teores de trigonelina, ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico) e cafeína foram calculados a partir dos cromatogramas obtidos para cada amostra. A Figura 4 apresenta o cromatograma obtido a 272 nm da solução padrão de trigonelina, ácido 5-cafeoilquínico (5 ACQ) e cafeína. Os tempos de retenção correspondente aos três compostos de interesse foram identificados: trigonelina (~3 minutos), ácido clorogênico (~16 minutos) e cafeína (~17 minutos).

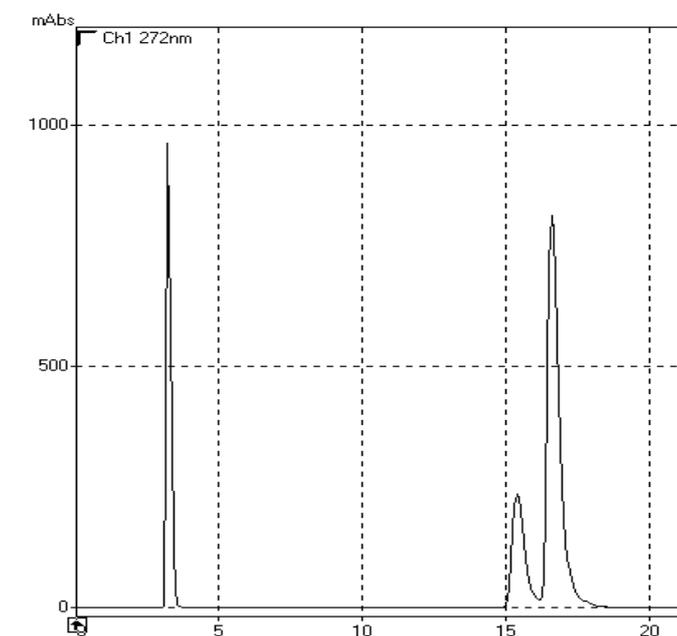


FIGURA 4 Cromatograma da solução padrão de trigonelina, ácido clorogênico e cafeína.

O prévio conhecimento da concentração de trigonelina permite estimar o potencial de degradação para formação dos compostos voláteis e do ácido nicotínico (Aguiar et al., 2005). Durante a torração a trigonelina sofre desmetilação para formar o ácido nicotínico (niacina), que pode chegar a teores próximos a $20 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de café torrado. A niacina é considerada como fator preventivo da pelagra e é precursora das coenzimas NAD e NADP, importantes em várias reações enzimáticas de oxidação (Bobbio & Bobbio, 2003). O conteúdo de ácido nicotínico em grãos verdes varia de 1,6 a $4,4 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, aumentando quase dez vezes com a torração (Macrae, 1985).

Os teores de trigonelina em diferentes classes de bebida encontrados em cafés crus e torrados encontram-se na Figura 5. A variação encontrada permaneceu na faixa de $0,82$ a $1,35 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de café. A quantidade de trigonelina extraída no grão cru foi de 1,11 e $1,35 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de café para as amostras classificadas como mole e rio, respectivamente e no grão torrado de 0,82 e $0,93 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Monteiro e Trugo (2005), relataram valores de $0,2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ para cafés brasileiros com torração média, os quais são bem inferiores aos obtidos no presente estudo.

Para todas as classes de bebida avaliadas houve uma redução no teor de trigonelina após a torração. A bebida rio apresentou a maior degradação de trigonelina, em torno de 30% contra aproximadamente 25% da bebida mole, sendo possivelmente o padrão de bebida com maior formação dos compostos voláteis e do ácido nicotínico.

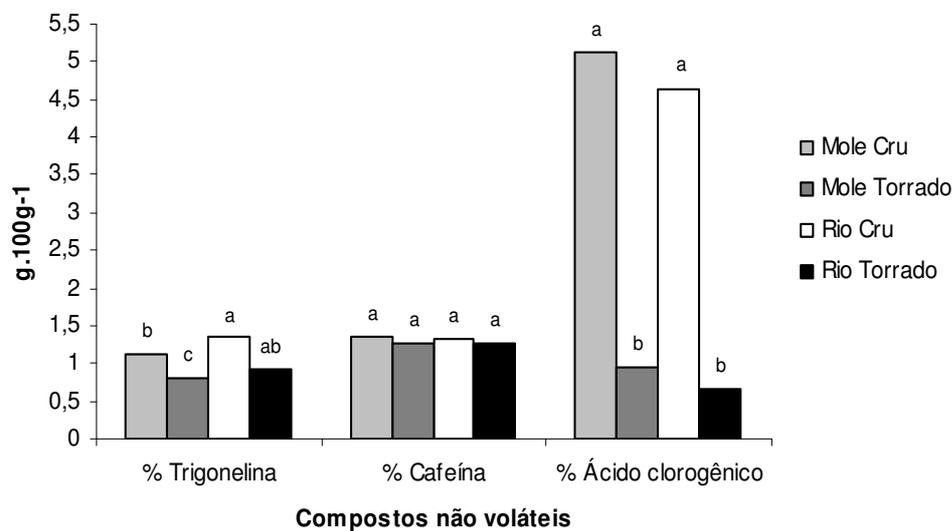


FIGURA 5 Teores médios de ácido clorogênico (5 ACQ), cafeína e trigonelina em cafés bebida rio e mole submetidos a dois tipos de processamento (cru e torrado). Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Analisando os teores de ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico) encontrados (Figura 5), observa-se que para todas as classes de bebida houve redução drástica à medida que os grãos foram torrados, portanto, o processo de torração do café influencia na composição qualitativa e quantitativa de ácidos clorogênicos (Bicchi et al., 1995). Vários trabalhos atribuem funções farmacológicas aos ácidos clorogênicos, principalmente a sua atividade como antioxidante (Duarte et al., 2005). Sugere-se que a atividade antioxidante do café diminui à medida que se intensifica o processo de torração, devido à perda de componentes fenólicos (Del Castilho et al., 2002; Duarte et al., 2005). Porém,

como o processo de torração amplia a complexidade química do café, apesar dos compostos fenólicos serem degradados, outros compostos antioxidantes podem ser formados, principalmente resultantes da reação de Maillard, fazendo com que a torração média apresente os maiores valores de atividade antioxidante (Nicoli et al., 1997).

Em pesquisa realizada por Iwai et al. (2004), o ácido 5-cafeoilquínico foi isolado do café e a atividade antioxidante deste ácido fenólico foi testada pelo método DPPH, comparando sua atividade com o ácido ascórbico e o α -tocoferol. O ácido 5-cafeoilquínico apresentou atividade superior a dos antioxidantes estudados. Este composto contém em sua estrutura duas hidroxilas uma na posição *meta* e outra na posição *para*. Segundo Moure et al. (2001), a presença de hidroxila nas posições *orto* e *para* conferem uma boa atividade antioxidante ao composto fenólico.

Além do aspecto farmacológico os ácidos clorogênicos são importantes na avaliação sensorial da bebida. Os ácidos clorogênicos são precursores importantes dos ácidos fenólicos livres e, por conseguinte, dos compostos fenólicos voláteis que participam da formação do aroma do café torrado (Moreira et al., 2000).

Segundo Araújo (2007) o conteúdo total de ácido clorogênico em café arábica é de $5,5 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$, valores estes próximos ao encontrado neste estudo para o padrão de bebida mole e superior ao apresentado pelo café bebida rio.

Quanto à cafeína, para os dois tipos de bebidas avaliados não houve diferença significativa entre os valores, tanto nos grãos crus, quanto nos torrados, conforme demonstrado na Figura 5. O valor encontrado para o grão cru encontra-se dentro do que é estabelecido pela literatura que é de $0,5$ a $2 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ para *Coffea arabica* L. (Mello et al., 1992). A cafeína não participa de reações que ocorrem durante a torração, sendo quaisquer variações em sua concentração

ocasionadas pela perda por arraste de vapor e pela perda de massa do grão durante a torração (Vitorino et al., 2001).

A cafeína foi o composto que apresentou maior estabilidade à torração. Os valores encontrados foram semelhantes aos observados por Monteiro & Trugo (2005), os quais estudando dez amostras de café comerciais do Brasil encontraram variação de 0,8 a 1,4 %.

A cafeína é uma metilxantina contida nos grãos de café cujos teores, no caso da bebida, são influenciados pelo tipo do produto (torrado ou instantâneo, descafeinado ou comum) e o processo utilizado no seu preparo. Entre as funções farmacológicas comprovadas das metilxantinas no organismo humano são citadas a estimulação do sistema nervoso central e cardiovascular, o aumento da taxa metabólica e o efeito diurético. Alguns pesquisadores apontam ainda um efeito positivo da cafeína na prevenção do dano oxidativo. Sendo a provável capacidade antioxidante da cafeína exercida pelo mecanismo de captação de radicais hidroxil e oxigênio singlete e doação de elétrons (Lee, 2000).

Considerando que tanto o ácido clorogênico como a cafeína vêm sendo indicados como compostos com potencial atividade antioxidante, os resultados apresentados na análise cromatográfica reforçam a hipótese proposta anteriormente de que os cafés torrados amostrados possuem o mesmo poder de proteção contra danos oxidativos.

4.5 Atividade seqüestrante de radicais livres

Entre os principais métodos utilizados para a determinação da atividade antioxidante de compostos orgânicos, encontra-se o método espectrofotométrico baseado na redução do radical estável DPPH[•] (radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila). A conversão do radical DPPH[•] em DPPH-H resulta em declínio relativamente rápido da absorbância. Os radicais livres DPPH[•], que inicialmente apresentam cor roxa por possuírem elétron livre, perdem esta cor quando um

radical hidrogênio doado por uma molécula antioxidante entra em ressonância com a molécula de DPPH. Nessa reação a espécie DPPH^{*} é reduzida pelos constituintes antioxidantes presentes na amostra (AH). Os radicais A^{*} gerados reagem de várias formas resultando em novos compostos (Nebesny & Budryn, 2003).

Na Tabela 5 estão representados os resultados da análise da atividade antioxidante das bebidas de café, utilizando o radical livre DPPH. O composto utilizado como padrão foi o butil hidroxi tolueno (BHT), o qual apresentou atividade seqüestrante de radicais livres, na concentração de 200 ppm, de 76,8%.

TABELA 5 Atividade seqüestrante do radical DPPH (%) das bebidas de café rio e mole, *in natura* e torrado, em quatro concentrações.

Tipo de Bebida	Concentração (ppm)				Média
	25	50	100	200	
<i>Rio torrado</i>	40,13 aD	53,60 aC	60,60 aB	76,30 aA	57,66
<i>Rio cru</i>	36,37 aC	45,93 bB	48,00 bB	68,87 bA	49,79
<i>Mole torrado</i>	44,67 aD	58,37 aC	64,33 aB	77,27 aA	61,16
<i>Mole cru</i>	39,93 aC	46,47 bB	49,50 bB	69,00 bA	51,22
Média	40,27	51,09	55,61	72,86	

Médias seguidas por letras minúsculas iguais dentro de cada coluna e médias seguidas por letras maiúsculas iguais dentro de cada linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os resultados da Tabela 5 permitem verificar que para as bebidas dos cafés nas concentrações de 50, 100 e 200 ppm a atividade seqüestrante de radicais livres foi significativamente superior nas amostras obtidas a partir dos grãos torrados, quando comparados aos extratos dos grãos *in natura*.

Segundo Araújo (2007), apesar da torração reduzir o conteúdo de polifenóis, que, como visto anteriormente são compostos com comprovada ação antioxidante, os produtos da reação de Maillard, especialmente as melanoidinas, são formados e estes também apresentam ação contra oxidações biológicas. Além disso, durante o processo de torração, as condições de tempo e temperatura aplicados podem romper as ligações entre os compostos fenólicos e as moléculas ligadas a eles, conferindo aos compostos resultantes uma estrutura com maior capacidade antioxidante.

Neste estudo, as amostras foram comparadas em concentrações que são até oito vezes menores que a concentração máxima usada pela indústria alimentícia (200 ppm) para antioxidantes. Nas concentrações mais elevadas as amostras de café apresentaram uma porcentagem de inibição da oxidação semelhante ao antioxidante de referência (BHT), evidenciando a eficiência do café no combate à ação dos radicais livres ($p < 0,05$). As bebidas analisadas demonstraram maior atividade antioxidante na concentração de 200 ppm diminuindo significativamente em concentrações menores.

Apesar da diferença observada conforme o processamento do café, pode-se notar que entre os dois padrões de bebidas analisados não houve diferenças estatisticamente significativas e que ambos apresentaram relevantes percentuais de captação de radicais livres. Tal fato apresenta uma correlação positiva com os resultados das análises anteriormente discutidas.

Duarte et al. (2005) e Araújo (2007), utilizando a mesma metodologia para avaliar a atividade seqüestrante de radicais livres de amostra de café, obtiveram valores na faixa de 82 % a 92,52 % respectivamente, para a concentração de 200 ppm, valores estes superiores aos obtidos neste trabalho.

4.6 Poder redutor

Os métodos baseados na redução do Fe^{+3} , que determinam o poder redutor são utilizados para avaliação da atividade antioxidante. Tais métodos avaliam a capacidade de determinados compostos reduzirem o Fe^{+3} . O teste do poder redutor baseia-se na redução do íon ferricianeto a ferrocianeto que, na presença do íon férrico (proveniente do FeCl_3), forma o azul da Prússia (Santos et al., 2007).

A média dos valores obtidos na análise do poder redutor das bebidas de café amostradas estão apresentados na tabela 6.

TABELA 6 Poder redutor (%) do café bebida rio e bebida mole, cru e torrado.

Tipo de Bebida	Processamento		Média
	<i>Cru</i>	<i>Torrado</i>	
<i>Rio</i>	46,83 aA	28,68 bB	37,75
<i>Mole</i>	44,30 aA	31,74 bB	38,02
Média	45,56	30,21	

Médias seguidas por letras minúsculas iguais dentro de cada coluna e médias seguidas por letras maiúsculas iguais dentro de cada linha não diferem entre si ($p>0,05$), pelo teste de Tukey.

De acordo com a Tabela 6 nota-se que o padrão de bebida nos dois tipos de processamento (cru e torrado) analisados, não influenciaram na capacidade redutora dos cafés ($p>0,05$). A torração, porém, reduziu o poder redutor das bebidas do café. Estes resultados contrariam os apresentados por Daglia et al. (2000), que não encontraram alterações significativas no poder redutor com a torração para café arábica e corroboram com os encontrados por Santos et al. (2007), onde as amostras de grau escuro apresentaram menor poder redutor que as amostras com grau de torrefação claro. Segundo os autores esta diminuição

ocorre provavelmente devido ao diferente conteúdo de fenólicos nessas amostras, particularmente reduzidos após a torrefação.

A formação do Fe^{+2} durante a reação de redução pode aumentar a disponibilidade deste metal, que participa tanto na iniciação como na propagação da peroxidação lipídica (reação de Fenton), indicando assim uma possível ação pró oxidante de ambas as bebidas do café.

Na análise do poder redutor, opostamente ao encontrado na análise da atividade seqüestrante de radicais livres, os cafés *in natura* demonstraram maior atividade antioxidante que os torrados, provavelmente devido os compostos fenólicos apresentarem melhor propriedade de redução de metais que seqüestrante de radicais livres. Nota-se que a atividade antioxidante das amostras analisadas variou conforme a metodologia utilizada, o que demonstra a importância da realização de mais de uma análise para que se tenha uma maior confiabilidade dos resultados. Sendo importante ressaltar que dependendo do meio e da reação o mesmo composto pode apresentar um comportamento antioxidante diferente ou até mesmo pró oxidante.

4.7 Inibição da peroxidação de lipídios *in vivo*

O excesso de espécies reativas no organismo pode causar alterações estruturais e funcionais a componentes da membrana plasmática, levando à mudança de sua funcionalidade. Estas alterações estão envolvidas na fisiopatologia de várias doenças crônicas não transmissíveis como doença de Parkinson, doença de Alzheimer, diabetes, vários tipos de câncer, doenças cardiovasculares entre outras. Antioxidantes da dieta podem contribuir para o combate aos radicais livres e para proteção de componentes celulares como material genético, proteínas e lipídios contidos em membranas (Su et al., 2007).

O tetracloreto de carbono (CCl_4) é uma potente droga hepatotóxica que ocasiona dano hepático por intermédio de radicais livres formados durante a sua

metabolização. Os resultados obtidos na avaliação da peroxidação lipídica (Figura 6), evidenciaram importante lipoperoxidação nos animais que utilizaram CCl_4 , uma vez que houve aumento significativo de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico nos grupos que receberam doses intraperitoniais deste composto. Este achado sugere uma relação entre as alterações no parênquima hepático provocados pelo CCl_4 e a formação das espécies ativas de oxigênio pelo sistema microssomal hepático, possivelmente através da formação dos radicais triclorometil ($\bullet\text{CCl}_3$) e triclorometilperoxil ($\bullet\text{OCCl}_3$). Este último, reagindo rapidamente com o O_2 , origina um radical extremamente lesivo.

Uma vez comprovada a atividade antioxidante das amostras em estudo, seu consumo poderá representar uma forma de contribuir com a diminuição do risco de doenças crônicas não transmissíveis como, por exemplo, doenças cardiovasculares, câncer e diabetes mellitus entre outras. Assim, além do possível efeito benéfico à saúde que a bebida preparada com estas amostras de café possa ter, é necessário que ela tenha boa aceitação do ponto de vista sensorial. Aliando esses pressupostos ao fato das amostras torradas dos dois padrões de bebida (rio e mole) terem apresentado a mesma capacidade antioxidante nos testes *in vitro*, a bebida classificada como mole na prova da xícara foi selecionada para os ensaios *in vivo*.

A média dos valores encontrados quando analisados os índices de peroxidação lipídica no tecido hepático dos animais do grupo controle e dos animais tratados estão apresentados na Figura 6.

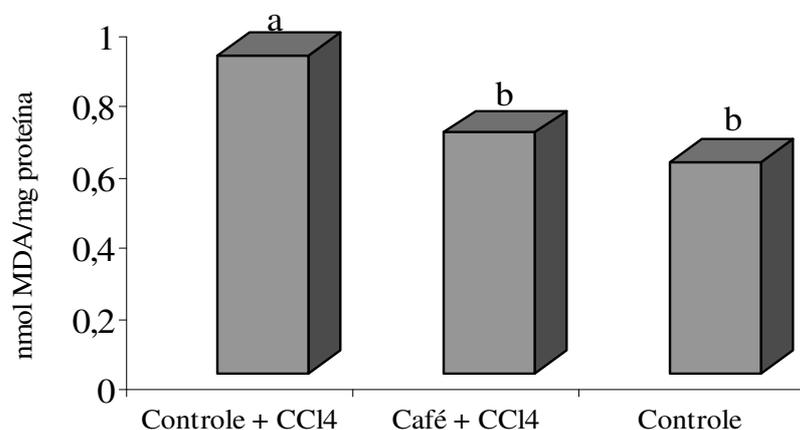


FIGURA 6 Concentração média das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (nmol MDA/mg proteína), em ratos tratados com café bebida mole (7 dias) e água. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes nas colunas diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

No presente estudo, verificou-se que o consumo de café bebida mole, durante 7 dias, foi capaz de reverter o índice de lipoperoxidação hepática causada pelo CCl_4 , sugerindo que esta bebida confere uma proteção à membrana celular contra o ataque oxidativo de radicais livres. Este resultado reforça os dados apresentados anteriormente com respeito à atividade antioxidante do café.

Referendando o papel do estresse oxidativo, Rhoden et al. (1997), sugerem que a indução da cirrose por CCl_4 intraperitoneal pode resultar de processos de isquemia e reperfusão tecidual e/ou a diminuição das defesas antioxidantes existentes. Halim et al. (1997), demonstraram, em ratos, que o uso de antioxidantes, tais como silimarina (30 mg/kg), vitamina E 200 IU/kg e vitamina C (50 mg/kg) modulavam significativamente os distúrbios causados

por CCl_4 , podendo eventualmente ser importantes na profilaxia da lipoperoxidação e conseqüente de danos hepáticos causados pelos radicais livres. Resultados estes que se assemelham aos encontrados para a bebida do café neste experimento.

Confirmando os resultados obtidos *in vitro* o café estudado demonstrou significativa atividade antioxidante, protegendo o fígado dos animais contra a lipoperoxidação. No grupo café associado ao agente estressor (CCl_4) houve uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na produção de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) em relação ao controle positivo.

Os resultados encontrados corroboram com os apresentados por Ozercan et al. (2006). Estes autores avaliando o efeito antioxidante do café instantâneo em ratos verificaram que o tratamento com café reduziu significativamente os níveis de TBARS no tecido hepático do grupo CCl_4 + café instantâneo em relação ao grupo não tratado (CCl_4) ($p < 0,05$).

De acordo com os trabalhos de Natella et al. (2002) e Fujioka e Shibamoto (2006), os ácidos clorogênicos presentes na bebida de café são capazes de serem absorvidos e exercem sua atividade antioxidante nos tecidos animais, assim como os produtos da reação de Maillard. Sendo assim, a redução da lipoperoxidação observada no fígado dos animais que receberam doses de café neste trabalho pode ser atribuída à presença de ácidos clorogênicos e melanoidinas no extrato aquoso do café administrado.

Embora o processo de absorção e utilização dos compostos antioxidantes ainda não esteja bem compreendido, as presentes constatações indicam potenciais efeitos benéficos do café para a saúde humana. Podendo este produto contribuir para prevenir ou adiar o início de diversas patologias, devido à combinação do teor de antioxidantes por dose servida com a frequência do consumo da bebida, além de representar uma nova alternativa para o desenvolvimento de antioxidantes industriais naturais.

4.8 Provas da função hepática

Os resultados do presente estudo demonstraram que a administração de CCl₄ provocou graves danos ao fígado dos animais utilizados no experimento, comprovados pela elevação significativa dos níveis séricos de AST, ALT, GGT, fosfatase alcalina e uréia, além da redução dos níveis de glicose e da esteatose apresentada por todos os fígados examinados macroscopicamente.

4.8.1 Atividade das transaminases ALT e AST

As duas enzimas mais freqüentemente associadas com o dano hepatocelular são as aminotransferases que catalisam a transferência reversível de um grupamento amina entre um aminoácido e um α -cetoácido. Essa função é essencial para a produção de aminoácidos necessários para a síntese protéica no fígado.

A enzima aspartato aminotransferase (AST) possui localização citomitocondrial e sofre consideráveis aumentos nas doenças hepáticas (3 a 50 vezes o valor de referência). A alanina aminotransferase (ALT) possui origem citoplasmática e é mais sensível e específica que a AST na triagem de hepatopatias.

Nas Figuras 7 e 8 são apresentados os resultados obtidos com relação à atividade das enzimas ALT e AST nos grupos experimentais, respectivamente.

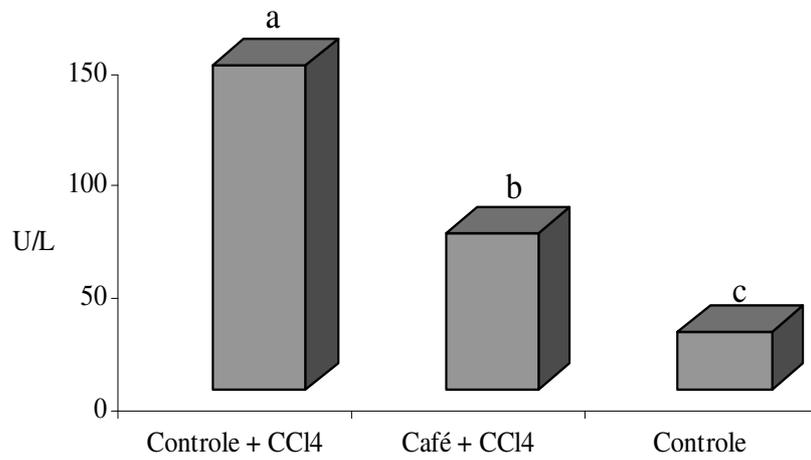


FIGURA 7 Atividade da enzima ALT (alanina aminotransferase). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

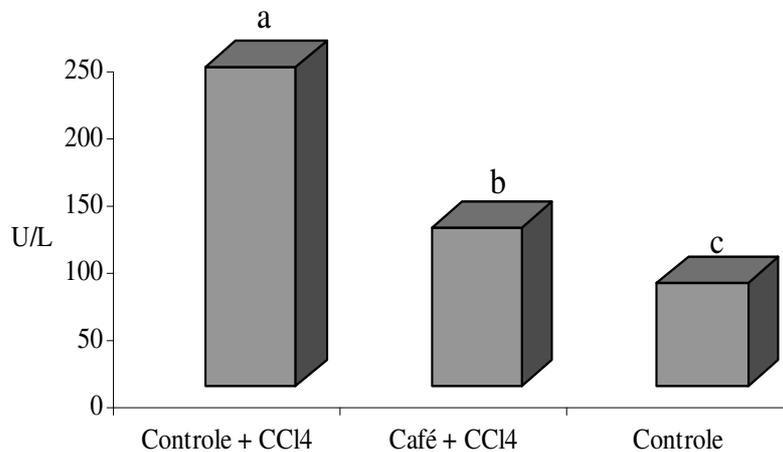


FIGURA 8 Atividade da enzima AST (aspartato aminotransferase). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

De acordo com as Figuras acima os grupos que receberam café e CCl₄ apresentaram níveis séricos das enzimas AST e ALT significativamente menores que os apresentados pelo controle acrescido de CCl₄ (controle positivo). É possível observar que embora a atividade enzimática da AST e da ALT tenha reduzido significativamente nos grupos que receberam doses diárias de café e CCl₄ comparado ao controle positivo, estas ainda permaneceram mais altas que nos grupos controle, comprovando o efeito hepatotóxico do tetracloreto de carbono.

Ferreira (2005) e Ozercan (2006) analisaram a atividade das transaminases após a administração de CCl₄ e observaram aumento dos níveis séricos de AST e ALT. Confirmando estas observações, no presente trabalho o tratamento com CCl₄ causou elevação de 68% nos níveis de ALT, o qual foi significativamente menor no grupo tratado com café (34%). Da mesma forma, a

AST apresentou elevações estatisticamente significativas (82%) nos grupos que receberam tetracloreto de carbono e uma redução significativa destes níveis quando este agente foi associado à administração de café (60%). Como as enzimas AST e a ALT são grandes indicadores de danos hepáticos, os dados apresentados sugerem um efeito benéfico do consumo de café na proteção do fígado.

Contrariando os resultados encontrados neste trabalho, Urget et al. (1995), afirmaram que extratos de café aumentam os níveis séricos das transaminases AST e ALT em humanos, sendo esta elevação provocada pelos diterpenos cafestol e kaveol. A não ocorrência de tal fato neste estudo pode ser explicada pelo preparo das bebidas que seriam administradas aos animais, pois as mesmas foram preparadas com filtro de papel, os quais segundo Cavin et al. (2002), não permitem a passagem de cafestol e kaveol para o extrato.

4.8.2 Gama glutamil transferase (GGT), glicose, uréia e fosfatase alcalina

Na Tabela 7 são apresentados os resultados obtidos com respeito aos níveis da gama glutamil transferase, glicose, fosfatase alcalina e uréia, onde pode-se observar que o tratamento com CCl_4 causou significativas alterações nos valores destes marcadores hepáticos e que o tratamento com a bebida do café torrado foi eficaz na proteção do fígado.

TABELA 7 Valores médios dos parâmetros bioquímicos determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.

Grupos	Parâmetros Bioquímicos			
	GGT (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	Fosfatase Alcalina (U/L)	Uréia (mg/dL)
Controle Negativo	1,40 c	119,40 a	51,38 c	31,47 b
Controle + CCl ₄	3,06 a	84,50 b	98,52 a	45,55 a
Café + CCl ₄	1,74 b	83,26 b	78,80 b	45,36 a

Médias seguidas por letras minúsculas iguais dentro de cada coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A gama glutamil transferase (GGT) é uma enzima de membrana, associada a numerosos tecidos como fígado, rins, pâncreas e intestino (Meyer et al., 1995). Embora a GGT esteja presente em muitos tecidos, elevações na sua atividade sérica são observadas primariamente em desordens hepáticas (Fraciscato, 2006).

De acordo com a Tabela 7 os níveis séricos da GGT diferiram significativamente pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade entre o controle positivo (controle + CCl₄) (3,06) e o grupo tratado com café e doses intraperitoniais de tetracloreto de carbono (1,74).

O consumo do café tem sido relacionado inversamente à atividade da gamma-glutamyltransferase (GGT). Em um estudo com 2494 oficiais no Japão, os níveis de GGT eram aproximadamente 30% mais baixos dentre os voluntários que ingeriam cinco ou mais xícaras de café por o dia comparado aqueles que não bebiam café. Outros resultados reportados na literatura indicam uma relação contrária entre o consumo de café e a GGT ainda maior nos alcoólatras (Honjo et al., 1999). Urget et al. (1995), também apresentaram dados semelhantes aos

encontrados neste estudo, demonstrando em um estudo experimental com humanos que extratos do café reduzem os níveis séricos de GGT.

A homeostase glicêmica é controlada pela ação de diversos hormônios, especialmente a insulina, que mantém o equilíbrio da concentração de glicose. Alterações hormonais e outros fatores levam a variações nesta homeostase, desencadeando hiper ou hipoglicemia. Entre os fatores que levam a hipoglicemia estão os distúrbios hepáticos.

Conforme demonstrado na Tabela 7 a administração de CCl_4 foi eficaz na indução de injúria hepática, havendo uma redução significativa nos valores de glicose apresentados pelos grupos que receberam tetracloreto de carbono ($p < 0,05$). Porém, contrariando os resultados dos marcadores hepáticos descritos anteriormente o grupo café + CCl_4 não diferiu estatisticamente do controle positivo (com indução de injúria hepática), sugerindo uma não proteção do fígado pelo café administrado.

Conclusões semelhantes podem ser observadas quando são analisados os níveis séricos de uréia. O tratamento com CCl_4 causou uma elevação média de 30% nas concentrações deste marcador, quando comparado ao controle negativo, não sendo esta elevação revertida pelo tratamento com café bebida mole. Porém, apesar das concentrações de glicose e uréia não apontarem um efeito hepatoprotetor do café, estes testes também não indicaram prejuízo do consumo da bebida.

A uréia é sintetizada no fígado e seu ciclo incorpora duas moléculas de amônia cuja principal fonte é o catabolismo protéico. Sua dosagem deve ser realizada sempre que houver suspeita de mau funcionamento renal ou hepático, onde sua concentração será reduzida.

O aumento da uréia no grupo que recebeu CCl_4 neste trabalho pode ser justificado por uma alteração na excreção renal da uréia provocada pela droga administrada ou devido a fatores pré-renais, uma vez que a ascite e hipertensão

portal, provocadas pela doença hepática, favorecem a passagem de líquido do plasma para os tecidos levando a uma hemoconcentração com conseqüente aumento de uréia (Sherlock, 2004; Riella, 2003).

Alterações nas concentrações da enzima celular fosfatase alcalina (FA) estão diretamente relacionadas à obstrução biliar e /ou lesão hepatocelular. Neste experimento, a FA apresentou significativo aumento nos grupos tratados com CCl_4 em relação ao controle negativo. Entre si, os grupos com indução de injúria hepática, também apresentaram diferenças estatisticamente significativas, sendo os níveis de fosfatase alcalina maiores no grupo controle positivo. Deduz-se assim que a ingestão de café bebida mole protegeu o fígado dos danos provocados pelo tetracloreto de carbono.

Em resumo, o tratamento com café torrado bebida mole devido a sua potencial atividade antioxidante foi eficaz na proteção do fígado dos animais contra a injúria provocada pelo tetracloreto de carbono, sendo este efeito hepatoprotetor comprovado pelos testes da função hepática.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na presente pesquisa permitem concluir que:

- Independente da classificação sensorial da bebida, os cafés quando comparados ao antioxidante padrão BHT, apresentam expressiva capacidade seqüestrante de radicais livres, com superioridade dos cafés torrados;
- As bebidas dos cafés crus analisados demonstram maior poder redutor de metais que os cafés torrados;
- O CCl₄ mostra-se eficaz para a indução de injúria hepática nos animais;
- Os compostos presentes no extrato do café bebida mole são capazes de diminuir a lipoperoxidação hepática induzida por tetracloreto de carbono;
- A bebida do café apresenta importante efeito hepatoprotetor de acordo com os testes da função hepática;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, A. N.; BORRELLI, R. C.; FOGLIANO, V.; DE KIMPE, N. Thermal degradation studies of food melanoidins, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 10, p. 4136-4142, May 2005.

AGUIAR, A. T. E.; FAZUOLI, L. C.; SALVA, T. J. G.; FAVARIN, J. L. Diversidade química de cafeeiros na espécie *Coffea canephora*. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n.4, p.577-582, 2005.

ARAUJO, F. A. **Café (*Coffea Arabica* L.) submetido a diferentes condições de torrefação: caracterização química e avaliação da atividade antioxidante e sensorial**. 2007, 130 p. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

ARAUJO, F. M.; MANCINI-FILHO, J. Compostos bioativos da café e seus benefícios à saúde. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 143, p. 60 – 65, ago. 2006.

ARNAUD, M. J. *Encyclopedia of Human Nutrition*; Caballero, B.; Sadler, M. J.; Starin, J. J., (Eds.).London: Academic Press, 1999. vol. 1, p. 206.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ (ABIC). Preferência, bebida mais consumida. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>> Acesso em: Fev. 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists**. 12. ed. Washington, 1990.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, Oxford, v. 89, n. 1, p. 27, jan. 2005.

BASSOLI, P. G. **Avaliação da qualidade de cafés verdes brasileiros: uma análise multivariada**. 1992, 110 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

BASU, S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. **Toxicology**, Clare, v.189, n. 1-2, p. 113-127, July 2003.

BERTOLAMI, M. C. Mecanismos de hepatotoxicidade. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 85, n. 5, p. 25-27, 2005.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

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

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à Química de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2003. 238 p.

BONILLA, J. A. Metodologias, técnicas e gerenciais capazes de ajudar na prevenção da OTA ao longo de toda a cadeia produtiva do café. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 26, n. 2, p.11-21, 2001. Especial.

BORRELLI, R. C.; VISCONTI, A.; MENNELLA, C.; ANESE, M.; FOGLIANO, V. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 22, p. 6527-6533, June 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 8, de 11 de junho de 2003**. Aprova o regulamento técnico da identidade e de qualidade para a classificação de café beneficiado grão cru. Disponível em: <<http://www.ministerio.gov.br>>. Acesso em: jan. 2007.

CARVALHO, V. D.; de; CHALFOUN, S.MS.; CHAGAS, S.J. de R. **Relação entre classificação de café pela bebida e composição físico-química, química e microflora do grão beneficiado**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15., 1989, Maringá. **Resumos...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1989. p. 25-26.

CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. de R.; CHALFOUN, S. M.; BOTREL, N.; JUSTE JÚNIOR, E. S. G. Relação entre a composição físico-química e química do grão do café beneficiado e a qualidade de bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 449-454, mar. 1994.

CAVIN, C.; HOLZHAUSERA, D.; SCHARF, G.; CONSTABLEA, A.; HUBERB, W.W.; SCHILTERA, B. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. **Food Chemical Toxicology**, Oxford, v. 40, n. 8, p. 1155–1163, Aug. 2002.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Dietetic antioxidants: controversies and perspectives. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n.2, p.441-449, mar./abr. 2007.

CERUTTI, P. A. Oxidant stress and carcinogenesis. **European Journal of Clinical Investigation**, Oxford, v. 21, n.1, p.1-5, Feb. 1991.

CERUTTI, P.A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**, London, v. 344, n. 8926, p. 862-863, Sept. 1994.

CHAGAS, S. J. R.; MALTA, M. R.; PEREIRA, G. F. A. Potencial da Região Sul de Minas Gerais para a produção de cafés especiais. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 590-597, maio/jun. 2005.

CHEN, A. S.; TAGUCHI, T.; SAKAI, K.; MATAHIRA, Y.; WANG, M. W.; MIWA, I. Effect of chitobiose and chitotriose on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 28, n. 10, p.1971–3, Oct. 2005.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Qualidade pós-colheita dos frutos e hortaliças. In: _____. **Pós colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. p. 235-288.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee: chemistry**. New York: Elsevier Applied Science, 1985.

COELHO, K. F. **Avaliação química e sensorial da qualidade do café de bebida estritamente mole após a inclusão de grãos defeituosos**. 2000. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

DEL CASTILHO, M. D.; AMES, J. M.; GORDON, M. H. Effect of roasting on antioxidant activity of coffee brews. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3698-3703, June 2002.

DOMINGUES, J. E.; FIUSA, L. P. L. **História**: o Brasil em foco. São Paulo: FTD, 1996. p. 136-146.

DOREA, J. G.; COSTA, T. H. Is coffee a functional food? **The British journal of nutrition**, Wallingford, v. 93. n. 6, p. 773-82, June 2005.

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

DUARTE, S. M. S. **Atividade antioxidante e antimutagênica in vitro e in vivo da bebida do café**. 2004. 118 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

EL-AGAMEY, A.; LOWE, G. M.; MCGARVEY, D. J.; MORTENSEN, A.; PHILLIP, D. M.; TRUSCOTT, T. M.; YOUNG, A. J. Carotenoid Radical Chemistry and Antioxidant/pro-oxidant properties. **Archives Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 430, n. 1, p. 37, Oct. 2004.

ENCARNAÇÃO, R. O.; LIMA, D. R. **O café e a saúde humana**. Brasília: Embrapa Café, 2003. 64 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION WHO; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Consultation on the health implications of acrylamide in food. **Summary Report**, Geneve, p. 25-27, June 2002. Disponível em: <<http://www.who.int/fsf/acrylamide>>. Acesso em: 19 fev. 2007.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal Plant of Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 23-26, June/Mar. 2006.

FARAH, A.; DE PAULIS, T.; TRUGO, L. C.; MARTIN, P. R. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 5, p. 1505-1513, Mar. 2005.

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

FAVARIN, J. L.; VILELA, A. L. G.; MORAES, M. H. D.; CHAMMA, H. M. C. P.; COSTA, J. D.; DOURADO-NETO, D. Qualidade da bebida de café de frutos cereja submetidos a diferentes manejos pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.2, p.187-192, fev. 2004.

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

FERREIRA, E. A. **Avaliação do potencial antioxidante e hipotrigliceridêmico de análogos sintéticos da acetofenona**. 2005. 120 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FRANCISCATO, C.; LOPES, S. T. A.; VEIGA, A. P. M.; MARTINS, D. B.; EMANUELLI, M. P.; OLIVEIRA, L. S. S. Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT em cavalos Crioulos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 10, p. 1561-1565, 2006.

FUJIOKA, K.; SHIBAMOTO, T. Quantitation of volatiles and nonvolatiles acids in an extract from coffee beverages: correlation with antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 16, p. 6054-6058, Aug. 2006.

GALLUS, S.; TAVANI, A.; NEGRI, E.; LA VECCHIA, C. Does coffee protect against liver cirrhosis? **Annals of Epidemiology**, New York, v. 12, n. 3, p. 202–205, Apr. 2002.

GELATTI, U.; COVOLO, L.; FRANCESCHINI, M.; PIRALI, F.; TAGGER, A.; RIBERO, M. L. Coffee consumption reduces the risk of hepatocellular carcinoma independently of its aetiology: a case-control study. **Journal Hepatology**, Amsterdam, v. 42, n. 4, p. 528–534, Apr. 2005.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Acrilamida: nova ameaça à segurança alimentar? **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 101, p. 37-41, out. 2002.

GINÈS, P.; GUEVARA, M.; ARROYO, V.; RODÉS, J. Hepatorenal syndrome. **Lancet**, London, v. 362, n. 9398, p. 1819-1827, Nov. 2003.

GRANER, E. A.; GODOY JUNIOR, C. **Manual do cafeicultor**. São Paulo: USP, 1967. 320 p.

HALIM, A. B.; EL-AHMDY, O.; ABDEL-GALIL, F.; HAFEZ, Y.; DARWISH, A. Biochemical effect of antioxidants on lipids and liver function in experimental induced liver damage. **Annals of Clinical Biochemistry**, London, v.34, n. 6, p. 656-63, Nov. 1997.

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox, **The Lancet**, London, v. 355, n. 9210, p. 1179-1180, Apr. 2000.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Coffee and health: a review of recent human research. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 46, n. 2, p. 101-23, 2006.

HONJO, S.; KONO, S.; COLEMAN, M. P.; SHINCHI, K.; SAKURAI, Y.; TODOROKI, I. Coffee drinking and serum gamma-glutamyltransferase: an extended study of Self-Defense Officials of Japan. **Annals of Epidemiology**, New York, v. 9, n. 5, p. 325-331, July 1999.

HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hidroxyl Radical Seavenging Activity of Flavanóids. **Phytochemistry**, Oxford, v. 26, n. 9, p. 2489, Sept. 1987.

ILLY, A; VIANI, R. **Espresso coffee: the chemistry of quality**. San Diego, 1995. 253 p.

IMBERT-BISMUT, F.; RATZIU, V.; PIERONI, L.; CHARLOTTE, F.; BENHAMOU, Y.; POYNARD, T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. **Lancet**, London, v. 357, n. 9262, p.1069-1075, Sept. 2001.

IWAI, K.; KISHIMOTO, N.; KAKINO, Y.; MOCHIDA, K.; FUJITA, T. *In vitro* antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activities of seven hydroxycinnamoyl derivatives in green coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 15, p. 4893-4898, July 2004.

KARAKAYA, S. N. E.; TAS, A. A. Antioxidants activity of some foods containing compounds. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Hants, v. 52, n. 6, p.501-508, Nov. 2001.

KUPER, H.; TZONOU, A.; KAKLAMANI, E.; HSIEH, C. C.; LAGIOU, P.; ADAMI, H. O.; TRICHOPOULOS, D.; STUVER, O. Tobacco smoking, alcohol consumption and their interaction in the causation of hepatocellular carcinoma. **International Journal Cancer**, New York, v. 85, n. 1, p. 498–502, Oct. 2000.

LAFAY, S.; GIL-IZQUIERDO, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; BESSON, C. S.; CALBERT, A. Clorogenic acid is absorbed in its intact form in stomach of rats. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 136, n. 5, p. 1192-7, May 2006

LA VECCHIA, C.; FERRARONI, M.; NEGRI, E.; D'AVANZO, B.; DECARLI, A.; LEVI, F.; Franceschi, S. Coffee consumption and digestive tract cancers. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 49, n. 4, p. 1049–1051, Feb. 1989.

LA VECCHIA, C. Coffee, liver enzymes, cirrhosis and liver cancer. **Journal of Hepatology**, Amsterdam, v. 42, n. 4, p. 444–446, Apr. 2005.

LEE, C. Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition on LDL peroxidation. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 295, n. 1-2, p.141-154, May 2000.

LEVINTON, A., COWAN, L. A review of the literature relating caffeine consumption by women to their risk of reproductive hazards. **Food Chemistry Toxicology**, Oxford, v. 40, n. 9, p. 1271–1310, Sept. 2002.

LIMA, D. R. Café e saúde. In: _____ **Manual de Farmacologia Clínica, Terapêutica e Toxicologia VI**. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. Cap.15, p.141-149.

LOPES, L. M. V. **Avaliação da qualidade de grãos crus e torrados de cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. 95 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MACIEL, Antônio Carlos et al. Carcinoma hepatocelular em pacientes submetidos a transplante hepático: achados radiológicos com correlação anatomopatológica no Brasil. **Arquivo Gastroenterology**, São Paulo, v. 43, n. 1, jan./mar. 2006.

MACRAE, R. Nitrogenous components. In: CLARKE, R.; MACRAE, R. **Coffee: chemistry**. London: Applied Science Publishers Ltd, 1985, p. 115-152.

MATIELLO, J. B. Manejo do cafezal. In: **O café: do cultivo ao consumo**. São Paulo: Globo, 1991. Cap. 5, p. 171-271. (Coleção do Agricultor – Grãos).

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, Oxford, v. 64, n. 4, p. 547-554, Mar. 1999.

MELLO, M. R. P. A.; MINAZZI-RODRIGUES, R. S.; CARVALHO, J. B.; SHIROSE, I. Estudo comparativo de métodos de extração para determinação de cafeína em café. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 89-95, 1992.

MENGEL, K.; KIKKBY, E. A. **Principales of plant nutrition**. 4. ed. Berna: International Potash Institute, 1987. 687 p.

MENDES, A N. G.; GUIMARÃES, R. J. **Economia cafeeira: o agribusinen**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997, 59 p.

MENEZES, H.C. Relationship between the state of maturity of raw coffee beans and the isomers of caffeoylquinic acid. **Food Chemistry**, Oxford, v. 50, n. 3, p. 293-296, 1994.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinário: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995. 308 p.

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

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

MONROY, G. M. E. R. **Caracterización del aroma del café molido de Puerto Rico mediante la técnica de microextracción en fase sólida (spme) y cromatografía de gas acoplada a espectrometría de masas (gc/ms)**. 2005. 156 p. Dissertação (Mestrado em Ciencia y Tecnología de Alimentos.) – Universidade de Puerto Rico, Puerto Rico.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J. M. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, Oxford, v. 100, n. 2, p. 990-997, Feb. 2001.

NAKANISHI, N.; NAKAMURA, K.; SUZUKI, K.; TATARA, K. Lifestyle and serum gamma-glutamyltransferase: a study of middle-aged Japanese men. **Occupational Medicine**, Oxford, v. 50, n. 2, p. 115-120, Feb. 2000.

NASCIMENTO, P. M. **Estudo da composição química, atividade antioxidante e potencial odorífico de um café conillon, em diferentes graus de torrefação e análise comparativa com café arábica**. 2006. 90f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

NATELLA, F.; NARDINI, M.; GIANNETTI, I.; DATTILO, C.; SCACCINI, C. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.50, n. 21, p.6211-6216, Oct. 2002.

NEBESNY, E.; BUDRYN, G. Antioxidative activity of green and roasted coffee beans as influenced by convection and microwave roasting methods and content of certain compounds. **European Food Research Technology**, New York, v. 217, n. 2, p. 157-163, Aug. 2003.

NERI, V. C. C. **Acrilamida em Alimentos: Formação Endógena e Riscos à Saúde**. 2004. 72 p. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Fundação Osvaldo Cruz/Instituto Nacional do Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro.

NICOLI, M. C.; ANESE, M.; MANZOCCO, L.; LERICE, C. R. Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. **Lebensmittel – Wissenschaft und – Technologie**, London, v. 30, n. 2, p. 292-297, 1997.

NOMPLEGGI, D. J.; BONKOVSKY, H. L.; Nutritional supplementation in chronic liver disease: an analytical review. **Hepatology**, Philadelphia, v. 19, n. 2, p.518-33, Feb. 1994.

O'BRIEN, J.; MORRISSEY, P. A. Nutritional and toxicological aspects of the Maillard reaction in food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 28, n. 3, p. 211-248, 1989.

OHIOKPEHAI, O.; BRUMEN, G.; CLIFFORD, M. N. The chlorogenic acids content of some peculiar green coffee beans and the implications for beverage quality. In: COLLOQUIUM OF INTERNATIONAL COFFEE SCIENCE ASSOCIATION, 10., 1982, Salvador. **Proceeding...** Paris: ASIC, 1982. p.177-185.

OMONI, A. O.; ALUKO, R. E. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. **Trende Food Science & Technology**, London, v. 16, n. 8, p. 344-350, 2005.

OZERCAN, I. H.; DAGLI, A.; USTUNDAG, B.; OZERCAN, M.; BAHCECIOGLU, I.; CELIK, H.; YALNIZ, M.; POYRAZOGLU, O.; ATASEVEN, H. Does instant coffee prevent acute liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄)? **Hepatology Research**, Clare, v. 35, n. 3, p. 163–168, July 2006.

PEREIRA, R. G. F. A. *et al.* **Análise sensorial de três marcas de café torrado e moído comercializadas na região sul de Minas Gerais**. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA CAFEIEIRA DO SUL DE MINAS GERAIS, 3., ENCONTRO SUL MINEIRO DE CAFEICULTURA, 8., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: Ufla, 2002.

PEREIRA, R. G. F. A.; PAIVA, E. F. F. **Classificação e Análise Sensorial de Cafés Especiais**. Lavras: UFLA / Faepe, 2006.

PEREIRA, R. G. F. A. **Efeito da inclusão de grãos defeituosos na composição química e qualidade do café (*Coffea arabica* L.) “Estritamente Mole”** 1997. 96 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PINTO, N. A. V. D.; FERNANDES, S. M.; PIRES, T. C.; PEREIRA, R. G. F. A.; CARVALHO, V. D. Avaliação dos polifenóis e açúcares em padrões de bebida do café torrado tipo expresso. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 3, p. 193-195, set./dez. 2001.

PIMENTA, C. J. **Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) originado de diferentes frutos colhidos em quatro estádios de maturação**. 1995. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RICHELLE, M.; TAVAZZI, I.; OFFORD, E. Comparison of the Antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving. **Journal and Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 7, p. 3438-3442, July 2001.

RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

ROCHA, E.M.P, FERREIRA, M.A.T. Análise dos indicadores de inovação tecnológica no Brasil: comparação entre um grupo de empresas privatizadas e o grupo geral de empresas. **Ciência e Informação**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 64-69, 2001.

RHODEN, E. L.; MAURI, M.; PETTEFFI, L.; BELLÓ-KLEIN, A.; RHODEN, C. R. O estresse oxidativo na cirrose hepática induzida por tetracloreto de carbono em ratos. **Gastroenterologia Endoscopia Digestiva**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 47-50, 1997.

RUHL, C. E.; EVERHART, J. E. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 128, n. 1, p. 24-32, Jan. 2005.

[SANTOS, M. H.](#); [BATISTA, B. L.](#); [DUARTE, S. M. S.](#); LEMOS, B. Influence of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee (*Coffea arabica*). **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n.3, p.604-610, maio/jun. 2007.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedade, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SHERLOK, S. **Doenças do fígado e do sistema biliar**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 215, n. 2, p. 213-219, July 1993.

SILVA, E. B. **Fontes e doses de potássio na produção e qualidade de café provenientes de plantas cultivadas em condições edafoclimáticas**. 1999. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SMITH, C. V.; ANDERSON, R. E. Methods for determination of lipid peroxidation in biological samples. **Free Radical Biology and Medicine**, Reading, v. 3, p. 341-344, 1987.

SOMOSA, V.; LINDENMETER, M.; WENZEL, E.; FRANK, O.; ERBERSDOBLER, F. H.; HOFMANN, T. Activity-Guided identification of a chemopreventive compound in coffee beverage using *in vitro* and *in vivo* techniques. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 23, p. 6861-6869, Dec. 2003.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JUNIOR, G. M.; AYRES, C. L. S. C.; ARAUJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAUJO, P. B. M.; BRANDAO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais, **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, July 2007.

STADLER, R. H.; TURESKY, R. J. MULLER, O.; MARKOVIC, J.; LEONG-MORGENTHALER, P. M. The inhibitory effects of coffee on radical-mediated oxidation and mutagenicity. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 308, n. 2, p. 177-190, July 1994.

SU, L.; YIN, J.; CHARLES, D.; ZHOU, K.; MOORE, J.; YU, L. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. **Food Chemistry**, Oxford, v. 100, n. 3, p.990-997, 2007.

TRUGO, L. C.; MORAES, R. C. P. **Torrefação e granulometria na composição química**. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. Anais... Brasília: Embrapa, 2001. v. 1.

TVERDAL, A.; SKURTVEIT, S. Coffee Intake and Mortality from Liver Cirrhosis. **Annals Epidemiology**, new York, v. 13, n. 6, p. 419-423, July 2003.

TZAO, R.; YANG, R.; XIE, S.; SOCKOVIE, E.; KHANIZADEH, S. H. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 12, p. 4989-4995, June 2005.

URGERT, R.; SHULZ, A. G. M.; KATAN, M. B. Effects of cafestol and kahweol from coffee grounds on serum lipids and serum liver enzymes in humans. **American Journal Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 61, n. 1, p.149-154, Jan.1995.

VARIYAR, P. S.; AHMAD, R.; BHAT, R.; NIYAS, Z.; SHARMA, A.
Flavoring components of raw monsooned arabica coffee and their changes during radiation processing. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 27, p. 7945- 7950, Dec. 2003.

VEGRO, C. L. R. **O prazer e a excelência de uma xícara de café expresso: um estudo de mercado**. São Paulo: Ceres, 2002. 111 p. (Coleção Cadeias de Produção da Agricultura, 2).

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

VILELA, T. C. **Qualidade de café despulpado, desmucilado, descascado e natural, durante o processo de secagem**. 2002. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VITORINO, M. D.; FRANÇA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; BORGES, M. L. A. Metodologias de obtenção de extrato de café visando a dosagem de compostos não voláteis. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 26, n. 3, p. 17-24, 2001.

WINTERBOURN, C. C.; GUTTERIDGE, J. M.; HALLIWELL, B.
Doxorubicin-dependent lipid peroxidation at low partial pressures of O₂. **Free Radical Biology & Medicine**, Oxford, v. 2, n. 11, p. 1119-1122, 1981.

YAMATO, T.; YAMASAKI, S.; MISUMI, Y.; KINO, M.; OBATA, T.; AOMINE, M. Modulation of the stress response by coffee: an *in vivo* microdialysis study of hippocampal serotonin and dopamine levels in rat. **Neuroscience Letters**, Clare, v. 332, n. 2, p. 87-90, Oct. 2002.

ANEXO

ANEXO A	PÁGINA
TABELA 1A Resumo da análise de variância para os valores das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (nmol MDA/mg proteína), em ratos tratados com café bebida mole (7 dias) e água.....	79
TABELA 2A Resumo da análise de variância para os valores de GGT determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.....	79
TABELA 3A Resumo da análise de variância para os valores de glicose determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.....	80
TABELA 4A Resumo da análise de variância para os valores de ALT determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.....	80
TABELA 5A Resumo da análise de variância para os valores de AST determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.....	81
TABELA 6A Resumo da análise de variância para os valores de fosfatase alcalina determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.....	81
TABELA 7A Resumo da análise de variância para os valores de uréia determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.....	82

TABELA 1A Resumo da análise de variância para os valores das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (nmol MDA/mg proteína), em ratos tratados com café bebida mole (7 dias) e água.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Cirrose	1	0,000099	0,000099	98,812	0,0000
Bebida	2	0,000212	0,000106	105,260	0,0000
Cirrose*Bebida	2	0,000130	0,000065	64,573	0,0000
Erro	24	0,000024	0,000001		
Total corrigido	29	0,000465			
CV (%)	1,62				

TABELA 2A Resumo da análise de variância para os valores de GGT determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Cirrose	1	27,936750	27,936750	35,417	0,0000
Bebida	2	10,517542	5,258771	6,667	0,0050
Cirrose*Bebida	2	10,785875	5,392937	6,837	0,0045
Erro	24	18,931000	0,788792		
Total corrigido	29	68,171167			
CV (%)	39,50				

TABELA 3A Resumo da análise de variância para os valores de glicose determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Cirrose	1	4802,572688	4802,572688	36,288	0,0000
Bebida	2	421,205375	210,602687	1,591	0,2244
Cirrose*Bebida	2	349,541375	174,770687	1,321	0,2857
Erro	24	3176,263500	132,344313		
Total corrigido	29	8749,582938			
CV (%)	11,72				

TABELA 4A Resumo da análise de variância para os valores de ALT determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Cirrose	1	33328,333521	33328,333521	92,094	0,0000
Bebida	2	11967,527792	5983,763896	16,534	0,0000
Cirrose*Bebida	2	10145,336792	5072,668396	14,017	0,0001
Erro	24	8685,519500	361,896646		
Total corrigido	29	64126,717604			
CV (%)	32,79				

TABELA 5A Resumo da análise de variância para os valores de AST determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Cirrose	1	81369,792000	81369,792000	95,512	0,0000
Bebida	2	18615,055500	9307,527750	10,925	0,0004
Cirrose*Bebida	2	16848,415500	8424,207750	9,888	0,0007
Erro	24	20446,340000	851,930833		
Total corrigido	29	137279,603000			
CV (%)	23,16				

TABELA 6A Resumo da análise de variância para os valores de fosfatase alcalina determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Cirrose	1	6490,787521	6490,787521	194,977	0,0000
Bebida	2	405,013292	202,506646	6,083	0,0073
Cirrose*Bebida	2	1309,708292	654,854146	19,671	0,0000
Erro	24	798,961500	33,290062		
Total corrigido	29	9004,470604			
CV (%)	8,20				

TABELA 7A Resumo da análise de variância para os valores de uréia determinados para avaliação da função hepática dos animais experimentais.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Cirrose	1	569,634188	569,634188	24,784	0,0000
Bebida	2	760,584292	380,292146	16,546	0,0000
Cirrose*Bebida	2	108,556125	54,278062	2,362	0,1158
Erro	24	551,615500	22,983979		
Total corrigido	29	1990,390104			
CV (%)	10,96				