

JULIANA CAPANEMA FERREIRA MENDONÇA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA POR
ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO
POR ELECTROSPRAY DOS GRÃOS
DEFEITUOSOS E SADIOS DE CAFÉS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da
Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito
parcial a obtenção do grau de doutor em Ciência de
Alimentos.

Orientadora: Adriana Silva Franca

Co-Orientador: Leandro Soares de Oliveira

Faculdade de Farmácia da UFMG

Belo Horizonte

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Folha de Aprovação

A Deus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela Fé, pelo dom da vida, pela perseverança e esperança.

Ao meu marido por estar ao meu lado, exemplo de coragem e superação. Pelo apoio incondicional e nos momentos inesquecíveis que muito contribuíram. Ao meu filho, minha energia vital, meu pôr do sol, por seu sorriso contagiante, sua simplicidade e cumplicidade. Por seu amor. Agradeço e louvo a sua presença em minha vida. Delícias da minha vida, obrigada por tudo!!!!!!

A minha mãe, sol do meu jardim! Pelo seu amor incondicional Por me receber sempre de abraços abertos, pelos conselhos, exemplos, oportunidades, por tudo!!! Agradeço a minha Vó Mônica seu exemplo de vida, de luta, coragem, força e dinamismo.

As minhas irmãs, agradeço, cada momento em comunhão. Os sorrisos, os abraços, os olhares, a cumplicidade! O apoio nos momentos mais difíceis. Incluo aqui meu agradecimento ao Juninho! Valeu atleticano!

Ao meu pai, pelo “paitrocínio” nos congressos e momentos de lazer. Por seu exemplo de profissionalismo e dedicação ao trabalho.

A Té, minha querida e companheira tia. Agradeço o acolhimento em sua casa, o apoio técnico e moral, os incentivos e os excelentes momentos compartilhados.

Ao meus sogros, pelo apoio indispensável. A Lu pelo carinho, incentivos, boas conversas e convivência.

A professora Adriana Silva Franca, a Dri, agradeço a orientação em todos os meus trabalhos, sua presença constante na minha vida acadêmica. Por tudo o que me ensinou, pelo exemplo de profissionalismo e competência e todos os momentos compartilhados, que contribuíram positivamente para a minha formação.

Ao professor Leandro Soares de Oliveira, o Lê, pela co-orientação, contribuições na minha caminhada acadêmica, incentivos, boas idéias e conversas.

Ao Prof. Robson Afonso por me receber com um sorriso contagiante e revigorante em seu laboratório. Por disponibilizar o equipamento para análises finais. Agradeço muito por compartilhar comigo os momentos finais deste trabalho, na maioria das vezes angustiantes, mas, que diante de suas sugestões tornaram-se menos penosos. Agradeço muito o conhecimento compartilhado.

Ao professor Adriano Pimenta que permitiu a utilização do equipamento ESI-MS, possibilitando novos rumos aos meus trabalhos, novas experiências e muita oportunidade de aprendizagem. A Marcela por injetar minhas amostras, compartilhar conhecimento e incentivos. Muito obrigada!

Agradeço ao professor Rodiney as contribuições inestimáveis na análises de resultados em espectrometria de massas, os elogios, incentivos e pelo exemplo notável de doutor pesquisador de uma universidade pública. Agradeço todos os conhecimentos compartilhados comigo, despretensiosamente.

Agradeço a todos os professores do Departamento de Ciências de Alimentos da Faculdade de Farmácia, em especial ao professores: Virgilio, pelo empréstimo do laboratório, conhecimento compartilhado, incentivos, acolhimento e edificantes conversas; Roberto, pelo apoio, sugestões e boas conversas; David, a prazerosa convivência e sugestões; Beatriz e Maria Alice, o empréstimo do colorímetro e do liofilizador, respectivamente.

Ao Patterson que me iniciou no estudo da análise multivariada.

Por fim, não menos importante agradeço aos meus amigos que torceram por mim. Em especial ao Marcelo Dinardi e Pri! Obrigada por sua amizade!!!

Ana e André, carinhosamente agradeço a amizade incondicional! Obrigada pelo carinho, companhia nos momentos de lazer e solidariedade, principalmente nos momentos não tão bons. Ana, obrigada pela companhia na madrugada!!! Inesquecível!

Aos amigos: Dani e Pia. Por todos os momentos compartilhados, incentivos, solidariedade, troca de experiências, atenção e por nos receber tão carinhosamente!!!

A Cris e Daniel, agradeço a amizade, a boa convivência, confraternização, incentivos e a torcida!

Agradeço ao Diego pela convivência no laboratório e principalmente as mensagens edificantes, que sempre me confortaram e encorajavam-me. E ao Fernando, pelos incentivos e apoio.

Agradeço a Pri o carinho e atenção a mim dispensada.

De uma maneira muito especial quero agradecer a Beth que me aconselhou em momentos difíceis e decisivos. Obrigada pelo carinho e atenção dispensados! Agradeço o Bil a torcida, ainda que distante! E, ao pessoal do laboratório: Anna, Geovana, Melissa, Camila, Carol Mallab e todos os outros que conviveram comigo no laboratório de pesquisa, que contribuíram para este trabalho.

Agradeço a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização e conclusão deste trabalho. MUITÍSSIMO obrigada!

“....Estudar é crescer: não apenas porque aprendemos mas, também porque é uma experiência humana, porque, à sua volta, as pessoas o enriquecem emocionalmente, obrigando-o a um maior auto-controle, e, espiritualmente, modelando seu caráter a serviço do outro, quando o ego é reduzido à sua menor extensão e dá lugar à humildade e à força moral. Um não existe sem o outro. Viver é isto: crescer para se pôr ao serviço dos outros...”

Ingrid Bittencourt

Sumário

	pág
1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 – O grão de café	23
3.1.1 – A importância econômica	25
3.1.2 – O beneficiamento do grão de café	33
3.1.2.1 – O pré-processamento	33
3.1.2.2 – A torrefação dos grãos de café	40
3.2 – A qualidade do café	46
3.2.1 – Os grãos de café defeituosos	50
3.3 – Atributos dos grãos de café	54
3.3.1 – Grãos crus	54
3.3.2 – Grãos torrados	70
3.4 – Espectrometria de massas	83
3.4.1 – A fonte de ionização por electrospray (ESI)	88
4. MATERIAIS E MÉTODOS	97
4.1 – Materiais	97
4.2 – Métodos	98
4.2.1 – Estudo comparativo dos métodos de determinação do teor de umidade em café cru	98
4.2.2 – Ensaio de torrefação	100
4.2.3 – Caracterização física dos grãos de café cru e torrado	100
4.2.4 – Caracterização química dos grãos de café cru e torrado	102
4.2.4.1 - Avaliação dos métodos de extração	102
4.2.4.2 – Caracterização por espectrometria de massas com ionização por electrospray	103
5. RESULTADOS	105
5.1 – Estudo comparativo dos métodos de determinação do teor de umidade em café cru	107
5.2 – Caracterização física dos grãos de café crus e torrados	115
5.3 – Avaliação dos métodos de extração	125
5.4 – Caracterização por espectrometria de massas com ionização por	128

electrospray	
5.4.1 – Grãos de cafés cru	128
5.4.2 – Grãos de cafés torrados	144
6. CONCLUSÕES	167
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	168
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	169
9. ANEXOS	186
Apêndice A – A comparative evaluation of methodologies for water content determination in green coffee	186
Apêndice B – Physical characterization of non-defective and defective arabica and robusta coffees before and after roasting	191
Apêndice C – Chemical characterization of non-defective and defective green arabica and robusta coffees by electrospray ionization-mass spectrometry (ESI-MS)	200

LISTA DE TABELAS

	pág
Tabela 1 – Perda de massa (%) para diferentes graus de torrefação	46
Tabela 2 - Classificação das principais bebidas de café	48
Tabela 3 – Classificação do café por tipo	49
Tabela 4 - Defeitos mais comuns no grão de café	51
Tabela 5 – Equivalência de defeitos de acordo com o sistema de classificação do café por tipos.	52
Tabela 6: Composição química dos grãos de café arábica e robusta crus	55
Tabela 7 – Composição centesimal dos grãos de café cru	57
Tabela 8 – Composição centesimal dos grãos de café defeituosos cru e torrado	73
Tabela 9 – Tipo de defeito do grão de café e sua identificação	97
Tabela 10 – Identificação das condições experimentais das amostras de café umedecidas e secas	107
Tabela 11 – Teor de umidade (b.u.) nos grãos de café arábica sadio considerando diferentes métodos de determinação	111
Tabela 12 – Equações lineares dos métodos utilizados para determinar o teor de umidade nos grãos de café arábica sadio	112
Tabela 13 – Coeficientes de correlação entre os métodos avaliados para a determinação do teor de umidade em grãos de café arábica cru sadio	113
Tabela 14 – Teor de umidade (b.u.) dos grãos de café arábica e robusta cru	114
Tabela 15 – Parâmetros físicos dos grãos de café sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta, antes e após a torrefação.	117
Tabela 16 – Porcentagem de carboidratos totais em função do tempo de extração para grãos de café sadio arábica.	127
Tabela 17 - Identificação dos compostos moleculares (m/z 431)	138

LISTA DE FIGURAS

	pág
Figura 1 - Seção longitudinal de um fruto de café cereja.	23
Figura 2 – Distribuição da cultura cafeeira no mundo.	26
Figura 3 – Participação (%) na produção mundial de grãos de café cru.	27
Figura 4 – Distribuição da produção de café no Brasil.	28
Figura 5 – Participação das espécies arábica e robusta na produção brasileira de grãos de café cru.	29
Figura 6 – Participação das espécies (a) arábica e (b) robusta na produção total brasileira nos maiores estados brasileiros produtores (MG – Minas Gerais; ES – Espírito Santo, SP – São Paulo, PR – Paraná; BA – Bahia; RO – Rondônia).	30
Figura 7 – Participação (%) brasileira no mercado exportador mundial de grãos de café cru.	31
Figura 8: Fluxograma das etapas de processamento do café à seco e à úmido.	37
Figura 9: Representação esquemática do sistema CIE L*a*b*.	44
Figura 10: Coordenadas polares (L*, c* e Hab) do sistema CIE L*a*b*.	45
Figura 11 – Componentes básicos de um espectrômetro de massas.	84
Figura 12 – Fonte de ionização por electrospray.	86
Figura 13 - Esquema da fonte de ionização por electrospray.	90
Figura 14 – Ilustração do Cone de Taylor na fonte ESI.	91
Figura 15 – Dessolvatação das gotas e a formação dos íons na fase gasosa.	92
Figura 16 – Representação do processo eletroquímico na fonte de ionização por electrospray.	94
Figura 17 – Dimensões do grão de café.	100
Figura 18 – Caracterização em massa por tipo de grãos das misturas PVA do café arábica da safra 2003/2004	105
Figura 19 – Caracterização em massa por tipo de grãos das misturas PVA do café robusta da safra 2003/2004	106
Figura 20 – Perda de massa média dos grãos de café sadios em função do tempo de secagem.	108
Figura 21 – Influência do processo de moagem na determinação do teor de	109

umidade em estufa por 24 horas a 105 °C.

- Figura 22 – Avaliação do desempenho do titulador KF-1000.** 109
- Figura 23 - Comparação do teor de umidade (b.s.) do café cru considerando diferentes solventes.** 110
- Figura 24 – Relações lineares entre os métodos utilizadas na determinação do teor de umidade nos grãos de café sadios.** 112
- Figura 25 – Luminosidade dos grãos de café arábica e robusta, antes e após a torração, grãos inteiros (a) e grãos moídos (b).** 120
- Figura 26 - Croma dos grãos de café arábica e robusta, antes e após a torração, grãos inteiros (a) e grãos moídos (b).** 121
- Figura 27 – Tonalidade (Hab) dos grãos de café arábica e robusta, antes e após a torração, grãos inteiros (a) e grãos moídos (b).** 123
- Figura 28 – Diferença de cor entre a superfície (a) dos grãos sadios e defeituosos e (b) entre os grãos arábica e robusta, por tipo de grão, cru e torrado.** 124
- Figura 29 – Extração aquosa dos carboidratos solúveis por ultra-som (Ultra-som) e com aquecimento (Água quente).** 126
- Figura 30 – Perfil de temperatura da água do banho de ultra-som em função do tempo de extração.** 127
- Figura 31 - Espectros dos grãos de café arábica cru obtidos por ESI(+)-MS - (a) grão sadios, (b) grãos verde, (c) grão ardido claro, (d) grão ardido escuro e (e) grão preto.** 130
- Figura 32 - Espectros dos grãos de café robusta cru safra 2003/2004 obtidos por ESI(+)-MS - (a) grão sadios, (b) grãos verde, (c) grão ardido claro, (d) grão ardido escuro e (e) grão preto.** 132
- Figura 33 - Espectros dos grãos de café arábica cru gerados por ESI(-)-MS - (a) grão sadios, (b) grãos verde, (c) grão ardido claro, (d) grão ardido escuro e (e) grão preto.** 133
- Figura 34 - Espectros dos grãos de café cru robusta da safra 2003/2004 gerados por ESI(-)-MS - (a) grão sadios, (b) grãos verde, (c) grão ardido claro, (d) grão ardido escuro e (e) grão preto.** 135
- Figura 35 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(+)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = Robusta).** 136

Figura 36 – Estrutura molecular do kaempferol.	138
Figura 37 – Dendograma para os grãos de café arábica e robusta obtido a partir dos espectros gerados por ESI (+)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).	139
Figura 38 - Resultados da análise de componentes principais para os grãos de café arábica e Robusta (a) score (b) loa149ding a partir dos espectros obtidos por ESI(-)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).	142
Figura 39 - Dendograma para os grãos de café arábica e robusta obtidos a partir dos espectros gerados por ESI (-)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).	143
Figura 40 – Espectros dos grãos de café torrados arábica otidos por ESI(+)-MS – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.	145
Figura 41 – Intensidades de detecção do pico de m/z 195 nos extratos aquosos analisados.	146
Figura 42 – Espectros dos grãos de café torrados arábica obtidos por ESI(+)-MS após a retirada do pico m/z 195 – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.	148
Figura 43 – Espectros dos grãos de café torrados robusta obtidos por ESI(+)-MS – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.	150
Figura 44 – Espectros dos grãos de café torrados arábica obtidos por ESI(+)-MS após a retirada do pico m/z 195 – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.	151
Figura 45 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(+)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).	153
Figura 46 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(+)-MS, centrados na média, (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = Robusta).	154
Figura 47 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a	156

partir dos dados dos ESI(+)-MS, com a retirada do composto m/z 195, (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

Figura 48 – Espectros dos grãos de café torrados arábica obtidos por ESI- 158
(-)-MS – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.

Figura 49 – Espectros dos grãos de café torrados arábica obtidos por ESI- 160
(-)-MS – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.

Figura 50 - Intensidades de detecção do pico de m/z 191 nos extratos 161
aquosos analisados.

Figura 51 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de 162
café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e Robusta obtido a partir dos dados dos ESI(-)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

Figura 52 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de 164
café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e Robusta obtido a partir dos dados dos ESI(-)-MS – centrados na média, (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

Figura 53 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de 165
café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(-)-MS, com a retirada do composto m/z 191, (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

LISTA DE SIGLAS

- 3,4 – diCQA – ácido 3,4 dicafeiolquínico
3,5 – diCQA – ácido 3,5 dicafeiolquínico
3-CQA - ácido 3-cafeiolquínico
3-CQL - 3-cafeiolquínico-1-5-lactona
4 – CQA - ácido 4-cafeiolquínico
4,5 – diCQA – ácido 4,5 dicafeiolquínico
4-CQL - 4-cafeiolquínico-1-5-lactona
5-CQA – ácido 5-cafeiolquínico
a* - eixo verde-vermelho
ABIC – Associação Brasileira da Indústria de Café
APCI - ionização química a pressão atmosférica
 a_w – atividade de água
b* - eixo azul-amarelo
b.s. – base seca
c* - croma
CFQA – ácido cafeoil-ferrulolquínico
CGA – ácidos clorogênicos
CI - ionização química
CID - dissociação induzida por colisão
CIE $L^*a^*b^*$ - Sistema de medida dos parâmetros de cor
COB - Classificação Oficial Brasileira
CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento
CQA – ácido cafeiolquínico
DC - corrente elétrica contínua
diCQA – ácido dicafeiolquínico
EI - ionização por elétrons
ESI - ionização por electrospray
ESI(-)-MS – Espectrometria de massas com fonte de ionização por electrospray no modo de ionização negativo.
ESI(+)-MS – Espectrometria de massas com fonte de ionização por electrospray no modo de ionização positivo.

ESI-MS – Espectrometria de massas com fonte de ionização por electrospray
FAB - bombardeamento por átomos rápidos
FCQA – ácido ferrulol-cafeiolquínico
FQA – ácido ferrulolquínico
FT-ICR - espectrometria de massas por transformada de Fourier
hab – tonalidade
IBC - Instituto Brasileiro do Café
ICO – International coffee organization
ICR - ressonância ciclôtrica de íons
m/z – razão massa carga de um determinado composto molecular
M.⁺ - íon molecular
MALDI - desorção/ionização a laser auxiliada por uma matriz
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
pCoQA - ácido p-coumaoilquínico
p-CoQA – ácido p-cumárico
Q - analisadores de massas quadrupolo
RF - potencial de radiofrequência
SEBRAE – Serviço Brasileiro de apoio à micro e pequenas empresas
SINDICAFÉ – Sindicato das indústrias de café
SPME-CG-MS – micro-extração em fase sólida acoplada a cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas
ToF – “time of flight” – detector tempo de voo.
USDA – United States Department of Agriculture

RESUMO

Os grãos defeituosos de café são inerentes à cultura cafeeira devido ao sistema de colheita por derriça e outras práticas de pós-processamento. Apesar de serem separados dos grãos sadios, ainda nas fazendas de cultivo, retornam ao mercado interno, depreciando a qualidade sensorial do café torrado brasileiro. Os grãos defeituosos mais comuns são os verdes, associados à colheita prematura do fruto; ardido e preto, que fermentaram. Considerando as espécies de grãos mais cultivadas, arábica e robusta, foi proposto neste trabalho um padrão para grãos defeituosos da espécie robusta, associado ao padrão dos grãos defeituosos arábica já reconhecido. Os grãos de café defeituosos foram caracterizados fisicamente, através do volume, densidade de partícula e de leito e parâmetros de cor: luminosidade, saturação e tonalidade. Quimicamente os grãos de café foram caracterizados, através de seus extratos aquosos analisados por espectrometria de massas com ionização por electrospray. Os resultados comprovam que os grãos de café arábica sadios crus podem ser separados dos grãos defeituosos ardido escuro e preto, considerando a cor de suas superfícies. Destaca-se que esta separação não é eficiente para os grãos sadios e verdes. Dentre os grãos de café robusta, a diferença de cor da superfície dos grãos foi capaz de separar o grão sadio dos defeituosos. Os resultados obtidos por ESI-MS mostram que esta técnica analítica é capaz de discriminar os grãos de café por espécie; e os grãos sadios dos defeituosos, independentemente da espécie, somente no modo positivo de ionização, provavelmente devido à ocorrência da sacarose nos grãos sadios. Após a torração dos grãos, o tamanho destes discriminou os grãos arábica por tipo. Os resultados mostram que ESI-(+)-MS possibilitou a discriminação dos grãos de café torrados por espécie, e que somente os grãos robusta sadios foram discriminados dos defeituosos. A técnica ESI-(-)-MS não é eficiente na discriminação dos grãos de café torrados, exceto para os grãos defeituosos ardido escuro e preto da espécie arábica.

ABSTRACT

CHEMICAL CHARACTERIZATION OF DEFECTIVE AND NON-DEFECTIVE COFFEE BEANS BY ELECTROSPRAY IONIZATION-MASS SPECTROMETRY. Defective coffee beans are usually present in the coffee produced in Brazil, because of the to the strip-picking harvesting and processing practices adopted by the coffee producers. Such beans are separated from the healthy ones prior to export and are dumped on the Brazilian internal market, thus depreciating the sensory quality of the Brazilian roasted coffee. The most important types of defects are immature, which arise from immature fruits, and sour/black, for beans that underwent fermentation. Considering the most common coffee species, arabica and robusta, a classification for robusta defective coffee beans was proposed in this study, similar that already established for arabica variety. Defective coffee beans were physically characterized by volume, particle and bulk density, and color measurements: luminosity, chroma and hue angle. Chemical characterization was accomplished by analysis of the aqueous extracts by Electrospray Ionization-Mass Spectrometry. Results show that non-defective green arabica coffee beans can be separated from dark sour and black defects based on surface color measurements. Color separation is not efficient for non-defective and immature beans. Surface color measurements were able to distinguish between non-defective and defective green robusta coffee beans. ESI-MS results show that this technique can be employed for discrimination between green coffee species. Discrimination between non-defective and defective green coffee beans, regardless of species, was accomplished by ionization in the positive mode, as a result of the higher levels of sucrose in the non-defective beans. After roasting, it was possible to separate defective and non-defective Arabica beans by size. ESI-(+)-MS discriminated between of roasted beans by species and between defective and non-defective robusta beans. ESI-(-)-MS was not efficient for discrimination of roasted coffee beans, with the exception of arabica dark sour and black beans.

1. INTRODUÇÃO

O tradicional cafezinho é a bebida mais consumida no mundo, depois da água (ABIC, 2008). O sabor único, além de suas características estimulantes, faz do cafezinho uma experiência prazerosa, sendo poucas as outras do cotidiano que se comparam. Acrescenta-se ainda o fato de que a ingestão de café ser potencialmente benéfica à saúde humana (PERRONE et al., 2008). O café é uma bebida rica em compostos antioxidantes, considerados agentes quimioprotetivos, pode prevenir diversas doenças, reduzir a sonolência e fadiga, melhorar o desempenho cognitivo, e inibir algumas reações alérgicas (YANAGIMOTO et al., 2004).

Os aroma e sabor característicos do café torrado são desenvolvidos durante o processo de torrefação a partir dos precursores presentes nos grãos de café cru. Polissacarídeos, lípidos e proteínas são os maiores constituintes do grão cru (CLIFFORD, 1985a), e em menores proporções destacam-se os amino ácidos, ácidos clorogênicos e açúcares, incluindo sacarose, trigonelina e cafeína (TRUGO e MACRAE, 1989). A torrefação é um processo complexo que inclui, principalmente, as reações de Strecker e as de Maillard, sendo que, a degradação térmica dos açúcares, trigonelina, ácido clorogênicos, proteínas e polissacarídeos, são de particular interesse como os principais precursores para o aroma e sabor característico do café torrado (CLIFFORD, 1985a; DART e NURSTEN, 1985). De acordo com De MARIA et al. (1994) o teor e a composição destes compostos no café cru podem ter um efeito dramático na qualidade final do produto.

No Brasil, a avaliação da qualidade do café é orientada, principalmente, pelas classificações conforme a qualidade da bebida e conforme os tipos ou defeitos presentes nos grãos crus. A classificação conforme a qualidade da bebida é uma avaliação sensorial, definida como “prova de xícara”. A classificação conforme os tipos ou defeitos consistem na contagem de defeitos em amostras de café, atribuindo notas segundo a Classificação Oficial Brasileira (COB). Dentre os fatores que afetam a qualidade do café, destaca-se a presença de grãos defeituosos. Os grãos pretos, verdes e ardidos são os principais exemplos de grãos defeituosos. Os grãos pretos e ardidos estão associados aos processos fermentativos ocorridos ainda na galha do cafeeiro ou no contato com o solo e no pré-processamento por via úmida, respectivamente. Os grãos verdes são provenientes de frutos colhidos prematuramente e processados, estando associados à

adstringência da bebida. De acordo com a literatura (PEREIRA, 1997; MAZZAFERA, 1999; FRANCA et al., 2005a, b; OLIVEIRA et al., 2006; FARAH et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2007) estes grãos defeituosos contribuem para a depreciação da qualidade da bebida.

A qualidade do café torrado está intimamente associada aos inúmeros compostos produzidos durante a torrefação a partir dos compostos presentes no grão cru. Consideram-se, principalmente, a diversidade de compostos produzidos, inclusive suas intensidades e concentrações diferentes. Alguns precursores do aroma como sacarose e trigonelina aumentam consideravelmente os produtos característicos do flavor como, os furanos, pirazinas, alqui-pirazinas e pirróis (CLIFFORD, 1985a; DART e NURSTEN, 1985; De MARIA et al., 1996). Os ácidos clorogênicos degradam-se em derivados fenólicos (LELOUP et al., 1995), aumentando o amargor. E, a cafeína não sofre nenhuma degradação térmica (VOILLEY et al 1977). Dessa forma, o conjunto das características intrínsecas existentes no grão torrado, que determinam o grau de aceitabilidade do produto pelo consumidor, pode ser entendida como a qualidade do café torrado.

Comercialmente, a bebida café é constituída a partir de grãos de café arábica (*Coffea arabica*), classificadas sensorialmente quanto à qualidade da bebida, ou em conjunto com os grãos de café da espécie *Coffea canephora*, neste trabalho denominada de robusta, constituindo os “blends”. Os grãos de café arábica produzem uma bebida de qualidade superior, com aroma e sabor mais requintados e menos adstringentes. Estes grãos possuem maiores teores de sacarose e trigonelina quando comparados aos teores destes compostos nos grãos de café da espécie robusta. Esta última espécie de café produz uma bebida mais encorpada, porém de qualidade sensorial inferior. O grão de café da espécie robusta possui maior teor de cafeína e ácidos clorogênicos do que os grãos arábica. Conseqüentemente, estas espécies de café não diferem somente quanto às suas características organolépticas, mas também comercialmente. Assim, o interesse na constituição dos “blends” é principalmente econômico uma vez que o café robusta pode ser comercializado a preços 20 a 25% menores do que o arábica (ESTEBAN-DÍEZ et al., 2007). Mas, a substituição intencional em proporções maiores do que o permitido tem sido uma prática comum entre as torrefadoras, que visam benefícios econômicos e assim falsificam a declaração do produto final. De acordo com ESTEBAN-DÍEZ et al. (2007) a identificação ou classificação do café tem recebido maior atenção como ferramenta de controle e prevenção na adulteração do café, considerando a grande variabilidade nos preços praticados na comercialização do café dependente da espécie e origem

geográfica. Assim, torna-se cada vez mais importante a existência de métodos analíticos que caracterizem estas duas espécies de café.

O café torrado brasileiro é considerado de baixa qualidade principalmente devido à presença de grãos defeituosos. Estes grãos são inerentes à cafeicultura e estão associados ao beneficiamento e colheita do grão em condições não otimizadas. Apesar de separados dos grãos sadios, ainda crus, nas fazendas de beneficiamento, são torrados e comercializados no mercado interno (OLIVEIRA et al., 2006). Apesar de ser o maior produtor mundial de café, respondendo por aproximadamente 30% do mercado mundial exportador (ABIC, 2008), e o segundo maior mercado consumidor, atualmente, o café cru não é o principal produto de exportação brasileira, devido ao grande volume de grãos defeituosos produzidos. Assim, a baixa qualidade do café cru produzido é um dos principais motivos da pouca participação deste produto brasileiro no mercado internacional, conseqüentemente com perda significativa no “commodity” brasileiro.

É evidente a necessidade de se retirar os grãos defeituosos do mercado nacional, de forma a melhorar a qualidade do produto final de consumo (café torrado). Mas, a retirada dos grãos defeituosos do mercado nacional requer propostas de utilização alternativa destes grãos, uma vez que há o custo em plantar, colher, beneficiar e separar os grãos defeituosos dos sadios. A comunidade científica brasileira tem dado maior atenção aos grãos defeituosos na última década, na tentativa de contribuir para a melhoria da qualidade do café torrado brasileiro (MAZZAFERA, 1999; FRANCA et al., 2005a; FRANCA et al., 2005b; FARAH et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2007; MANCHA et al., 2008, TOCCI e FARAH, 2008 e FRANCA e OLIVEIRA, 2008). Ressalta-se que estes pesquisadores trabalharam somente com os grãos de café da espécie arábica. Destaca-se que para os grãos da espécie robusta não há um padrão estabelecido para estes grãos defeituosos e são escassas na literatura informações sobre a existência destes grãos.

Considerando a inclusão destes grãos defeituosos no mercado interno, são poucas as informações sobre técnicas analíticas para discriminar e/ou quantificar os tipos e espécies de grãos de café, principalmente após o processo de torrefação. Os atributos físicos, por exemplo, a cor da superfície do grão é utilizada para separar os grãos de café cru sadios dos defeituosos. Esta separação é eletrônica e não seletiva para os grãos sadios e imaturos. Para assegurar a melhor qualidade do café, comumente os grãos sadios são descartados com os imaturos, diminuindo a lucratividade do produtor. Dentre os atributos químicos, FRANCA e OLIVEIRA (2008) reportaram que o teor de sacarose, índice de acidez e presença de histamina podem ser utilizados para discriminar os grãos

de café sadios dos defeituosos, embora os resultados obtidos dificultem a discriminação dos grãos de café cru por tipo na mistura de grãos defeituosos, uma vez que podem ser considerados semelhantes.

Em relação aos os grãos de café torrados, pouco se encontra na literatura sobre a discriminação destes por espécie e tipo de grão. TOCCI e FARAH (2008) e MANCHA AGRESTI (2008) compararam o perfil de compostos voláteis dos grãos sadios e defeituosos, obtidos por SPME-CG-MS, e identificaram possíveis marcadores químicos dos grãos defeituosos. MANCHA AGRESTI et al. (2008) mostraram que os grãos de café torrados foram discriminados em dois grupos, um dos grãos imaturo e preto, e outro dos grãos sadios e ardido, com o auxílio da análise multivariada. Entretanto, o aumento do interesse por técnicas analíticas que não requerem separação cromatográfica acopladas à espectrometria de massas e a utilização de ferramentas quimiométricas tem sido uma alternativa viável para a obtenção e interpretação do perfil de amostras complexas, também chamado de *'fingerprinting'*, destacando a velocidade da análise. Alternativamente, a ionização por electrospray, tem sido empregada para a obtenção destes perfis em amostras de alimentos e bebidas, embora não haja na literatura informações sobre o perfil dos grãos de café das espécies arábica e robusta, sadios ou não, antes e após a torrefação.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a possibilidade de discriminar os grãos de café, cru e torrado, por espécie e por tipo, considerando os padrões de grãos defeituosos da espécie robusta e arábica, proposto neste trabalho e o já existente, respectivamente. A discriminação dos grãos de café, antes e após a torrefação, foi avaliada a partir dos espectros de massa obtidos com ionização por electrospray e sem separação cromatográfica, sendo justificada pelas intencionais adições de grãos defeituosos em blends de café, e de grãos da espécie robusta em blends de café arábica.

2. OBJETIVOS

- ✓ Propor um padrão de grãos defeituosos para os grãos de café da espécie robusta.
- ✓ Avaliar os parâmetros físicos dos grãos de café sadios e defeituosos das espécies arábica e robusta, antes e após o processo de torrefação.
- ✓ Avaliar a eficiência da técnica de espectrometria de massas com ionização por electrospray como ferramenta analítica para discriminar os grãos de café, considerando as espécies (arábica e robusta) e os tipos de grãos, antes e após a torrefação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 – Grão de café

O café cru é a semente seca do fruto do cafeeiro. O fruto apresenta formato ovóide, e sua cor varia de verde, ao nascer, a amarelo ou vermelho, de acordo com a maturação do grão e variedade da planta. Sua casca é lisa e brilhante. No seu interior há duas sementes convexas de lado externo achatado, como pode ser visto na Figura 1. O fruto do café é composto por uma pele externa à polpa (pericarpo) que envolve as sementes, protegendo a polpa. As sementes estão recobertas por três camadas distintas que, a partir do pericarpo em direção à superfície das sementes, são denominadas: mesocarpo, endocarpo e película prateada (esta última está aderida à superfície do grão). O mesocarpo e o endocarpo juntos são denominados de pergaminho. O tamanho dessas sementes varia de acordo com a espécie, o crescimento e a variedade da planta (VIANI, 1986).

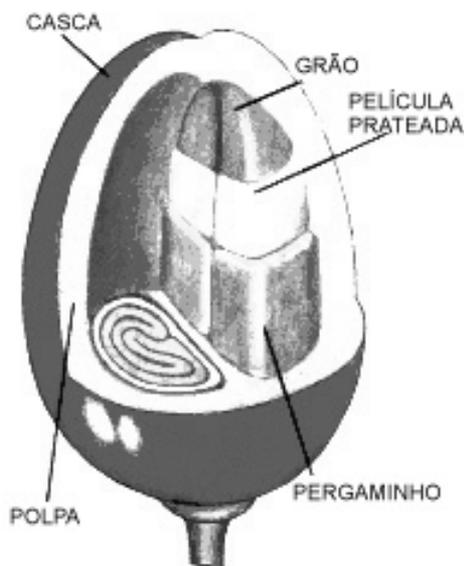


Figura 1 - **Seção longitudinal de um fruto de café cereja.**

Fonte: (SMITH, 1986).

O cafeeiro é um arbusto tropical de flores amarelas, pequenas e perfumadas, que cresce entre latitude 30° ao norte e 30° ao sul, trópicos de Câncer e Capricórnio, em altitudes superiores a 2000 metros do nível do mar. Esta região geográfica bem característica é conhecida como o cinturão do café (PRODOLLIET e HISCENHUBER, 1998). O caule principal é ereto e os ramos secundários partem do principal num ângulo de 90°, aproximadamente. As folhas são opostas, onduladas nos bordos e de coloração verde-acinzentada quando jovens. Além de ser uma planta perene, é dicotiledônea com caule lenhoso e folhas persistentes. Pertence à família *Rubiaceae* e ao gênero e subgênero *Coffea*, subdivisão *Eucoffea* grupo *Erythrocoffea*. O fruto do cafeeiro tem um aspecto semelhante ao de uma cereja, possuindo coloração vermelha ou amarela (dependendo da variedade) quando está maduro. As sementes ou grãos não possuem as características aromáticas próprias da bebida, sendo estas adquiridas durante o processo de torrefação. Há mais de 80 espécies de café, mas somente 2 delas apresentam importância econômica: *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (CAMPA et al., 2005).

A espécie *C. arabica* é cultivada nas regiões montanhosas, com altitudes superiores a 600 m, na América Latina, leste da África, Índia e sudeste da Etiópia, por exemplo. Em altitudes mais baixas o cultivo é restrito a algumas ilhas (Havaí, Réunion, Nouvelle Calédonie) onde o mar modera a temperatura, sendo que nas áreas tropicais de baixa altitude é substituída pela espécie robusta (CAMPA et al., 2004).

O cafeeiro da espécie arábica atinge de 5 a 6 metros de altura, floresce após as chuvas e em 9 meses, em média, o fruto está maduro. A faixa de temperatura ideal para o seu cultivo é de 15 a 24 °C e com uma produtividade média de 1,5 a 3 toneladas/ hectare (ICO, 2007). Os grãos produzidos por essa espécie são considerados de melhor qualidade por apresentarem aroma mais requintado e sabores mais intensos, e conseqüentemente mais valorizados comercialmente que os grãos da espécie robusta. De acordo com ILLY (2002) o café produzido a partir de grãos arábica apresenta um intenso aroma, que nos lembra flores, frutas, mel, chocolate, caramelo e pão tostado. Entretanto, os arbustos do café arábica são facilmente afetados por pragas (SINDICAFÉ, 2003), exigindo maiores cuidados no cultivo.

A espécie *C. canephora*, mais conhecida como robusta ou conillon, originou-se na África e é capaz de adaptar-se a diversas condições climáticas. Esta espécie é originária de regiões quentes, sendo 24 a 30 °C a temperatura ambiente favorável ao seu cultivo, úmida e de baixa altitude. No entanto, podendo ser encontrada também em regiões com até 1300 m de altitude (AGUIAR et al., 2005). Floresce irregularmente e o fruto está maduro entre 10 a 11 meses após a floração. É mais resistente às pragas, portanto

requer menores cuidados, atinge até 12 metros de altura e sua produtividade é de 2,3 a 4 toneladas/hectare (ICO, 2007). De acordo com AGUIAR et al. (2005), o grão de café robusta possui amplo local de origem, tendo sido introduzido no Brasil no início do século XX no estado do Espírito Santo, sendo as primeiras sementes plantadas no município de Cachoeiro do Itapemirim.

O café robusta possui maior teor de cafeína e não apresenta sabores tão variados e refinados como o arábica, sendo mais amargo. De fato, condições climáticas quentes e úmidas contribuem negativamente para a qualidade da bebida café, uma vez que prejudicam a florescência do fruto (CAMPA et al., 2004). Mesmo sendo considerado de qualidade inferior, é empregado nas indústrias de café solúvel e é considerado um forte concorrente do café arábica por apresentar um baixo valor de mercado, sendo a segunda espécie mais cultivada no mundo (SINDICAFÉ, 2003). Estudos genéticos têm sido realizados no café robusta, como o cruzamento entre as espécies, com o objetivo de melhorar a qualidade da bebida do café robusta. De acordo com KY et al. (2000) e CAMPA et al. (2004) o aumento no teor de sacarose no grão cru de café robusta pode ser uma alternativa para melhorar a qualidade da bebida, uma vez que a diferença entre o teor de sacarose está relacionada com as diferenças organolépticas existentes entre as bebidas dos cafés arábica e robusta.

3.1.1.- A IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

A importância do café na economia mundial data do início do século XIX, sendo o produto mais comercializado mundialmente depois do petróleo, de acordo com PARRAS et al. (2007). A indústria cafeeira envolve, em média, do cultivo nas fazendas até o consumo final, 50 milhões de pessoas e gera 90 bilhões de dólares por ano (PRAXEDES et al., 2006)

A cultura cafeeira é distribuída em todos os continentes, como é ilustrado na Figura 2. Os principais países produtores concentram-se na América do Sul (Brasil e Colômbia) e Ásia (Vietnã e Indonésia), de acordo com a ABIC (2008).

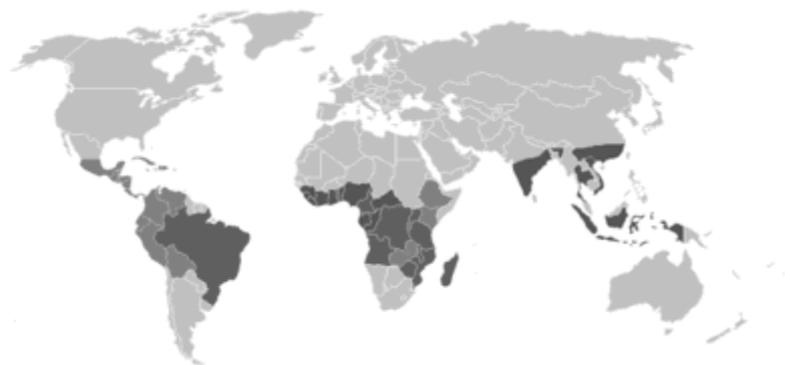


Figura 2 – **Distribuição da cultura cafeeira no mundo.**

No Brasil, o café é uma importante fonte de renda para a economia nacional, sendo que a sua cadeia produtiva é responsável por sete milhões de empregos, e as exportações brasileiras atingem a cifra de 12 bilhões de dólares por ano (SEBRAE, 2006). De acordo com CARVALHO (2008) a participação na receita cambial, a transferência de renda aos outros setores da economia, a contribuição à formação de capital no setor agrícola brasileiro, além da expressiva capacidade de absorção de mão de obra, fortalecem a cultura cafeeira como expressiva fonte de renda na economia brasileira.

Nos últimos anos, o Brasil tem ocupado a posição de maior produtor mundial de café como pode ser observado na Figura 3. De acordo com CARVALHO (2008) entre o período das safras 1992/93 a 2002/03 houve uma grande evolução da oferta mundial do café, principalmente oriundo do Brasil e Vietnã. Dados mostram que na safra 2007/2008, Brasil e Vietnã produziram o equivalente a, aproximadamente, 29% e 14%, respectivamente, da produção mundial.

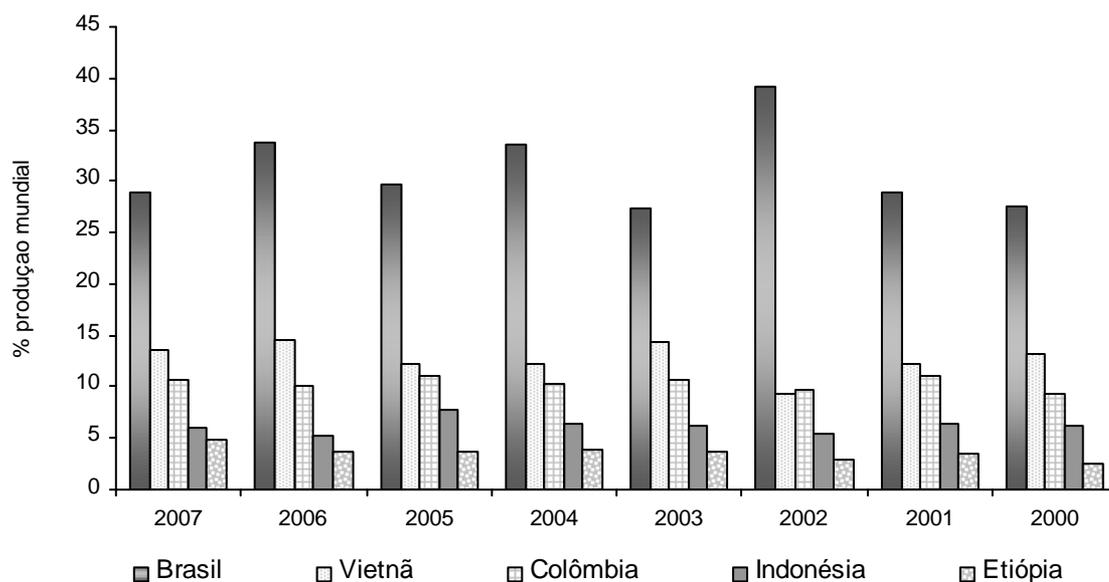


Figura 3 – Participação (%) na produção mundial de grãos de café cru
 Fonte: ABIC, 2008

Considerando a safra 2007/2008, o Brasil produziu aproximadamente 34 milhões de sacas de 60 kg de grãos de café cru, como pode ser observado na Figura 4. A produção da safra anterior foi de 42,5 milhões de sacas de 60 kg de café cru, indicando um decréscimo de 20% na produção, com a perda de 8,5 milhões de sacas. Este significativo decréscimo é consequência do ciclo bienal da produção de café arábica e ao baixo índice pluviométrico entre agosto e setembro de 2006 nas maiores regiões produtoras de café arábica (USDA, 2007). Ressalta-se que a produção de grãos robusta foi pouco afetada devido principalmente às condições climáticas estáveis e favoráveis à floração, principalmente no estado do Espírito Santo (USDA, 2007). A primeira estimativa da safra 2008/2009 é entre 41,3 a 44,2 milhões de sacas de café beneficiado, representando um crescimento de 22,4 a 30,9% quando comparado com a produção de 33,7 milhões de sacas obtidas na safra anterior (CONAB, 2008).

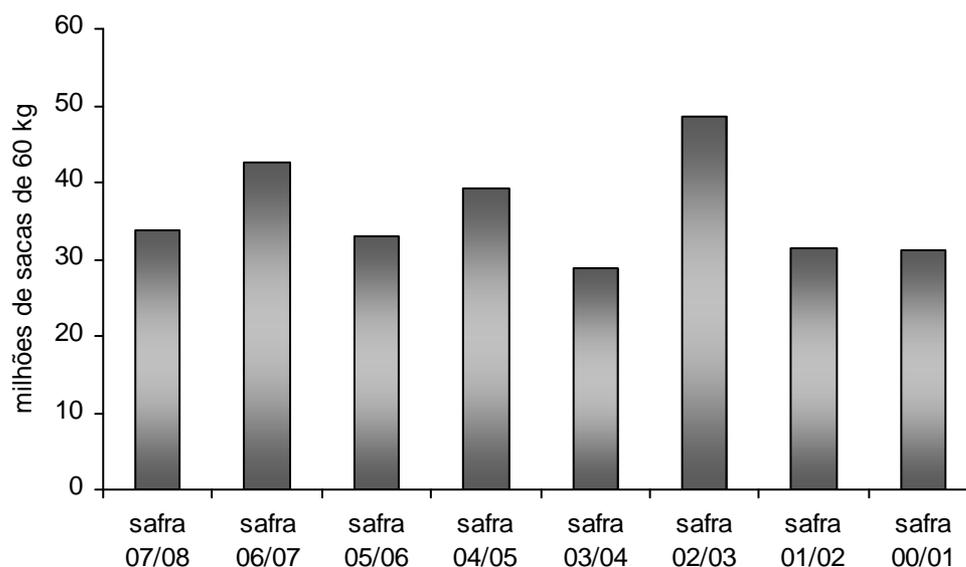


Figura 4 – Distribuição da produção de café no Brasil.

Fonte: ABIC, 2008

Considerando as duas principais espécies de café cultivadas, o Brasil é considerado o país estrategicamente mais bem situado no contexto da cafeicultura mundial, no qual há a produção em larga escala das duas principais espécies. Além disso, pela própria extensão territorial, no Brasil existem diferentes espécies e cultivares que possibilitam a obtenção de vários blends (CARVALHO, 2008). De acordo com ABIC (2008), as produções de café arábica e robusta são 70 e 30% da produção total da safra 2007/2008, respectivamente, como pode ser notado na Figura 5. Entretanto, a primeira estimativa da produção cafeeira para a safra 2008/2009 indica que a produção de café arábica representa 76% do total estimado, entre 31,5 a 33,7 milhões de sacas, sendo que este acréscimo é atribuído ao ciclo positivo da bienalidade (CONAB, 2008).

A melhor qualidade da bebida proveniente do grão de café arábica justifica a diferença na produção e consumo desta espécie de grãos de café. Ainda assim, pode ser observada a tendência de crescimento da produção de grãos da espécie robusta, apesar de serem considerados de baixa qualidade. De acordo com a ABIC (2008), 10,2 milhões de sacas de 60 kg de grãos de café robusta beneficiadas na safra 2007/2008 e 9,5 milhões na safra anterior, indicando um crescimento de 7%. De acordo com CARVALHO (2008), no período de 1992/93 a 2002/03, a produção mundial de café robusta cresceu cerca de 4,5% ao ano, enquanto a produção de arábica aumentou 2,3% ao ano. Este crescimento justifica-se pela utilização do grão robusta como aditivo nos “blends” de café mais encorpados e por ser tratar de um produto mais barato (SINDICAFÈ, 2005). De

acordo com PRAXEDES et al. (2006), 38% do café consumido no mundo é da espécie robusta. Entretanto, a primeira estimativa da CONAB (2008) para a safra 2008/2009 é uma participação de 24% do café robusta na produção total nacional, entre 9,8 e 10,5 milhões de sacas.

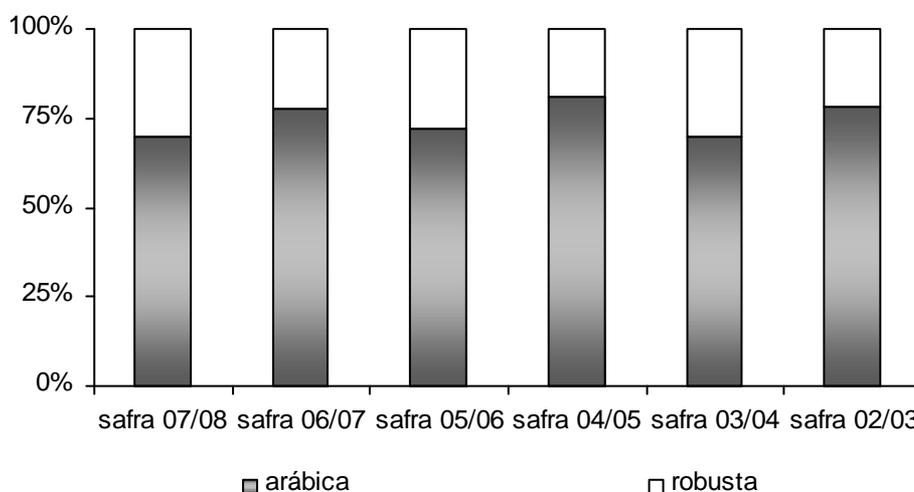
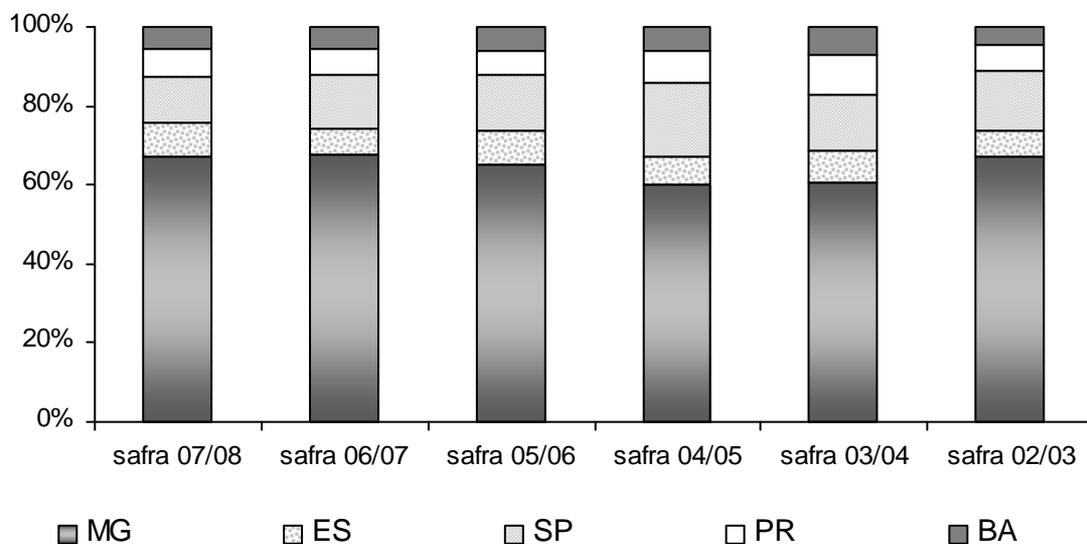


Figura 5 – Participação das espécies arábica e robusta na produção brasileira de grãos de café cru.

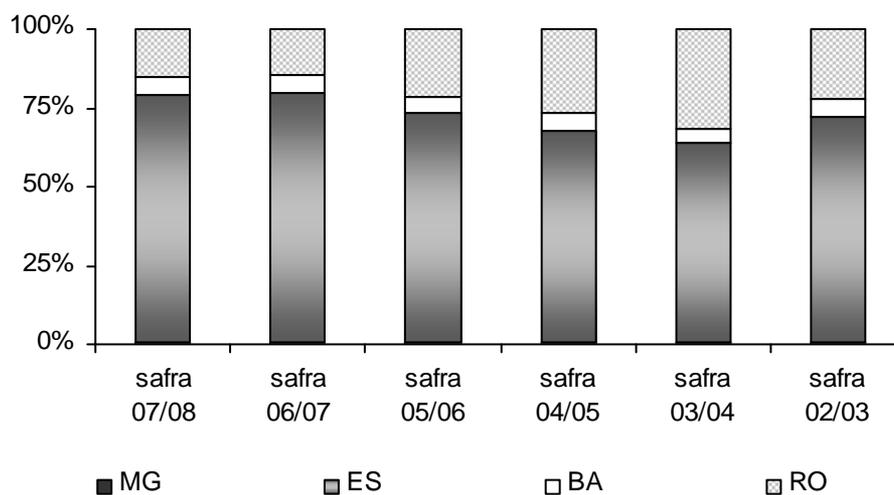
Fonte: ABIC, 2008

Em território brasileiro, o café é cultivado nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Bahia, Rondônia, Mato Grosso, Pará e Rio de Janeiro (ABIC, 2008). Minas Gerais é o maior produtor nacional de grãos de café e o estado do Espírito Santo o maior produtor brasileiro de grãos robusta. Na safra 2007/2008, o Estado de Minas Gerais foi responsável por, aproximadamente, 46% da produção nacional de café, o que representou 15,5 milhões de sacas beneficiadas (ABIC, 2008). Na primeira estimativa para a safra 2008/2009, o maior Estado produtor será Minas Gerais com 50,0 a 50,2% da produção estimada entre 20,7 a 22,0 milhões de sacas (CONAB, 2008). Considerando as duas principais espécies de grãos de café, a produção nacional de grãos de café arábica na safra 2007/2008 foi de 23,5 milhões de sacas de 60 kg de grãos beneficiados, sendo que o Estado de Minas Gerais contribuiu com 66% desta produção, como pode ser visto na Figura 6 (a). Na estimativa da safra 2008/2009, 31,5 a 33,7 milhões de sacas de grãos arábica são esperados, sendo Minas Gerais o maior estado produtor de grãos arábica com 65,6 a 65,8% desta produção. O estado de Espírito Santo contribui significativamente para a produção nacional dos grãos de café da espécie

robusta(Figura 6,b). Este estado beneficiou 74% da produção nacional de grãos de café robusta, representando 7,5 milhões de sacas produzidas na safra de 2007/2008. Para a safra 2008/2009, espera-se uma produção de 9,8 a 10,5 milhões de sacas de 60 kg, e o Estado do Espírito Santo contribuirá com 35,9% desta produção (CONAB, 2008).



(a)



(b)

Figura 6 – Participação das espécies (a) arábica e (b) robusta na produção total brasileira nos maiores estados brasileiros produtores (MG – Minas Gerais; ES – Espírito Santo, SP – São Paulo, PR – Paraná; BA – Bahia; RO – Rondônia).

Fonte: ABIC, 2008

Os dados apresentados na Figura 7 mostram que o Brasil é o maior exportador mundial de sacas de 60 kg de grãos de café cru. Em 2007, o Brasil faturou 3,9 bilhões de dólares com a exportação de 28,01 milhões de sacas de 60 kg de café cru, o que equivale a 29,37% de todo o café cru exportado no mundo (ABIC, 2008). O segundo país que mais exporta café após o Brasil é o Vietnã, que responde por 16,89 % das exportações mundiais em 2007, seguido da Colômbia com 11,37% do mercado exportador, como pode ser visto na Figura 7. A Alemanha é o país que mais compra café cru brasileiro (em grãos), seguida dos Estados Unidos e Itália (CONAB, 2006).

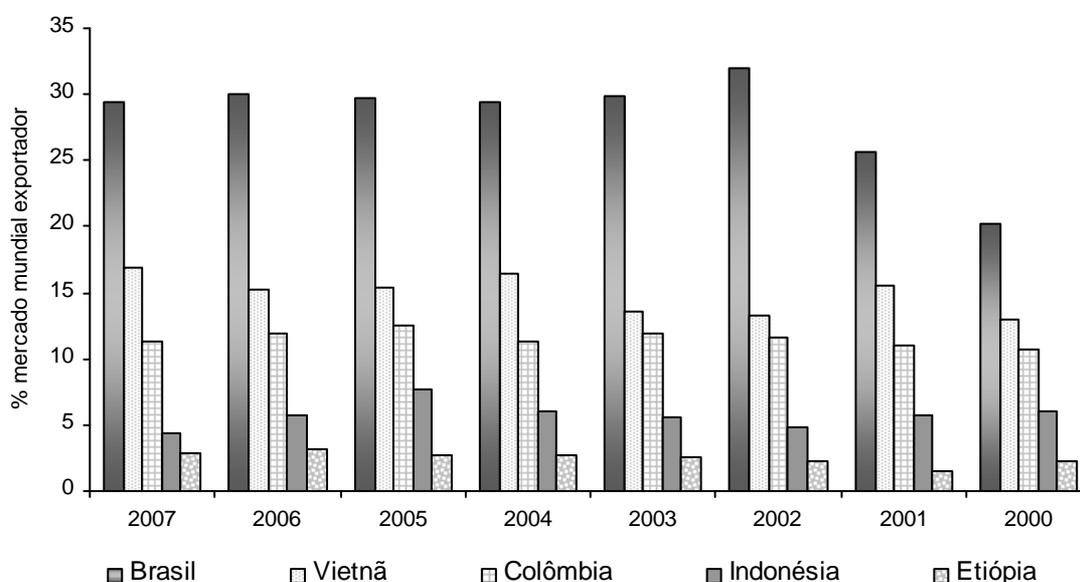


Figura 7 – **Participação (%) brasileira no mercado exportador mundial de grãos de café cru.**

Fonte: ABIC, 2008

Apesar de ser o maior produtor mundial, o Brasil vem perdendo parte do mercado externo. Esta perda foi de 2,7% no período entre 2002/07, sendo que nos dois últimos anos foi de 0,6% (ABIC, 2008). A falta de manutenção de um padrão de qualidade do produto nacional é a principal causa desta perda. De acordo com SILVA (1999) a qualidade é determinante do preço e fator imprescindível para a aceitação do café no comércio internacional, sendo que a exigência de um café de qualidade (cafés especiais, tipo gourmet), imposta pelo mercado externo é uma realidade nas relações comerciais internacionais.

A falta de qualidade do café brasileiro está associada à insistência por parte das torrefadoras na utilização de grãos defeituosos em seus “blends”. Dentre os grãos defeituosos, destacam-se os grãos de café defeituosos preto e ardido escuro que estão associados ao processo fermentativo ocorrido no grão, e os grãos verdes que são oriundos da colheita de frutos imaturos. A ocorrência dos grãos defeituosos é inerente à cadeia produtiva cafeeira, implicando em custos para o produtor, que se vê obrigado, por razões financeiras, a reaproveitar os grãos defeituosos rejeitados pelo mercado externo no mercado interno. Desta forma, os grãos defeituosos são torrados juntamente com os sadios, depreciando a qualidade final da bebida. Os grãos defeituosos representam, atualmente, em torno de 20% (OLIVEIRA et al., 2006) do total de café produzido no Estado de Minas Gerais, que é responsável por aproximadamente 50% da produção nacional considerando a primeira estimativa para a safra 2008/2009 (CONAB, 2008). De acordo com RAMALAKSHIMI et al. (2007) esta estimativa pode ser considerada para todas as regiões produtoras. Entretanto, há uma tendência cada vez maior de redução do mercado para cafés de baixa qualidade, obrigando o produtor brasileiro a especializar-se, adotando modernas tecnologias para a produção de cafés de qualidade superior. De acordo com a ABIC (2008) o consumo de cafés tipo gourmet está crescendo, principalmente na classe social A, influenciado pelo consumo fora do lar, em cafeterias e casas de café.

Para melhorar a qualidade do café consumido no Brasil, a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC), através do Programa de Qualidade do Café, pretende estimular os produtores a não apenas apresentar um produto melhor, mas também, assegurar esta qualidade ao longo do tempo e garantir a repetibilidade deste padrão de qualidade em todos os lotes produzidos (ABIC, 2008). Entretanto, o selo de pureza instituído pela ABIC garante o café com até 1% de impurezas, mas não há ainda um controle efetivo sobre a qualidade do produto final.

Além da influência benéfica sobre a qualidade do café consumido internamente no Brasil, a retirada dos grãos de café defeituosos do mercado interno tem sido proposta como forma de regular a oferta do produto, permitindo, desta forma, a redução de estoques excedentes e a regularização de preços do produto (OLIVEIRA et al., 2006). No entanto, ao abandonar o emprego de misturas com grãos defeituosos, em favor de um produto de melhor qualidade, as torrefadoras estarão deixando de comprar dos produtores e cooperativas todo o volume de grãos defeituosos, para os quais ainda não se encontrou uma forma alternativa de utilização rentável aos produtores. Desta forma, fazem-se necessários investimentos tecnológicos e em estudos científicos para se propor

alternativas viáveis e rentáveis de utilização dos grãos de café defeituosos. Esforços têm sido realizados com este objetivo (MENDONÇA et al., 2003; FRANCA et al., 2005a,b; OLIVEIRA et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2007; MANCHA AGRESTI et al., 2008).

3.1.2 - O BENEFICIAMENTO DO GRÃO DE CAFÉ

3.1.2.1 - O Pré-processamento

O café é um produto agrícola que exige um cuidado todo especial no seu beneficiamento, para que sejam preservadas as suas características organolépticas associadas à qualidade da bebida. A escolha genética dos cultivares é o primeiro passo para a garantia da qualidade da bebida, seguido da seleção do sistema de manejo adequado, que inclui métodos de colheita (derrça ou por escolha), pré-processamento dos frutos (seco ou úmido), secagem e armazenamento.

O café é cultivado em vários continentes entre os dois paralelos tropicais, nas condições climáticas e geográficas características das regiões de cultivo e diferenciadas entre si, exigindo vários estilos diferentes de manejo. Entende-se que o sistema de manejo adequado deve ser caracterizado por um método de colheita e pré-processamento dos frutos bem conduzidos, seguidos de secagem ideal e armazenamento racional (SINDICAFÉ, 2003). A escolha do método de pré-processamento do grão de café cru é dependente da espécie cultivada e das condições e recursos de cada região produtora, estando associada à qualidade final da bebida (GONZALÉZ-RIOS et al., 2007a).

A qualidade final da bebida inicia-se com a escolha do cultivar, que é dependente das condições climáticas. Os grãos de café arábica possuem faixa ideal de crescimento entre 19 °C e 22 °C, enquanto os grãos robusta crescem melhor em temperaturas entre 22 °C e 26 °C (SINDICAFÉ, 2003). Entretanto, mesmo em regiões adequadas ao plantio de café, dado que a cultura é perene, a qualidade final do café está susceptível às condições adversas do clima, como elevadas precipitações, alterações drásticas na temperatura ou na umidade relativa do ar, que podem provocar maturações desuniformes, resultando na presença de frutos ainda verdes. Estes frutos imaturos depreciam a qualidade final da bebida, levando à perda de qualidade antes mesmo do início da colheita. Então, é evidente a importância de se estabelecer um estágio ideal de maturação fisiológica para cada colheita.

A colheita do café é considerada a etapa mais dispendiosa de todo o sistema produtivo da cultura, e uma das etapas que mais influenciam a qualidade e, conseqüentemente, o preço do produto final. Aproximadamente, 30% do custo total e cerca de 40% da mão-de-obra empregada na lavoura cafeeira correspondem, em média, à etapa da colheita do café. Ressalta-se que a forma como é realizada a colheita influencia na safra do ano seguinte. O cafeeiro pode ser desfolhado em demasia, dependendo do método de colheita empregado, deslocando nutrientes para a produção de folhas e ramos, em detrimento de flores e frutos (CARVALHO JUNIOR et al., 2001), caracterizando a binualidade da cultura cafeeira.

No Brasil, o período de colheita se inicia em abril ou maio e termina em agosto ou setembro, dependendo da região produtora, da quantidade de café existente na planta e da quantidade de frutos maduros. O ideal é que só grãos cereja sejam colhidos, já que grãos defeituosos (verdes e sobremaduros) depreciam a qualidade final da bebida. A ocorrência de grãos defeituosos na lavoura também está diretamente associada ao tempo que o café permaneceu na lavoura após a maturação, seja no cafeeiro ou no chão. Desta forma, a decisão de quando iniciar a colheita é determinante na qualidade do produto final, já que todos os frutos da árvore são colhidos ao mesmo tempo. A colheita inicia-se quando a maior parte (cerca de 90%) dos frutos estiver madura e antes que os frutos comecem a cair (SILVA, 1999). Em safras de maturação muito desuniforme, toleram-se teores de até 20% de grãos verdes, quando o ideal é no máximo 5%, prejudicando a qualidade da bebida e conseqüentemente a lucratividade do cafeicultor (VILELA e PEREIRA, 1998). Em média, o ponto ideal para interromper a colheita ocorre sete meses após a primeira floração, que normalmente ocorre durante as primeiras chuvas de verão, em meados de outubro e novembro do ano anterior. Entretanto, a realidade da cafeicultura brasileira é outra. A maioria dos cafeicultores inicia a colheita com uma proporção de grãos maduro muito menor, prejudicando a qualidade final da bebida, para evitar a concentração de mão-de-obra num breve período do ano.

As operações envolvidas na colheita do café são: (i) limpeza da área ao redor e sob a planta, arruação; (ii) retirada do fruto da planta, derrixa; (iii) ajuntamento do café caído no chão, varrição; (iv) recolhimento do café varrido; (v) limpeza por meio de peneiramento para a separação de terra e folhas, abanação; e (vi) transporte para a área de processamento. Todas estas operações, com exceção do transporte, podem ser realizadas manualmente ou com uso de máquinas apropriadamente desenvolvidas. Neste último caso, o sistema pode ser semi-mecanizado ou mecanizado. Entretanto, estes últimos sistemas de colheita não dispensam totalmente a colheita manual, pois as

máquinas não conseguem colher todos os frutos do cafeeiro. A tendência é a expansão do sistema semi-mecanizado, com o emprego equilibrado de mão-de-obra e máquinas (SILVA, 2001).

A colheita manual dos grãos de café, também chamada de *derrixa*, é o sistema de colheita mais utilizado no Brasil. Este sistema consiste em deslizar as mãos fechadas sobre os galhos do cafeeiro, arrancando com as mãos todos os frutos, deixando o galho completamente limpo. Os frutos caem sobre o chão ou, preferencialmente, sobre um pano, que protege os frutos do contato com o solo. O café *derrixado* no chão está sujeito a maiores riscos de contaminação e conseqüente fermentação devido ao contato com microrganismos do solo. Entretanto, poderá, mesmo assim, originar um produto com a mesma qualidade daquele *derrixado* no pano. Essa qualidade depende do tempo de exposição dos grãos ao solo, que deverá ser mínimo, e da eficaz seleção destes grãos daqueles que se já se encontram em estágio de decomposição (BÁRTHOLO et al. 1989; SILVA, 1999; SINDICAFÉ, 2003).

Alternativamente, os frutos podem ser retirados a dedo individualmente do cafeeiro. Esta colheita manual recebe o nome de *catação*, na qual cada fruto é selecionado ainda no cafeeiro, evitando a presença de grãos defeituosos no café colhido, agregando qualidade e lucratividade ao cultivo. O custo elevado, o planejamento da colheita e exigência de numerosa mão de obra são as desvantagens da *catação* dos grãos de café. A Colômbia é um produtor de café que adotada este tipo de colheita manual.

Após a *derrixa*, os frutos são recolhidos e submetidos ao processo de separação das impurezas por peneiramento manual (*abanação*), ventilação forçada ou ainda separadores de ar e peneira. Este procedimento é geralmente utilizado quando o processamento do café é realizado por via seca (SILVA, 1999). Por fim, os grãos são transportados ao local do processamento.

Para o processamento por via úmida, efetua-se a lavagem do café para eliminar sujeiras que não saem totalmente com a *abanação*, antes do transporte ao local de processamento. Com a lavagem, também são eliminados cafés de qualidade inferior, conhecidos por "*bóia*". Após a lavagem, os grãos são separados de acordo com o teor de umidade. Este procedimento é realizado para que, após a separação do café em lotes homogêneos, ocorra a uniformidade da secagem (O CAFEZAL, 2004).

No final do século XX, a colheita mecanizada foi introduzida na lavoura cafeeira. Existem diversos modelos destinados à colheita do café como as *derrixadoras* portáteis motorizadas, que possuem motor costal ou lateral e que acionam hastes vibratórias manejadas manualmente. A vibração das hastes balança os galhos, fazendo com que os

frutos caíam. Esta derrçadora tende a deixar mais frutos verdes no pé do que a colheita manual, já que os frutos verdes são mais difíceis de ser arrancados. Acredita-se que este tipo de colheita favoreça a qualidade do café, já que tende a ser seletiva para frutos cereja e secos. Entretanto, apresenta a desvantagem de quebrar mais galhos e a tendência de desfolhar mais o cafeeiro do que o sistema manual, o que pode prejudicar a colheita do ano seguinte (CARVALHO JUNIOR, 2002).

Em se tratando do sistema mecanizado, existem colhedoras conjugadas ou automotrizes que derrçam, recolhem, abanam e ensacam o café colhido numa única operação. Este tipo de máquina tem o formato de um pórtico com dois derrçadores laterais, trabalhando 'a cavaleiro' sobre uma linha de plantas por vez (CARVALHO JUNIOR, 2002). No entanto, é inadequado para lavouras em regiões montanhosas, já que as linhas de cafeeiros se dispõem em curvas de nível sobre os morros.

Durante a colheita, mecanizada ou manual, os grãos podem ser contaminados de diversas formas. A vibração das varetas das derrçadoras costais e a pressão manual excessiva sobre os frutos, contra os outros ou contra o ramo, pode abrir pequenos orifícios que expõem a polpa do fruto. Com a injúria, o contato do grão com o solo, com mãos dos lavradores, equipamentos ou mesmo com outros frutos já contaminados pode levar microrganismos ao seu interior, o que contribui negativamente para a qualidade da bebida final. Outras fontes de contaminação são a prensagens do grão com o pé dos trabalhadores, principalmente se a colheita não for feita sobre o pano e a qualidade da água de lavagem dos grãos.

O pré-processamento é considerado a fase mais crítica na obtenção de um café de boa qualidade, sendo que o fruto deve ser processado imediatamente após a colheita, para prevenir perdas organolépticas. Existem dois tipos de processamento: por via úmida, café despulpado ou cereja descascado, e por via seca, café natural, como pode ser observado no esquema apresentado na Figura 8. O processamento a seco, geralmente utilizado no beneficiamento dos grãos da espécie robusta, é tecnologicamente mais simples do que o processamento por via úmida, que normalmente é utilizado nos grãos arábica (GONZALÉS-RIOS et al., 2007a). Independentemente do método, pele, polpa, mucilagem, pergaminho, película prateada e água devem ser removidos antes da estocagem e torrefação dos grãos, sendo que cada processamento é específico de cada região produtora. O objetivo comum destes dois tipos de processamento é reduzir a umidade de 65% do fruto para 10 a 12% no grão cru (CLARKE, 1987a).



FIGURA 8: Fluxograma das etapas de processamento do café a seco e a úmido.

Fonte: adaptado de MATIELLO (1999).

O processamento por via úmida dá origem aos cafés lavados ou despolpados, comuns na América central, México, Colômbia e África. Segundo BÁRTHOLO E GUIMARÃES (1997), este tipo de processamento origina invariavelmente bebidas suaves, quando bem executado, independentemente da região de produção. No Brasil, o processamento por via úmida é utilizado para a obtenção de um café destinado ao mercado externo (VINCENT, 1987; BÁRTHOLO et al., 1989; SILVA, 1999).

De acordo com VICENT (1987) o processamento por via úmida requer equipamentos para todas estas operações, alto suprimento de água potável e técnica de colheita que seleciona somente os frutos maduros. Ainda, para ser efetivo, os equipamentos têm que ser alimentados com frutos na textura correspondente à do fruto de café maduro (MONTAVON et al., 2003). Comparando com o processamento por via seca, o por via úmida exige mais estágios e conseqüentemente possui mais variáveis a serem controladas.

No processamento por via úmida, o café colhido é inicialmente despolpado. A retirada da casca do fruto maduro por meio de um descascador mecânico, com posterior fermentação da mucilagem e lavagem dos grãos é o despolpamento do café. Durante a lavagem em série em tanques de concreto, o café é separado, por densidade, em duas frações: (i) fração cereja, mais pesada, ficando no fundo do lavador; e (ii) fração bóia, mais leve. Depois de separadas, estas frações são processadas separadamente, pois apresentam tempos de secagem diferentes.

Os grãos de café lavados são imersos em água, para fermentação, por um período de 12 até 72 horas, dependendo da altitude e variedade do café. De acordo com GONZALÉZ-RIOS et al. (2007a) esta fermentação 'controlada' é responsável pela formação do flavor do café com a produção através de microrganismos de compostos voláteis e metabólitos precursores dos compostos voláteis formados durante a torrefação do grão.

A fermentação é chamada pelos cafeicultores de demucilação ou degomagem, pois o objetivo desta fase é a dissolução da mucilagem que envolve os grãos por microrganismos. A demucilação também pode ser feita com o uso de enzimas ou álcalis, sendo que há a possibilidade de fermentação excessiva nesta etapa do processamento, depreciando a qualidade da bebida. Então, a demucilagem é a fase mais crítica do processamento via úmida (PUERTA QUINTERO, 1999). Com o término da fermentação, os grãos de café são lavados, até que não restem vestígios de mucilagem (BÁRTHOLO et al., 1989). Seqüencialmente, os grãos são colocados para secar em terreiros ou em secadores mecânicos, da mesma forma que o café natural (CLARKE, 1987a).

Embora o Brasil seja conhecido como produtor de café obtido por via seca, existem boas condições para a produção de cafés despulpados, principalmente nas regiões montanhosas, onde predomina o trabalho familiar e há abundância de água. O café despulpado tem a vantagem de diminuir, de forma considerável, a área do terreiro e o tempo de secagem, já que possuem uniformidade e baixo teor de água (em torno de 50%) quando comparados com a secagem com o fruto integral. Pode-se ainda obter o café simplesmente descascado, que se diferencia do despulpado por não passar pela fase de fermentação.

De fato, o processamento por via úmida consome grande quantidade de água potável, sendo uma fonte de poluição nos países em que é utilizado (GONZALES-RIOS et al. (2007a,b). Alternativamente, os produtores têm aumentado via utilização dos processos ditos ecológicos. Estes processos utilizam menos água quando comparado ao processamento por via úmida convencional. A mucilagem e a polpa são removidas mecanicamente. Mas, a vantagem ecológica, redução no consumo de água e descarte de águas residuais, não favorece a produção de bebidas de qualidade. Em seus estudos, GONZALES-RIOS et al.(2007a,b) mostraram que a redução da quantidade de água utilizada no processamento via úmida diminuiu a qualidade do aroma do café cru e torrado. A remoção da mucilagem em água favorece o flavor de frutas, flores e caramelo nos grãos de café torrados, enquanto a remoção seca da mucilagem originou grãos de café torrado sem flavor característico (GONZALES-RIOS et al., 2007b). Estes

pesquisadores reportaram também que o perfil dos compostos voláteis no grão torrado pode ser dependente do pré-processamento após a colheita e da intensidade do processo de torrefação utilizada.

No processamento por via seca, o fruto é colocado inteiro para secar em terreiro ou secador mecânico. Ocorre a fermentação do grão durante a secagem. Efetua-se a retirada (não manual) de detritos e impurezas que injuriam os grãos e podem reduzir a vida útil dos equipamentos, no caso da utilização de secadores e beneficiadores. De acordo com MONTAVON et al. (2003) os grãos de café processados por via seca são mais claros devido à presença de película prateada que não foi removida.

O processo de secagem do café no terreiro é lento, 6 a 8 meses para os grãos arábica e 9 a 11 meses para os robusta, resultado da existência de grãos de café em diferentes estádios de maturação (MONTAVON et al., 2003). Este processamento consome mais espaço do que o exigido pelo processo via úmida, e é mais barato, uma vez que não há gastos com equipamentos. Entretanto, este processo exige uma área plana bem ventilada e com boa incidência solar. O café colhido deve ser espalhado em camadas de 3 a 5 cm e revolvido por, pelo menos, 8 vezes ao dia. No final da tarde, o café é amontoado em leiras ou montes e coberto com lona para impedir que o orvalho o reumedeca. O café processado desta maneira leva entre 15 a 30 dias para chegar ao teor de umidade médio do grão seco, dependendo das condições climáticas da fazenda de processamento. Outra desvantagem é o difícil controle do processo de secagem, já que chuvas e temperaturas altas podem incidir sobre o café, criando condições para que as fermentações se prolonguem, depreciando a qualidade da bebida.

O método de secagem artificial permite o controle da temperatura e redução do tempo de processamento. A temperatura geralmente utilizada é de 55 °C (VINCENT, 1987) e vários equipamentos com sistemas distintos de operação podem ser utilizados, tais como secadores horizontais rotativos intermitentes e secadores verticais com câmaras de repouso (BÁRTHOLO et al., 1989). Alternativamente, a etapa de secagem também pode ser realizada num sistema misto, que se inicia no terreiro e se completa no secador ou silos secadores com ar natural ou levemente aquecido (10 °C acima da temperatura ambiente) (SILVA, 1999). As vantagens da secagem combinada são a diminuição do tempo de secagem e o melhor controle das condições de secagem do grão, proporcionando melhor qualidade da bebida final. Após a secagem do café, o mesmo é armazenado antes do beneficiamento para que os grãos igualem seu teor de umidade, pois o teor de umidade dos grãos deve estar entre 11 e 12%.

Independentemente do tipo de processamento do café, o café em coco (obtido por via seca) ou em pergaminho (obtido por via úmida), é então beneficiado para a venda. Geralmente, o beneficiamento do café ocorre próximo à época de comercialização, podendo ser entendido como o conjunto de operações que separam o grão de café da polpa seca. Primeiramente, por fricção, o pergaminho é separado da semente (limpeza), seguido da separação das membranas (descascamento) e por aspiração a poeira é toda retirada dos grãos de café (ventilação) (SINDICAFÉ, 2003). Após o beneficiamento os grãos de café são acondicionados em sacas de 60 kg para a comercialização.

3.1.2.2 – A torrefação dos grãos de café

O grão de café cru não possui as características sensoriais do café torrado, sendo a infusão aquosa destes grãos desagradável ao paladar. O aquecimento em condições operacionais controladas dos grãos crus promove as alterações desejadas na composição química do grão cru, tornando-o capaz de produzir a bebida com o flavor característico do café. Entretanto a conversão do grão de café em bebida para consumo exige, além da torrefação dos grãos crus, a moagem, necessária para aumentar a superfície de contato e facilitar a extração dos sólidos solúveis e das substâncias voláteis durante a infusão, e a extração, realizada com água quente, resultando na bebida pronta para o consumo (CLARKE, 1987b).

O aquecimento controlado dos grãos de café é chamado de torrefação. Dependendo da temperatura e do processo de torrefação empregados, a torração pode durar entre 90 segundos até 40 minutos, sendo que tradicionalmente dura 12 minutos (ILLY, 2002). Um processo de torrefação rápido exige rápida transferência de energia térmica, minimizando a perda de massa do grão de café, mas conferindo um sabor amargo-metálico devido à presença de polifenóis que não tiveram tempo suficiente para reagir (ILLY, 2002). Torrefações longas freqüentemente estão associadas aos cafés de baixa qualidade, nos quais é comum a ocorrência de grãos defeituosos.

A torrefação dos grãos de café pode ser entendida como uma série de alterações físicas e químicas, reações de pirólise, em que os compostos são degradados, em função de suas estabilidades térmicas relativas e do aquecimento imposto aos grãos. É a etapa mais importante do processamento do grão de café, produzindo vários compostos responsáveis pelo aroma e sabor característico do grão de café torrado (De MARIA et al.,

1994; DE MARIA et al., 1996; REDGWELL et al., 2002a; OOSTERVELD et al., 2003a; HERNANDEZ et al., 2007).

A torrefação dos grãos de café pode ser dividida em três fases: secagem, pirólise e resfriamento. A secagem constitui a primeira fase e é caracterizada pela liberação de água e compostos voláteis presentes no grão cru, que atinge temperaturas abaixo de 160 °C (HERNANDEZ et al., 2007). Nesta fase os grãos mudam de cor: esverdeado para amarelo. A taxa de perda de massa é suave (BORGES et al., 2004a). O tempo de duração dessa fase pode ser de 5 minutos até uma hora e, independentemente desse tempo, é a fase mais lenta do processo (SIVETZ & DESROSIER, 1979).

A segunda fase, a torrefação dos grãos propriamente dita, caracteriza-se pelas reações de pirólise que iniciam a 190 °C e promovem uma grande modificação na composição química dos grãos, com grande liberação de gás carbônico e compostos voláteis responsáveis pelo flavor característico do grão torrado (BORGES et al., 2004a; HERNANDEZ et al., 2007).

Nesta fase, os grãos escurecem, devido à caramelização dos açúcares e a reação destes compostos com os aminoácidos, peptídeos e proteínas, via reação de Maillard. Os produtos são escuros e com sabor doce-amargo, como as glicosilaminas e melanoidinas (ILLY, 2002), acentuando o sabor característico do café torrado. A formação de melanoidinas durante a torrefação do café tem sido associada à diversidade de compostos químicos presentes no grão de café cru como a sacarose (depois da inversão), polissacarídeos (galactomananos e arabinogalactanos), aminoácidos, proteínas e ácidos clorogênicos (NUNES E COIMBRA, 2007). Estes autores também reportaram que toda esta diversidade pode aumentar a complexidade química e a heterogeneidade das melanoidinas presentes no grão de café torrado e que a natureza destes compostos na bebida é também dependente das solubilidades em água e extratibilidade das melanoidinas.

Compostos antioxidantes também são provavelmente formados via reação de Maillard (YANAGIMOTO et al., 2004) durante a torrefação do grão. Estes compostos são os responsáveis pelos efeitos anti oxidativos benéficos à saúde humana. DAGLIA et al (2000) mostraram que frações de alto peso molecular extraídas do café torrado contêm certa quantidade de antioxidantes.

A temperatura varia de 160 a 260 °C (FELDMAN et al., 1969; HERNANDEZ et al., 2007) e, ao final, os grãos têm seu volume duplicado devido ao aumento significativo da pressão no interior do grão, em função da produção e expansão de gás carbônico. Este gás é formado como produto das muitas reações químicas que acontecem na torrefação

dos grãos de café, incluindo a degradação de Strecker, pirólise dos açúcares e as reações de Maillard. Naturalmente, o gás carbônico tenta emergir do grão, mas é mantido por membranas celulares espessas de baixa porosidade e uma película de óleo (ILLY, 2002). Assim, difunde lentamente mesmo após o término da torrefação do grão e o processo de moagem. Entretanto, algumas células se rompem produzindo o som característico da torrefação dos grãos de café, com simultânea perda de massa e conseqüente decréscimo na massa específica do grão de café. Ressalta-se que também são formados inúmeros compostos voláteis que caracterizam o flavor do café torrado, mas, ainda assim, 87% dos gases gerados no grão de café durante o processo de torrefação é dióxido de carbono (CLARKE e MACRAE, 1985).

BORGES et al. (2004a) observaram que o comportamento qualitativo do volume durante o processo de torrefação foi o mesmo para os cinco tipos de bebida analisados, mas a taxa de aumento do volume dos grãos da amostra de café de melhor qualidade é aproximadamente o dobro em relação ao café de qualidade de bebida inferior. Estes resultados podem estar associados à menor porosidade dos grãos de pior qualidade (FRANCA et al., 2005a) e a presença de grãos defeituosos (FARAH et al., 2006), de menor volume (MENDONÇA et al., 2003; FRANCA et al., 2005b) no café de pior qualidade.

Após os grãos de café alcançarem a cor desejada, devem ser retirados do contato com os gases quentes e imediatamente resfriados, caracterizando a terceira fase do processamento (SIVETZ & DESROSIER, 1979). O resfriamento imediato dos grãos é necessário para interromper as reações de oxidação, redução, hidrólise, polimerização e evitar a carbonização dos mesmos, uma vez que é consenso na literatura que um grau de torrefação excessivo altera a qualidade do produto final (SIVETZ e DESROSIER, 1979; RAEMY, 1981; RAEMY e LAMBELET, 1982; NAGARAJU et al., 1997; ILLY e VIANI, 1995). Este resfriamento pode ser efetuado por meio de injeção de ar frio ou aspensão de água. Considerando a aspensão de água, esta deve ser controlada para evitar um reumedecimento indesejável dos grãos. O reumedecimento dos grãos pode ser desejável, em alguns casos, para proporcionar uma maior uniformidade das partículas após a moagem dos grãos torrados.

A produção de dióxido de carbono durante o processo de torrefação é dependente do tipo de grão de café, das condições do processamento e exerce influência na qualidade final do café torrado. De acordo com ILLY e VIANI (1995) 360 horas são necessárias para uma difusão quase que completa do gás carbônico a partir de grãos de café torrados e moídos, e 2400 horas são necessárias para essa difusão a partir de grãos

torrados inteiros, sendo que durante esse tempo o café pode perder qualidade. CARDELLI e LABUZA (2001) reportaram uma perda de 10% no tempo de vida de prateleira para cada 24 horas que o café torrado permanece exposto às condições ambientes. Em contrapartida, se o café é empacotado antes de alcançar a temperatura adequada, a difusão permanente do dióxido de carbono pode provocar danos na embalagem, o que tem provocado uma procura por embalagens revestidas por filmes flexíveis.

A torrefação dos grãos de café é normalmente realizada sob condições atmosféricas. As fontes térmicas são, principalmente, os gases liberados e o excesso de ar (calor por convecção), embora a transferência de calor também possa ocorrer por condução (contato com superfície de metal) ou por radiação (CLARKE, 1987b).

O desenvolvimento do aroma e sabor do café torrado é associado ao seu grau de torrefação, que influencia a extensão das alterações químicas e, conseqüentemente, o aroma e sabor do café, sendo determinado pela preferência dos consumidores. Geralmente, nos países do norte Europeu os consumidores preferem a torra clara, na América a preferência é pela torra média e nos países do sul da Europa a torra escura é preferencialmente adotada (MONTILLA et al., 2006). Segundo SMITH (1986), o grau de torrefação não afeta somente a cor do grão, mas também tem influência marcante no sabor e na bebida. O café submetido a uma torrefação leve é caracterizado por alta acidez, baixo corpo e desenvolvimento de aroma e sabor insuficiente. À medida que se aumenta o grau de torrefação a acidez diminui, a bebida torna-se mais encorpada e tanto o aroma quanto o sabor tornam-se mais evidentes, até ao ponto caracterizado pelo gosto amargo. O grau de torrefação pode ser medido pela cor dos grãos torrados e pela perda de massa que ocorre durante o processo.

A cor do grão de café pode ser obtida utilizando o sistema CIE $L^*a^*b^*$, que tem sido mundialmente utilizado para medições de cor em geral (BERBERICH et al., 2002). Este sistema emprega as seguintes coordenadas espaciais no sistema cartesiano: (i) L^* ou luminosidade, relacionada ao grau de escurecimento do material, variando de 0 (preto) a 100 (branco); (ii) a^* , eixo verde-vermelho; e (iii) b^* , eixo azul-amarelo. Uma representação esquemática do sistema CIE $L^*a^*b^*$ é apresentada na Figura 9.

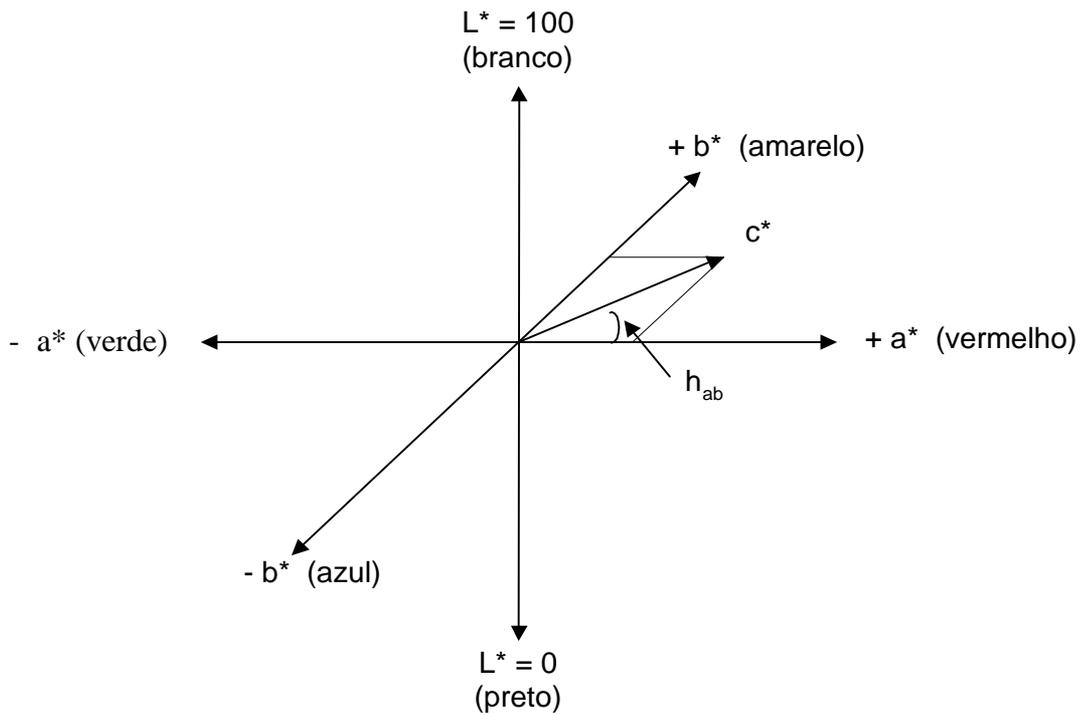


FIGURA 9: Representação esquemática do sistema CIE L*a*b*.

Fonte: BORGES et al. (2002).

A utilização de coordenadas polares permite uma interpretação mais adequada de variações de coloração, sendo que não é indicada uma associação direta dos parâmetros a^* e b^* às intensidades de cores vermelho/verde e amarelo/azul, respectivamente. As coordenadas polares do sistema CIE L*a*b* são: (i) L^* ou luminosidade; (ii) c^* ou croma, que fornece uma medida da intensidade ou saturação da cor; e H_{ab} , que corresponde à tonalidade (BORGES et al., 2002). O significado de L^* , c^* , e h_{ab} está representado na Figura 10.

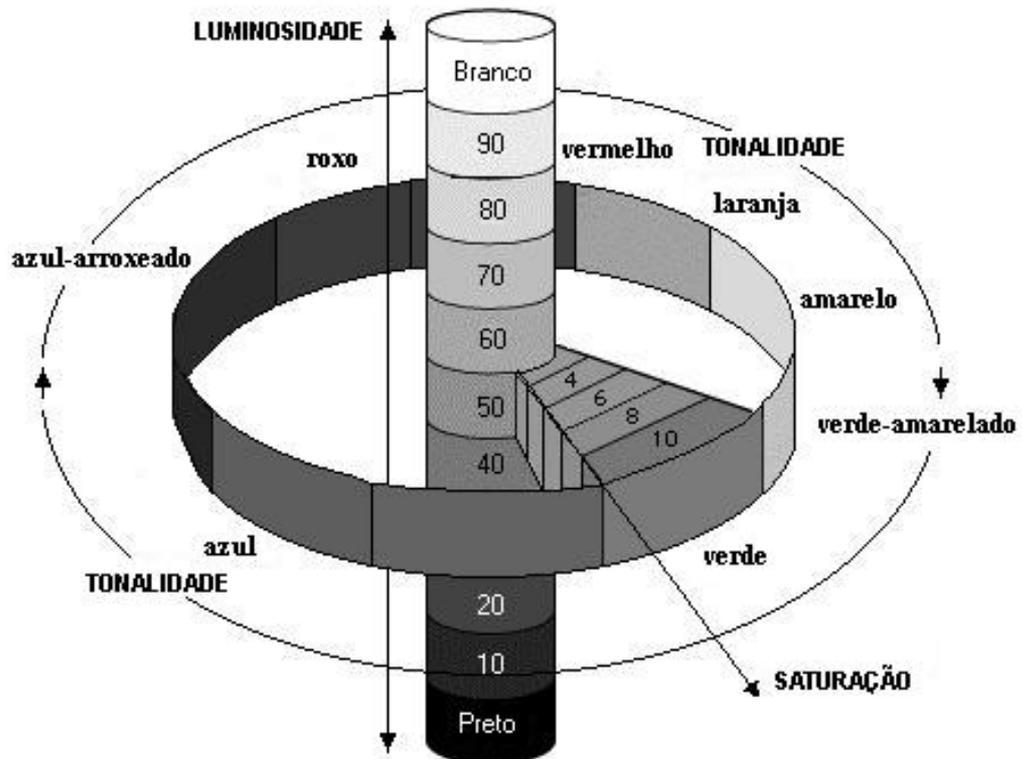


FIGURA 10: Coordenadas polares (L^* , c^* e H_{ab}) do sistema CIE $L^*a^*b^*$.

Fonte: adaptado de CHEUNG-BAKER, (2005)

Apesar de ser um dos parâmetros que indicam o grau de torrefação de um grão, a determinação do grau de torrefação pela análise da cor do grão torrado pode ser inadequada, uma vez que grãos com diferentes composições químicas e conseqüentes aromas diferentes podem apresentar mesma cor ou reflectância (DUTRA et al., 2001).

A perda de massa é conseqüência da perda de umidade e de uma fração de material orgânico volátil durante o aquecimento dos grãos. Na Tabela 1, são relacionados valores típicos de perda de massa ao grau de torrefação.

Tabela 1 – **Perda de massa (%) para diferentes graus de torrefação**

Grau de torrefação	Perda de Massa (%)
Claro	1 – 5
Médio	5 – 8
Escuro	8 – 12
Muito Escuro	> 12

Fonte: CLARKE (1987b)

3.2 – A qualidade do café

GIALLULY (1959) resumiu a qualidade do café como todas as características intrínsecas do grão, que determinam o grau de aceitabilidade do produto numa dada escala comparativa estabelecida pelo mercado consumidor. A qualidade da bebida café é normalmente determinada considerando o tamanho e a cor do grão de café, os métodos de colheita, processamento e estocagem, a safra, a qualidade da bebida e a presença de grãos defeituosos (BANKS et al., 1999). O resultado somatório dos atributos físicos do grão cru como cor, tamanho, densidade, forma e uniformidade; dos atributos dos grãos torrados, destacando-se a homogeneidade na cor, e cor da película prateada, e das características organolépticas da bebida, expressas pelo gosto e aroma foi a definição de qualidade do café publicado por PRETE (1992). Ressalta-se que na comercialização do café, a qualidade da bebida tem maior peso que os outros atributos, podendo haver uma diferença em torno de 30% no preço dos cafés de melhor e de pior qualidade.

A qualidade da bebida é influenciada por diversos fatores. A espécie e variedade cultivada, o manejo da cultura e cuidado nas operações agrícolas pós-colheita como a secagem, armazenamento, torrefação, moagem, as condições climáticas e as características físicas e químicas grão de café cru. Destacam-se o teor de umidade, o tamanho dos grãos de café, o que inclui a presença de grãos quebrados, a contaminação por microrganismos e a presença de grãos defeituosos (SMITH, 1986). De acordo com BANKS et al. (1999), os critérios utilizados para avaliar a qualidade do grão de café são o tamanho do grão, cor, formato, capacidade de torrefação, método de processamento, safra de colheita, flavor, qualidade da bebida e presença de grãos defeituosos. De acordo com FRANCA e OLIVEIRA (2008) a qualidade da bebida e a presença de grãos defeituosos são importantes critérios para a qualidade, sendo amplamente utilizados na comercialização dos grãos.

Os grãos de café da espécie *Coffea arabica* apresentam melhor qualidade da bebida, uma vez que apresentam aroma mais requintado e acidez desejável, enquanto os grãos *Coffea canephora* possuem menor acidez e bebida mais encorpada. Fatores ambientais têm grande influência na qualidade da bebida de café, determinando a homogeneidade da florada e da maturação dos frutos, além de propiciar ou não boas condições de secagem, reduzindo as fermentações. Durante a florada, é necessário chuva em abundância, enquanto no período de colheita, que dura em torno de quatro meses, a umidade relativa do ar deve ser baixa, diminuindo a incidência de fermentações prolongadas, que prejudicam a qualidade da bebida. Há grande diferença sensorial entre cafés de diferentes regiões de cultivo. Entretanto, tais diferenças nem sempre são devidas exclusivamente ao clima ou solo, mas muitas vezes se devem ao tipo de manejo de cada lavoura. Em locais de clima quente e úmido no período de maturação e colheita, a alta umidade do ar proporciona condições para que as fermentações acética e láctica ocorram rapidamente, passando então para a fase propiônica e butírica, produzindo uma bebida de pior qualidade.

No Brasil, o café é classificado quanto à qualidade da bebida, ao tipo (contagem de defeitos dos grãos) e tamanho da peneira. A classificação do café quanto à bebida é determinada através de uma análise sensorial denominada “prova de xícara”, sendo esta análise o principal critério de definição da qualidade do café (FRANCA et al., 2005a,b). Esta análise surgiu no Brasil no início do século XX, e foi primeiramente adotada pela bolsa de Café e Mercadorias de Santos em 1917.

A avaliação da bebida pela prova de xícara consiste em colocar a água fervente (100 mL) sobre o café torrado e moído (10 g), agitando esta infusão com o auxílio de uma concha. Neste momento, o degustador cheira o extrato a fim de julgar de forma preliminar os vapores desprendidos. Após a retirada da espuma sobrenadante, a avaliação final do degustador é efetuada após a deposição do pó no fundo da xícara e quando o extrato já estiver morno. Ao ser sorvida uma pequena quantidade do extrato, com o auxílio de uma concha apropriada, esta é conservada dentro da boca apenas durante um intervalo de tempo suficiente para sentir o seu sabor, sendo expelida em seguida numa cuspedeira. Desta forma o gosto da bebida é avaliado, conforme a classificação apresentada na Tabela 2, sendo que quando várias amostras de café estão sendo avaliadas, a prova da xícara deve ser iniciada com a amostra que aparentemente apresenta o melhor paladar, conforme indicado pelo aroma desprendido (SINDICAFÉ, 2003). Esta análise sensorial exige bastante conhecimento, grande prática e, principalmente, paladar apurado.

Tabela 2: **Classificação das principais bebidas de café**

Bebidas Finas do Grupo 1 – arábica	
Estritamente mole	Café que apresenta em conjunto, todos os requisitos de aroma e sabor “mole”, porém mais acentuado.
Mole	Café que apresenta aroma e sabor agradável, brando e adocicado.
Apenas Mole	Café que apresenta em conjunto, todos os requisitos de aroma e sabor “mole”, porém menos acentuado.
Duro	Café que apresenta sabor acre, adstringente e áspero, porém não apresenta paladares estranhos.
Bebidas Fenicadas do grupo 1 – arábica	
Riado	Café que apresenta leve sabor, típico de iodofórmio.
Rio	Café que apresenta sabor típico e acentuado de iodofórmio
Rio zona	Café que apresenta aroma e sabor muito acentuado assemelhado ao iodofórmio ou ácido fênico, sendo repugnante ao paladar.
Bebidas do grupo 11 – robusta	
Excelente	Café que apresenta sabor neutro e acidez mediana
Boa	Café que apresenta sabor típico de robusta sem acidez
Regular	Café que apresenta sabor não característico do produto

Fonte: VASCONCELOS (2005)

A classificação das principais bebidas de café, uma consequência da qualidade final do café torrado, é resultante da combinação de vários compostos produzidos por reações pirolíticas que ocorrem durante a torrefação. Considerando as características químicas do grão cru, a qualidade final do produto café relaciona-se principalmente com os níveis de sacarose, trigonelina, cafeína e ácidos clorogênicos. A doçura da bebida é devida à presença da sacarose no grão de café cru, sendo uma importante componente no flavor do café torrado. Segundo KY et al. (2001), o maior teor de sacarose nos grãos cru indicam uma maior qualidade na prova de xícara.

A acidez da bebida de café também é uma das características utilizadas para a avaliação da qualidade da bebida. Sabe-se que as fermentações que ocorrem nos grãos por meio de rotas bioquímicas variadas induzem à produção de álcoois e ácidos, entre outros compostos. De acordo com FELDMAN et al. (1969) a fração ácida do café é constituída basicamente por ácidos não voláteis (oxálico, málico, cítrico, tartárico e

pirúvico) e ácidos voláteis (acético, propiônico, valérico e butírico). Alguns desses ácidos, dependendo de suas concentrações, conferem sabor e odor desagradáveis à bebida do café. A presença de grãos defeituosos possivelmente acarreta um desequilíbrio quanto à existência e proporção desses ácidos, ocasionando a redução da qualidade do café.

A atividade antioxidante no grão cru aparece como um controle da qualidade final da bebida, sendo os polifenóis, compostos com atividade antioxidante encontrados no grão cru, detectados em 200 a 550 mg por xícara de café (KIYOHARA et al., 1999). De acordo com MONTAVON et al. (2003) o status antioxidante dos ácidos clorogênicos é essencialmente determinado durante a maturação do grão, por aspectos metabólicos com a ativação das enzimas.

A caracterização dos grãos quanto ao tipo está relacionada ao aspecto do grão cru e com a quantidade de defeitos, que podem ser tanto impurezas (cascas, paus, pedras) quanto grãos defeituosos. A classificação por tipos admite 7 valores (2 a 8), segundo normas estabelecidas pela Classificação Oficial Brasileira. A cada tipo corresponde um maior ou menor número de defeitos, sendo impurezas ou grãos defeituosos, conforme pode ser observado na Tabela 3. Na seção seguinte é apresentada uma revisão detalhada sobre os grãos de café defeituosos.

Tabela 3 – Classificação do café por tipo

Tipo	Número de defeitos por 300 g de amostra
2	6
3	13
4	30
5	60
6	120
7	240
8	450

Fonte: FRANCA et al. (2005a).

3.2.1 – Os grãos de café defeituosos

O estágio de maturação do fruto na época da colheita é um dos fatores que mais influencia a qualidade do grão, sendo o fruto cereja o ideal para ser colhido (COELHO, 2000), e a cor do fruto um bom indicador da maturação. De acordo com MONTAVON et al. (2003), a substituição da clorofila no pericarpo por pigmentos vermelhos indica a maturidade do fruto. No cafeeiro há frutos em diversos estádios de maturação, uma vez que várias florações são produzidas em intervalos que vão geralmente do final de setembro até novembro (BARTHOLO e GUIMARÃES, 1997). A maioria dos frutos (47,1 a 83,1%) adequados à colheita corresponde à primeira floração, isto é, apesar da maioria dos grãos estarem maduros, apropriados para a colheita, é significativa a presença de grãos de café imaturos ou envelhecidos.

Além dos frutos em diversos estádios de maturação, o ataque de microrganismos, insetos e pássaros, a deficiência nutricional do cafeeiro, as condições climáticas inadequadas e procedimentos inadequados na colheita e no beneficiamento do grão de café contribuem para a origem dos grãos de café defeituosos nas espécies arábica e robusta. A opção entre a técnica de colheita por escolha ou derrça, também influi na quantidade de grãos defeituosos obtidos. Na colheita por escolha, os grãos maduros são colhidos individualmente, praticamente excluindo a presença de grãos defeituosos. Na derrça dos grãos de café, todos os frutos são retirados dos galhos ao passar a palma da mão pela galha de café. Os frutos são jogados sobre um pano ou plástico colocado na base do cafeeiro, favorecendo contaminações e processos fermentativos indesejáveis no fruto. De acordo com SIVETZ e DESROISIER (1979) e BÁRTHOLO e GUIMARAES (1997) a ocorrência de fermentações nos grãos de café, durante a fase de colheita ou preparo, é o fator que mais prejudica a qualidade da bebida café.

Os grãos defeituosos são classificados de acordo com a sua origem e podem ser de natureza extrínseca ou intrínseca. Os defeitos representados por elementos estranhos ao café beneficiado (coco, marinheiro, cascas, paus e pedras) são defeitos de natureza extrínseca. Os de natureza intrínseca caracterizam os grãos alterados ou defeituosos, quer pela imperfeita aplicação dos processos e técnicas agrícolas e industriais, quer por modificações de origem fisiológica ou genética. Os grãos pretos, verdes, ardidos, chochos, mal granados, quebrados e brocados são exemplos de grãos defeituosos de natureza intrínseca. Os defeitos mais comuns encontrados nos grãos de café são apresentados na Tabela 4 com suas respectivas causas e influência na qualidade do café torrado.

Tabela 4 - Defeitos mais comuns no grão de café

Natureza	Causa	Influência na qualidade
Preto	Colheita atrasada dos frutos e contato destes com o solo	Prejudica cor, aspecto, a torrefação e a bebida
Ardido	Contato do fruto com o solo; falhas nas condições de secagem	Prejudica o aspecto, a cor, a torrefação e a bebida
Verde	Colheita de frutos verdes	Piora a cor, o aspecto, torrefação, e a bebida
Concha	Fatores genéticos e fisiológicos	Prejudica o aspecto e a torrefação
Chocho	Causas fisiológicas, fatores genéticos	Prejudica o aspecto e a torrefação
Malgranado	Fatores fisiológicos	Prejudica o aspecto e a torrefação
Brocado	Ataque da “broca-do-café”	Prejudica o aspecto
Quebrado	Secagem inadequada e má regulação do descascador	Prejudica o aspecto e a torrefação
Coco	Má regulação do descascador	Prejudica o aspecto e a torrefação
Marinheiro	Má regulação do descascador	Prejudica aspecto, e a torrefação
Paus, pedras, torrões, cascas	Colheita por derriça no chão e abanação mal feita	Prejudica aspecto, torrefação

Fonte: MAPA, 2006

Dentre estes grãos defeituosos, destaca-se o grão preto, por ser considerado o defeito capital e possuir equivalência de 1 grão:1 defeito na Tabela Oficial Brasileira de Classificação, como pode ser observado na Tabela 5. A influência negativa deste grão defeituoso na qualidade final do café é mais intensa, quando comparada ao efeito depreciativo dos grãos verde e ardidos. O grão defeituoso preto é consequência de uma ação microbiológica prematura, ainda no galho de café, favorecendo a fermentação intensa deste, fazendo com que o fruto ainda não maduro desprenda-se do galho, caindo

no solo (CLARKE E MACRAE, 1987). Entretanto, de acordo com MAZZAFERA (1999) os grãos pretos são obtidos a partir da fermentação de grãos que caem naturalmente da galha de café ou por ação de ventos e/ou chuvas no solo. Ainda de acordo com este pesquisador, os grãos pretos podem ser diferenciados dos demais grãos defeituosos devido à presença da película prateada aderida à superfície do grão.

Tabela 5 – Equivalência de defeitos de acordo com o sistema de classificação do café por tipos.

Tipo e quantidade de defeitos	Equivalência
1 grão preto	1 defeito
2 grãos ardidos	1 defeito
5 grãos verdes	1 defeito
2/5 grãos brocados	1 defeito
1 pedra pequena	1 defeito
1 pedra grande	5 defeitos
1 pau pequeno	1 defeito
1 pau grande	5 defeitos

Fonte: FRANCA et al. (2005a)

Os grãos defeituosos ardidos podem ser associados às práticas indevidas no processo de secagem ou colheita de frutos muito maduros (SIVETZ e DESROSIER, 1979) e à fermentação excessiva ocorrida nos grãos durante o pré-processamento por via úmida (CLARKE e MACRAE, 1987). Segundo ILLY e VIANI (1995), grãos ardidos são grãos maduros que foram provavelmente danificados durante o beneficiamento ou foram infectados por fungos, favorecendo a fermentação destes (CLARKE e MACRAE, 1987). Entretanto, PEREIRA (1997) observou que os grãos ardidos ocorrem em maior frequência nos frutos secos no chão, sugerindo que este defeito não é originário somente de fermentações anormais. O grão ardido pode ser originado devido a deficiências hídricas no decorrer das diferentes etapas do desenvolvimento dos frutos.

Os grãos classificados como verdes são grãos colhidos prematuramente, possuindo uma fina película recobrimo a superfície externa do grão de coloração esverdeada. Esta coloração é consequência da forte adesão da película prateada ao endosperma (MAZZAFERA, 1999). Quando analisados microscopicamente, os grãos

verdes mostram-se com amadurecimento incompleto, possuindo membranas celulares mais finas, com baixo teor de celulose (ROGERS et al., 1999). De acordo com ILLY e VIANI (1995), os grãos verdes possuem sabor adstringente, reduzido conteúdo de lipídios e de ácido oléico e contribuem para a adstringência da bebida (VASCONCELOS et al., 2007).

Todos os grãos defeituosos prejudicam o aspecto, a cor e a torração do grão de café, e, conseqüentemente, a qualidade da bebida de café. CLARKE e MACRAE (1987) afirmam que grãos ardidos conferem um sabor pesado para a bebida e, a presença destes grãos é associada ao sabor azedo com toques acebolados das bebidas de qualidade inferior. GARRUTI e GOMES (1961) mostraram que, ao contrário dos frutos maduros (grãos perfeitos), que produzem uma bebida mole, grãos imaturos, classificados como grãos verdes produzem uma bebida dura. Os resultados publicados por MAZZAFERA (1999) mostram que a presença de grãos defeituosos pode mudar drasticamente a composição química do produto final. FRANCA et al. (2005b) e FARAH et al. (2006) atribuíram à presença de grãos defeituosos os resultados diferenciados de alguns parâmetros químicos das bebidas de baixa qualidade quando comparados aos comportamentos de bebidas de qualidade superior, ambas submetidas às mesmas condições de torrefação. Estes pesquisadores também mostraram que a porcentagem de grãos defeituosos aumenta com a diminuição da qualidade da bebida.

MONTAVON et al. (2003) colheram os frutos de café da espécie robusta nas cores preto a vermelho-marron (sobremaduros), amarelo laranja a vermelho (maduros) e verde brilhante (imaturos). Após o processamento a seco, observaram a heterogeneidade entre os grãos de café, e que nos três estádios de maturação foram encontrados grãos com a película prateada. Os resultados publicados por estes pesquisadores indicam que a qualidade aumenta com a maturação e a ausência da película prateada aumentou a qualidade, independentemente da maturação. De acordo com MONTAVON et al. (2003) estes resultados são de grande interesse econômico, uma vez que há a possibilidade de produzir um café de qualidade a partir de grãos imaturos robusta. Ressalta-se que os grãos de café robusta são normalmente processados por via seca, sem a retirada dos grãos imaturos.

Embora seja consenso o efeito depreciativo dos grãos defeituosos na qualidade da bebida café, são poucos os trabalhos que associam características físicas e químicas dos grãos de café à presença de defeitos. Na seção seguinte é apresentado um maior detalhamento aos atributos químicos e físicos dos grãos de café sadios e defeituosos, antes e após a torrefação.

3.3 - ATRIBUTOS DOS GRÃOS DE CAFÉ

3.3.1 – GRÃOS CRUS

O tamanho (volume), formato, cor e densidade dos grãos de café, atributos físicos, dependem principalmente da espécie de café, e também, das condições de plantio do grão, colheita e pré-processamento. O volume do grão de café pode ser avaliado aproximando o formato do grão da metade de um elipsóide triaxial (DUTRA et. al., 2001), considerando os três diâmetros (maior, menor e intermediário). É consenso na literatura (MARTIN et al., 1999; CASAL et al., 2000) que os grãos de café da espécie arábica são maiores que os da espécie robusta, sendo possível separar os grãos de café por espécie considerando este atributo. No entanto, os estudos disponíveis não apresentam correlação destes parâmetros com a qualidade do café.

A cor da superfície dos grãos é um importante atributo para a classificação do café cru, sendo dependente principalmente da espécie cultivada e das condições de pré-processamento e estocagem. A heterogeneidade da cor das superfícies dos grãos de café de um lote é normalmente considerada como uma depreciação na qualidade destes grãos. SIVETZ e DESROIZER (1979) e FREITAS (2001) reportaram que a cor característica desejável para o café arábica de qualidade é um grão acinzentado, considerando critérios visuais e resultados da classificação da bebida. A cor amarronzada é considerada característica de processos fermentativos ou de secagem indevida dos grãos da espécie arábica. Entretanto, para os grãos de café robusta, a cor amarronzada é a característica do grão de café de qualidade de acordo com FRANCA e OLIVEIRA (2008), que também associaram as variações na cor externa dos grãos à idade destes.

Considerando os atributos físicos dos grãos de café defeituosos, alguns dados de literatura (MENDONÇA et al., 2003; FRANCA et al., 2005a) demonstram que os grãos pretos são menores, possuem as menores massas específicas (granular e específica), são menos luminosos e possuem a cor menos saturada que os demais, indicando que estes grãos defeituosos podem ser separados dos grãos sadios antes da torrefação. Os grãos sadios são os maiores. Considerando as densidades específica e granular não foram encontradas diferenças significativas entre os grãos sadios e defeituosos ardidos e imaturo.

FRANCA et al. (2005a) observaram também que as luminosidades das superfícies dos grãos sadios e imaturos são semelhantes, o que dificultaria a separação destes em

função deste parâmetro. Estes pesquisadores ainda observaram uma diferença de luminosidade entre o interior e a superfície dos grãos de café, sendo a superfície menos luminosa. Esta diferença de luminosidade é maior nos grãos defeituosos que nos grãos sadios. Considerando a saturação e a tonalidade da cor dos grãos de café, somente o grão defeituoso preto apresentou valores diferenciados dos demais tipos de grãos, para ambos os parâmetros avaliados, sendo o maior valor do ângulo Hab, correspondendo a tonalidade preto esverdeada, enquanto os outros grãos de café apresentaram a cor verde amarelada (FRANCA et al., 2005a).

A composição química do grão de café cru também é dependente das espécies e variedades cultivadas, e em menores proporções, de outros fatores como condições climáticas, práticas empregadas na lavoura de cultivo, tipo do solo de cultivo, grau de maturação dos frutos colhidos, método de processamento e condições de estocagem. Na Tabela 6 é apresentado o resumo da composição química dos grãos de café cru das espécies arábica e robusta. Ressalta-se que os maiores constituintes da fração solúvel em água são proteínas, sacarose, ácidos clorogênicos e cinzas, em média, 70 a 80% dos sólidos solúveis em água.

Tabela 6: Composição química dos grãos de café crus arábica e robusta

Componentes	Composição química do grão cru (g/100 g b.s)	
	arábica	robusta
Minerais	3,0-4,2	4,0-4,5
Cafeína	0,9-1,2	1,6-2,4
Trigonelina	1,0-1,2	0,6-0,75
Lipídios	12,0-18,0	9,0-13,0
Ácido clorogênico total	5,5-8,0	7,0-10,0
Ácidos alifáticos	1,5-2,0	1,5-2,0
Oligossacarídeos	6,0-8,0	5,0-7,0
Polissacarídeos totais	50,0-55,0	37,0-47,0
Aminoácidos	2,0	2,0
Proteínas	11,0-13,0	11,0-13,0

Fonte: SMITH (1986); b.s. = base seca

A água constitui cerca de 10 - 13% (b.s) no grão cru (CLARKE, 1985), constituindo cerca de 50% do fruto cereja, sendo um componente determinante na qualidade final do

café. Dentre as espécies arábica e robusta, PITTIA et al. (2001) publicaram os teores de 11,45% e 11,26% para os grãos de café cru das espécies arábica e robusta, respectivamente. Recentemente, os dados compilados por FRANCA e OLIVEIRA (2008) indicaram que os grãos de café arábica apresentaram o teor de umidade entre 8-13%, enquanto a umidade nos grãos robusta está entre 12-13%. De acordo com REH et al. (2006) o teor de umidade no grão de café cru é certamente o parâmetro mais crítico na qualidade final da bebida, uma vez que é associado aos processos fermentativos, com a formação de compostos aromáticos indesejáveis que depreciam a qualidade da bebida, como as micotoxinas e ao crescimento de microrganismos indesejáveis. O Instituto Brasileiro do Café (IBC) estabeleceu em 1977 a faixa ideal do teor de umidade para o café cru seco em torno de 11 a 13% (BÁRTHOLO et al., 1989; COELHO, 2000), sendo ideal que o processo de secagem se inicie tão logo após a colheita.

Teores de umidades acima do estabelecido como o ideal, além de indicar um processo de secagem ineficiente, podem favorecer o crescimento de microrganismos e fermentações indesejáveis, que alteram o aspecto, o sabor e o odor do café. BETENCOURT & FRANK (1983) fixaram os seguintes limites para perda de qualidade em relação ao crescimento fúngico em café cru: umidade acima de 14%, a_w em torno de 0,80 e umidade relativa do ar acima de 75%. De acordo com SMITH (1986) há o desenvolvimento de compostos indesejáveis e de microrganismos a partir de 14 a 15% de umidade nos grãos de café cru. TANIWAKI et al. (2001) mostraram que se a umidade do grão, a atividade de água e a umidade relativa do ar estiverem nos intervalos de 10-12%, 0,65-0,70 e 50-70%, respectivamente, a qualidade dos grãos estará assegurada em relação ao crescimento de fungos produtores de toxinas.

Entretanto, ressalta-se que um teor de umidade abaixo da faixa considerada ideal, que não é freqüentemente encontrado nos grãos de café cru, também é indesejável porque torna os grãos de café mais quebradiços, além de alterar o comportamento destes no processo de torrefação. Os grãos de café mais secos tendem a alcançar o grau de torração determinado mais rapidamente, afetando o flavor final do café torrado (SMITH, 1986).

O café contém compostos hidrofílicos coloidais, como proteína e polissacarídeos (Tabela 6), sendo capaz de reter água por ligações físicas e químicas. A água pode ser retida em camadas mono e polimoleculares, nas superfícies internas e externas, por ligações tipo ponte de hidrogênio, e por atrações capilares nos micros e macros poros presentes no grão cru. Na prática, há uma necessidade de determinação do teor de umidade no grão de café para expressar a composição em base seca, além do interesse

da garantia da qualidade e econômico. Existem muitas técnicas para a determinação do teor de umidade no grão de café cru, sendo a perda de massa por dessecação a oficial para alimentos. A técnica analítica que fornece resultados mais confiáveis é a técnica de Karl Fisher, baseada na redução de iodo pelo dióxido de enxofre.

Considerando os grãos de café defeituosos, estes apresentam o teor de umidade ligeiramente menor do que o encontrado para os grãos sadios (MAZZAFERA, 1999; OLIVEIRA et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2007). A atividade de água nos grãos sadios e defeituosos foi determinada por VASCONCELOS et al. (2007), sendo os resultados médios encontrados de 0,44 para grãos defeituosos e 0,48 para os grãos sadios. Estas diferenças podem ser atribuídas à menor difusão da água nos grãos defeituosos, sendo necessários estudos para confirmar esta hipótese (FRANCA e OLIVEIRA, 2008).

Os carboidratos constituem a maior parte do grão de café cru, 50 a 60% em base seca, incluindo polissacarídeos, dissacarídeos e monossacarídeos, como pode ser visto na Tabela 7. É evidente a sua importância para o grão de café (SIVETZ & DESROSIER, 1979; BRADBURY, 2001; PARRAS et al., 2007).

Tabela 7 – Composição centesimal dos grãos de café cru

	arábica	robusta
Água	8-13	12-13
Proteína	11-17	11-13
Lípides	9-18	9-13
Minerais	4-5	4-5
Carboidratos	60-76	69-76

Fonte: FRANCA e OLIVIERA (2008).

A sacarose é o principal carboidrato de baixo peso molecular ou açúcar encontrado no café cru (ALCÁZAR et al., 2005), mesmo sendo em quantidades relativamente baixas, menos que 10% (BRADBURY, 2001). De acordo com GINZ et al. (2000), a sacarose é o principal precursor dos ácidos alifáticos formados durante o processo de torrefação. Os ácidos fórmico, acético, glicólico e lático são formados durante a torrefação do café, sendo responsáveis pela acidez característica da bebida café (GINZ et al., 2000). De acordo com FARAH et al. (2006) a sacarose é precursora do aroma e

flavor da bebida café, originando muitas substâncias como furanos, aldeídos e ácidos carboxílicos. Os açúcares estão relacionados à qualidade, por estarem, juntamente com os aminoácidos e as proteínas, correlacionados com a origem de vários compostos voláteis em cafés torrados (BARBOSA et al., 2002).

Como apresentado por CLIFFORD (1985a), os valores na literatura variam de 2 a 5% para o teor da sacarose nos grãos de café robusta e 5 a 8,5% nos grãos arábica. SILWAR e LULLMAN (1988) mostraram que a quantidade de sacarose varia de 6,25 a 8,45% para o café arábica e 0,9 a 4,85% para o café robusta, e que a espécie robusta contém mais açúcares redutores que a arábica. De acordo com ILLY e VIANI (1995) os grãos de café cru robusta contém 54,4% de carboidratos e 8% de sacarose, enquanto o grão arábica cru contém 49,8% de carboidratos e 4% de sacarose. ROGERS et al. (1999) estudando o teor de monossacarídeos em função do desenvolvimento do grão de café encontraram um teor de sacarose de 5 a 12% (b.s) para o café arábica sadio e 4 a 5% (b.s.) para o café robusta sadio. KY et al. (2001) reportaram que o teor de sacarose é maior nos grãos de café da espécie arábica, sendo que os grãos de café robusta contém aproximadamente a metade de sacarose do que os grãos da espécie arábica (BRADBURY, 2001). CAMPA et al. (2004) encontraram um teor médio de sacarose de 9,32% (b.s.) para o café arábica e 6,10% para o café robusta. ALCÁZAR et al. (2005), avaliando a aplicabilidade do método enzimático-espectrofotométrico de determinação da sacarose em grãos de café cru, encontraram valores para o teor de sacarose entre 7,6 e 4,6% (p/p) (b.s.). MURKOVIC e DERLER (2006) publicaram que o teor de sacarose no café é 9% do peso total do grão de café, e que a espécie arábica contém mais sacarose que a espécie robusta.

Os resultados publicados demonstram variações no teor de sacarose, confirmando que as quantidades de açúcares dependem das espécies de café, da técnica analítica utilizada para determinação destes, das condições de cultivo, do estágio de maturação e das condições de processamento e estocagem (TRUGO, 1985). CAMPA et al. (2004) mostraram que a variação no teor de sacarose entre as espécies é significativa, representando 74% da variação total; e os estudos de MAZZAFERA (1999) reportaram que o conteúdo de sacarose é dependente do estágio de maturação do grão.

Os grãos defeituosos possuem menor teor de sacarose quando comparado ao teor dos grãos sadios (MAZZAFERA, 1999; VASCONCELOS et al., 2007). Dentre os grãos defeituosos, os teores médios de sacarose nos grãos preto, ardido e verde são 1,5 e 8% (b.s.), respectivamente (VASCONCELOS et al., 2007), indicando que o nível de sacarose nos grãos defeituosos está associado à intensidade do processo fermentativo sofrido pelo

grão e ao estágio de maturação do grão, como reportado anteriormente por MAZZAFERA (1999).

Os polissacarídeos são importantes constituintes do café cru, podendo exceder 50% do peso seco do grão (SACHSLEHNER et al., 2000; REDGWELL et al., 2002a,b). É consenso na literatura (BRADBURY e HALLIDAY, 1990, SACHSLEHNER et al., 2000, REDGWELL et al., 2002a,b) que, nas espécies de café, arábica e robusta, arabinogalactano altamente ramificado (FISCHER et al., 2001), manano linear com um baixo grau de substituição e um glucan não-substituído (celulose) são os polissacarídeos predominantes. Não há evidência da presença de amido no café cru (TRUGO, 1985). FISCHER et al. (2001) sugeriram a existência de uma população heterogênea destes polímeros em grãos de café cru, definindo-a como amálgama, considerando o grau de ramificação em sua cadeia principal e a polimerização das cadeias laterais. Os polissacarídeos presentes no grão cru podem ser classificados como solúveis e insolúveis em água, sendo que a baixa solubilidade em água destes compostos também indica uma íntima associação existente entre eles. Dentre os polissacarídeos insolúveis em água, o manano é o mais abundante, aproximadamente 20 a 30% do peso seco dos grãos (SACHSLEHNER et al., 2000). O material da parede celular dos grãos de café arábica e robusta representa 53 e 52% do café inicial, respectivamente.

CLIFFORD (1985a) apresentou como resultados para polissacarídeos totais, 38-48 % para a espécie robusta e 48-55 % para a espécie arábica. Este autor também mostrou que a espécie arábica pode conter mais arabinogalactanos (9-13 % vs. 6-8%) e galactomananos (25-30% vs. 19-22%) que robusta e sugeriu que o galactomanano no café robusta é mais ramificado, possuindo uma estrutura menos cristalina. Entretanto, de acordo com FISCHER et al. (2001) não há informações detalhadas de como estes valores foram experimentalmente obtidos. Porém, BRADBURY e HALLIDAY (1987), estudando o rendimento e o tipo de monossacarídeos produzidos por hidrólise ácida de diferentes cafés arábica e robusta, mostraram que a concentração de arabinogalactano é menor na espécie arábica, enquanto as concentrações de manano e celulose são similares nas espécies arábica e robusta. O grão de café cru possui, ainda, lignina e pectina em pequenas quantidades que representam em torno de 3% do total dos constituintes do grão (TRUGO, 1985).

Os lipídios do grão de café cru estão presentes na forma de óleo situado no endosperma, e na forma de cera localizada nas membranas externas dos grãos. A quantidade de cera do grão cru é aproximadamente 0,25% (base seca), constituindo 1,5-2,5% do total de óleo contido no café (FOLSTAR, 1985). Os triglicerídeos constituem 75%

dos lípidos presentes no grão cru, que contém ainda esteróis, ácidos graxos, ésteres diterpênicos e triterpênicos, diterpenos pentacíclicos (metilcafestol, cafestol e kaveol) e álcoois diterpenos, ésteres diterpênicos e triterpênicos (PARRAS et al., 2007). Considerando a matéria insaponificável, 19% é constituída por álcoois diterpenos. Tocoferóis (α , β , γ) também estão presentes junto com os tocotrienóis (GONZALEZ et al., 2001).

A fração lipídica dos grãos de café é dependente da espécie. CARRERA et al. (1998) encontraram diferenças entre os teores médios do teor de óleos nos grãos de café cru considerando as espécies arábica e robusta. Os resultados publicados mostram que o café robusta apresentou 12% (base seca) de óleo e, o grão arábica, 15% (base seca). SPEER & KÖLLING-SPEER (2001) encontraram resultados similares, 15% e 10% de lipídeos para cafés arábica e robusta, respectivamente.

Os principais ácidos graxos presentes no óleo de café são: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), palmitoléico (C16:1), esteárico (C18:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2), linolênico (C18:3), araquídico (C20:0), eicosenóico (C20:1) e berrênico (C22:0) (FOLSTAR, 1985). Independentemente da espécie, MARTIN et al. (2001) reportaram que os maiores teores são dos ácidos linoleico e palmítico, com 44,1% e 33,3%, respectivamente; e os menores são os ácidos mirístico, palmitoléico, eicosenoico e berrênico, com teores menores que 1%. Ressalta-se que os ácidos linolênico e araquídico apresentaram teores entre 0,6 e 3,5% (MARTIN et al., 2001). Segundo FOLSTAR (1985), estes compostos estão presentes no óleo de café livres ou esterificados, principalmente, pelo glicerol ou por álcoois diterpênicos.

A composição de ácidos graxos na fração lipídica do grão de café depende de vários fatores, particularmente da espécie e variedade. De acordo MARTIN et al. (2001), a contém maior teor de ácido oléico (12,3%) que a espécie arábica (8,3%), e ao contrário, teor de ácido linolênico é maior na espécie arábica (1,5%) do que na espécie robusta(0,9%). Estes pesquisadores ainda reportaram a discriminação dos grãos de café por espécie ao avaliar os respectivos perfis de ácidos graxos, sendo os ácidos oléico, linolênico, linoleico e mirístico os principais compostos discriminantes dos grãos por espécie, com destaque para os ácidos oléico e linolênico.

Ressalta-se que existe uma relação direta entre o conteúdo de ácidos graxos e a idade dos grãos. Grãos estocados por algum tempo em condições tropicais apresentaram maior teor de ácidos (FOLSTAR, 1985). Tanto em grãos crus inteiros quanto em grãos torrados, ocorre significativa oxidação nos ácidos graxos na medida em que o tempo de armazenamento aumenta.

Os tocoferóis, também presentes no óleo de café, possuem propriedades antioxidantes e, juntamente com os tocotrienóis, fazem parte da constituição da vitamina E. Este componente também tem sido identificado como um parâmetro para caracterizar espécies de café (GONZÁLEZ et al., 2001).

O teor de lipídios é significativamente diferente entre os grãos crus defeituosos e sadios. O grão sadio possui o maior teor de lípidos quando comparado aos grãos defeituosos (OLIVEIRA et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2007). Considerando a composição dos ácidos graxos presentes no óleo extraído dos grãos de café cru sadios e defeituosos, não foram encontradas diferenças significativas entre elas, sendo que os ácidos linoleico e palmítico foram os ácidos graxos encontrados em maiores proporções, em média, 44% e 34%, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2006).

O teor médio de minerais é de 4 a 5% no grão cru seco, sendo o potássio o principal mineral, em torno de 40% do total das cinzas (CLARKE, 1985). Cálcio e magnésio também estão presentes em menores quantidades, bem como, fósforo e enxofre, todas similares entre si. CLARKE (1985) reportou evidências que as espécies arábica e robusta podem ser distinguidas entre si considerando os seus teores de minerais, e que o processamento a seco produziu grãos com maior teor de minerais do que os processados por via úmida. De acordo com SANTOS e OLIVIERA (2001) e VEGA-CARRILO et al. (2002) outros minerais estão presentes em pequenas quantidades: ferro, céσιο, manganês, sódio, vanádio e alumínio.

A comparação entre o teor de minerais nos grãos de café defeituosos e sadios foi realizada por OLIVEIRA et al. (2006) e VASCONCELOS et al. (2007). Os resultados obtidos indicam que o grão sadio possui menor teor de minerais, aproximadamente de 5% (b.s.), enquanto os grãos defeituosos apresentaram em média, aproximadamente, 6% (b.s.) de cinzas. É consenso que dentre os grãos defeituosos, o grão preto apresentou o maior teor de minerais. Considerando o perfil de minerais nos grãos defeituosos, CUSTÓDIO et al. (2005) reportaram que o nível de potássio é maior nos grãos defeituosos pretos e menor nos grãos sadios, sendo observados valores intermediários para os grãos defeituosos imaturos e ardidos. Ao contrário, o teor de cálcio é maior nos grãos sadios, quando comparado aos resultados encontrados para os grãos defeituosos.

As proteínas no café estão livres no citoplasma ou ligadas a polissacarídeos da parede celular. O teor de proteína pode variar nos cafés crus em função da espécie/variedade cultivada, e em menores proporções em função das condições de cultivo, estocagem e grau de maturação do grão (CLARKE e MACRAE, 1985). Entretanto,

de acordo com PIMENTA (1995), o teor de proteína no grão cru é também influenciado pela idade do grão e estágio de maturação, além da variedade.

A determinação do teor protéico se baseia na quantidade de nitrogênio total. Dentre os compostos nitrogenados existentes no café cru destacam-se a cafeína (alcalóide), a trigonelina, as proteínas, os aminoácidos e alguns componentes voláteis, somando aproximadamente 25% da composição do café cru (SMITH, 1986). Deste total, as proteínas e aminoácidos livres contribuem com aproximadamente 12% e 2% de nitrogênio, respectivamente. Dentre os aminoácidos livres destacam-se principalmente asparagina, ácido glutâmico, alanina, ácido aspártico e lisina (HU et al., 2001).

Dentre os grãos de café defeituosos, MAZZAFERA (1999) reportou que o teor de proteína total é maior nos grãos pretos quando comparado aos teores nos grãos verde e verde-preto. Entretanto, este resultado não pode ser correlacionado à quantidade de aminoácido existente nos grãos defeituosos analisados, uma vez que é maior nos grãos imaturos. OLIVEIRA et al. (2006) e VASCONCELOS et al. (2007) reportaram o maior teor de proteínas no grão preto em comparação com os outros grãos defeituosos e os grãos sadios. RAMALAKSHIMI et al. (2007) reportaram um pequeno decréscimo no teor de proteínas nos cafés de baixa qualidade.

MAZZAFERA (1991) reportou diferenças no perfil de aminoácidos dos grãos de café defeituosos avaliados. Asparagina, tirosina, alanina, lisina, serina e ácido glutâmico são os principais aminoácidos encontrados no grão verde; lisina, tirosina e alanina são os principais encontrados para os grãos verde-preto, enquanto ácido glutâmico, asparagina, alanina e ácido aspártico são os principais nos grãos defeituosos pretos.

As aminas podem ser utilizadas como critério de qualidade para o café, uma vez que os níveis destes compostos podem indicar o crescimento microbiano. De acordo com OLIVEIRA et al. (2005) as aminas podem ser formadas através de processos metabólicos naturais ou pela ação de microrganismos. AMORIN et al. (1977) encontraram putrescina, espermidina e espermina como as principais aminas presentes nos grãos de café arábica crus. CIRILO et al. (2003) reportaram que as principais aminas encontradas nos grãos de café cru foram serotonina, putrescina, espermina e espermidina, e que seus resultados foram um pouco diferentes dos apresentados por AMORIN et al. (1977). O nível de aminas biogênicas foi avaliado por CASAL et al. (2004) em grãos de café cru arábica e robusta. Estes autores reportaram que a putrescina é a amina mais abundante nas duas espécies avaliadas, seguida pela espermidina, espermina e serotonina, podendo ser utilizada como composto determinante na discriminação dos grãos de café por espécie. Estes autores também detectaram traços de cadaverina e tiramina. OLIVEIRA et al. (2005) avaliaram o

teor de aminas biogênicas em cafés de baixa qualidade e encontraram resultados similares aos apresentados na literatura (AMORIM et al., 1997 e CASAL et. al, 2004). Putrescina é a amina predominante (75%), seguida pela espermina e espermidina (12%). Ressalta-se que os níveis de putrescina foram significativamente maiores nos cafés de baixa qualidade e que, histamina e triptamina somente foram detectadas em cafés de qualidade inferiores.

OLIVEIRA et al. (2005) e VASCONCELOS et al. (2007) reportaram que a histamina foi detectada somente em cafés de baixa qualidade sensorial, indicando que a detecção desta amina em grãos de café cru pode ser associada com a presença de grãos defeituosos. Este resultado aponta para esta amina como um possível marcador químico para a detecção de grãos defeituosos em grãos de café cru. De acordo com FRANCA e OLIVEIRA (2008) tanto o teor de aminas como o perfil destas pode estar relacionado com a qualidade do café.

De acordo com NARDINI et al. (2002) e KIYOHARA et al. (1999), o grão de café cru contém muitas espécies de xantinas como a cafeína, teobromina e teofilina. E, a presença dos compostos nitrogenados, destacadamente a cafeína, trigonelina e pigmentos no grão de café causam a interferência destes no resultado final da fração protéica (PIMENTA, 1995).

A trigonelina está presente em pequenas quantidades nos grãos de café, sendo o teor deste composto no café cru altamente dependente da espécie, visto que os grãos arábica possuem maior teor de trigonelina que os grãos robusta (CAMPA et al., 2004). Entretanto, os métodos de extração e quantificação também influenciam nos resultados obtidos para o teor de trigonelina nos grãos de café cru (CASAL et. al, 2004). Na literatura tem-se que o teor de trigonelina nos grãos arábica varia entre 1 a 1,94% (b.s.) (MARTIN et al., 1998b), 1,52 a 2,9% (b.s.) (MAZZAFERA, 1991) e 0,88 a 1,77% (KY et al., 2001). O teor de trigonelina nos grãos robusta varia entre 0,91 a 1,94% (MARTN et al, 1998) e 0,75 a 1,24% (KY et al., 2001)

A presença de trigonelina influencia diretamente na qualidade do café torrado, apesar de possuir $\frac{1}{4}$ do sabor amargo da cafeína. Entretanto, o produto da sua degradação térmica (niacina) faz com que este composto seja de grande importância para o café torrado (CLARKE e MACRAE, 1985). Segundo CAMPA et al. (2004) os maiores teores de sacarose e trigonelina nos grãos arábica, provavelmente explicam a melhor qualidade da bebida destes grãos. O conteúdo do produto niacina (ácido nicotínico) no grão cru varia de 1,6 a 4,4 mg por 100 g, aumentando quase 10 vezes com a torrefação devido à degradação da trigonelina (CLARKE e MACRAE, 1985). Embora a torrefação

seja o fator que mais afete o conteúdo final desta vitamina, o tipo de processamento empregado no grão cru também interfere neste conteúdo, sendo maior em café processado a seco (CLARKE e MACRAE, 1985).

Considerando os grãos de café defeituosos, FRANCA et al. (2005a) mostraram que o grão preto cru possui o menor teor de trigonelina (0,8%) quando comparado aos outros grãos defeituosos e com o grão de café sadio, que apresentou aproximadamente 1%. FRANCA et al. (2005b), trabalhando com cafés de qualidade de bebidas diferentes, não encontraram diferenças significativas no teor de trigonelina entre os cafés de alta e baixa qualidade, enquanto FARAH et al. (2006) mostraram uma forte correlação negativa entre o teor de trigonelina com a baixa qualidade do café.

A cafeína é um alcalóide responsável por até 30% do amargor da bebida, sendo o seu teor dependente da espécie e origem do grão de café (CLARKE e MACRAE, 1985). Para os grãos da espécie robusta, 2,2% (b.s.) foi o teor médio de cafeína, enquanto a quantidade destes compostos em café arábica é de 1,2% (b.s) (CLARKE e MACRAE, 1985; DE MARIA et al., 1995). KY et al. (2001) reportou que o teor de cafeína varia entre 0,96 a 1,62% nos grãos de café arábica, e 1,51 a 3,335 nos grãos robusta.

MENDONÇA et al. (2003), MAZZAFERA (1999) e FRANCA et al. (2005a) não encontraram diferenças entre os teores de cafeína nos grãos defeituosos, sendo a média de 1,3% de cafeína apresentada pelos dois últimos trabalhos. De acordo com FRANCA et al. (2005a) os grãos sadios apresentaram menor teor de cafeína do que os grãos defeituosos. Dentre os grãos defeituosos, o grão preto apresentou 30% mais cafeína que os grãos ardidos e verdes, o que pode explicar o maior teor de proteínas encontrado para este grão defeituoso (OLIVEIRA et al., 2006). Avaliando o teor de cafeína em bebida de qualidades sensoriais diferenciadas, FRANCA et al. (2005b) reportaram o maior (1,1%) e menor (0,7%) teor de cafeína em bebidas de alta e baixa qualidade, respectivamente. Posteriormente, FARAH et al. (2006) também reportaram que o maior teor de cafeína foi encontrado em amostras de bebida de melhor qualidade sensorial, entretanto, reportaram que o menor nível de cafeína foi determinado numa amostra de bebida de boa qualidade (dura), que continha 97% de grãos sadios. Recentemente, RAMALASHMI et al. (2007) também reportaram menores teores de cafeína em amostras com baixa qualidade sensorial.

De acordo com FRANCA e OLIVEIRA (2008) estes resultados podem parecer contraditórios, mas o alto teor de cafeína em bebida de qualidade pode estar associado às condições de cultivo e processamento dos grãos de café.

Os ácidos clorogênicos são ésteres fenólicos que correspondem a aproximadamente a 6 a 12% do grão de café cru. São os principais compostos fenólicos existentes no café, sendo geralmente conhecidos como ésteres dos ácidos trans-cinâmicos (caféico, ferrúlico e p-cumárico) com o ácido quínico (FARAH et al., 2005). Ocorrem na superfície do grão de café associados com a cera cuticular, e também, no citoplasma, ao lado da parede celular do endosperma no parênquima.

Os ácidos clorogênicos (CGA) são metabólitos secundários de grande interesse econômico nos cafés crus porque se degradam termicamente em compostos fenólicos (CAMPA et al., 2005), responsáveis pela acidez característica de uma bebida de qualidade. PEREIRA (1997) reportou que possivelmente a sensação variável de adstringência da bebida, é atribuída ao tipo e concentração dos compostos fenólicos presentes. De acordo com YANAGIMOTO et al. (2004) os ácidos clorogênicos são compostos antioxidantes presentes em produtos de origem vegetal como frutas e vegetais, ervas, grãos, incluindo chá e café. CLIFFORD (2000) descreveu o complexo formado entre o ácido clorogênico e a cafeína, sendo que a razão entre o teor de ácidos clorogênicos e cafeína pode ser utilizada como ferramenta para discriminar os grãos de café por espécie de diferentes origens (MARTIN et al., 1998b).

Os maiores subgrupos dos ácidos clorogênicos (CGA) são os ésteres do ácido quínico com o ácido caféico (ácido cafeiolquínico – CQA) e com o ácido dicafeiolquínico (diCQA) ou com o ácido ferrúlico (ácido ferrulolquínico - FQA) e representam 98% de todos os ácidos clorogênicos (CGA), sendo que cada grupo possui três isômeros, considerando o número e a identificação do resíduo (CLIFFORD, 1985b; FARAH et al., 2006). Dentre os subgrupos, destaca-se o ácido cafeiolquínico (3-, 4- e 5-cafeiolquínico) que representam aproximadamente 85% do total dos ácidos clorogênicos no grão de café cru, ressaltando que o ácido 5-cafeiolquínico representa aproximadamente 75% dos ácidos clorogênicos totais presentes no grão cru. KIYOHARA et al. (1999) quantificaram, em média, 200 a 550 mg de compostos fenólicos por xícara de café, entre os quais o ácido 5-O-cafeiolquínico como o mais abundante, sendo também detectados os ácidos ferrulolquínico e dicafeiolquínico conjugados com tirosina, triptofano e fenilalanina (cinamoil-amidas).

De acordo com CAMPA et al. (2005) há também compostos em menores proporções como os ésteres quínicos com os ácidos feruloil-cafeolquínico (FCQA), cafeoil-ferrulolquínico (CFQA) ou ácido p-cumárico (p-CoQA). FARAH et al. (2005) identificaram oito ácidos clorogênicos em amostras de café brasileiro classificadas previamente pela prova de xícara: 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4,5-

diCQA, 4-FQA e 5-FQA. Estes pesquisadores ainda mostraram que estes ácidos clorogênicos representam aproximadamente 83% do total dos ácidos clorogênicos existentes nos grãos de café cru. Ressalta-se que cada classe de compostos dos ácidos clorogênicos no café tem recebido mais atenção por parte da comunidade científica devido às várias atividades farmacológicas observadas *in vivo* e *in vitro* (FARAH et al., 2006).

O teor de ácidos clorogênicos é dependente da espécie avaliada, do grau de maturação do fruto e, em menor importância das práticas de plantio e colheita, clima e solo (CLIFFORD, 1985b; FARAH et al., 2005). O teor de ácido clorogênicos é significativamente maior nos grãos robusta, variando entre 7 a 10%, enquanto nos grãos arábica variam entre 5 a 8%, em base seca (CLIFFORD, 1985b; DE MARIA et al., 1996). De acordo com KY et al. (2001) em *C. canephora*, por exemplo, os ácidos clorogênicos variam entre 7,9 % a 14,4% (b.s.), sendo 87,5% destes compostos ésteres do ácido quínico com os ácidos cafeiolquínico e dicafeiolquínico. Ainda em seus estudos, estes pesquisadores reportaram que nos grãos de café arábica, 95,1 % dos ácidos clorogênicos são ésteres do ácido quínico com os ácidos cafeiolquínico e dicafeiolquínico, sendo a maior parte destes (75,3%) corresponde ao isômero 5-CGA. As diferenças entre o perfil de ácidos clorogênicos também estão associadas ao teor do ácido 5-FQA que nos grãos arábica é de 3,7% e nos robusta de 10,2%, e a teores dos ácidos dicafeiolquínicos que são em média de 14,8% nos grãos arábica e 20,31% nos grãos robusta (KY et al., 2001). Entretanto, outros ácidos cinamoilquínicos, como ácido p-coumaroilquínico (pCoQA), ácido cafeoilferruloilquínico (CFQA), ácido ferruloilcafeoilquínico (FCQA), e outros compostos como os ácidos clorogênicos, onde a unidade caféica está acoplada em um aminoácido, como a tirosina, também estão presentes em traço nos grãos de café e não foram consideradas por KY et al (2001). FARAH e DONANGELO (2006) reportaram que o teor de ácidos clorogênicos varia entre 4 a 8,4% nos grãos arábica e entre 7 a 14,4% nos grãos de café robusta.

Em ordem de abundância nos grãos de café cru, 5-CGA compreendem de 56-62% do total dos ácidos clorogênicos, os isômeros di-cafeiolquínicos correspondem a 15-20%, os ácidos ferruloilquínicos a 5-13% e os isômeros 3-CQA e 4-CQA correspondem a 10%, de acordo com FARAH e DONANGELO (2006).

Considerando a qualidade das bebidas, FARAH et al. (2005) encontraram o maior (aproximadamente 7% b.s.) e o menor (aproximadamente 5,8% b.s.) teores de ácidos clorogênicos para as bebidas de melhor e pior qualidade, respectivamente. Estes pesquisadores atribuíram a baixa qualidade das bebidas à presença de grãos defeituosos

imaturos, sendo que se observou uma forte correlação entre os níveis de 5-CQA e 5-FQA com amostras de bebida de baixa qualidade.

Considerando a imaturidade dos grãos de café, não somente o teor de ácidos clorogênicos totais, mas a composição destes varia consideravelmente durante a maturação do fruto. De acordo com CLIFFORD (1985b) há um aumento do teor de ácidos clorogênicos com a maturidade do fruto, com o máximo do teor sendo alcançado em, aproximadamente, quatro semanas antes do amadurecimento total do fruto. Um aumento sigmoidal no teor de ácidos clorogênicos totais foi inicialmente observado com a maturação do fruto por CLIFFORD e KASI (1987). Há, também, grande quantidade de ácido dicafeoilquínico (diCQA) no grão de café imaturo, que diminui à medida que o fruto amadurece, permanecendo ainda no grão maduro, porém, em pouca quantidade (CLIFFORD, 1985b), sendo que a razão CQA/diCQA aparentemente aumenta com a maturação até a maturação completa do fruto (CLIFFORD e KASI, 1987), provavelmente devido a hidrólise dos ácidos dicafeoilquínicos em monoésteres (FARAH e DONANGELO, 2006). Entretanto, o teor de ácidos clorogênicos começa a diminuir devido à oxidação a partir de certo estágio de maturação (MONTAVÓN et al., 2003), sendo que o grão imaturo arábica apresentou um teor total de ácidos clorogênicos 8,7%, enquanto os grãos muito maduros apresentaram teores menores, aproximadamente 1,3% (FARAH et al., 2005).

Dentre os grãos defeituosos, MAZZAFERA (1999) reportou que o teor do ácido 5-cafeoilquínico e a quantidade de compostos fenólicos solúveis foi aproximadamente 35% maior nos grãos verdes quando comparado aos grãos pretos e verde-pretos. FRANCA et al. (2005a) não encontraram diferenças significativas entre os teores de 5-CQA nos grãos de café sadio, verde e ardido e também observaram que o grão defeituoso preto possui menor teor de 5-CQA quando comparado aos teores encontrados para os grãos sadios. RAMALAKSHIMI et al. (2007) reportou um pequeno aumento no teor de ácido clorogênico total em amostra de bebida de baixa qualidade, com grãos de café defeituosos, em comparação aos teores encontrados em amostras de qualidade, com grãos sadios. De acordo FRANCA e OLIVEIRA (2008), o alto teor de ácidos clorogênicos, principalmente 5-CQA, parece estar associado à presença de grãos imaturos de café.

Os grãos de café crus podem conter outros tipos de compostos fenólicos que não os ácidos clorogênicos como protoantocianidinas (KIYHORA et al., 1999), escopolina (glicosídeos fenólicos que são hidrolisados quando os grãos são atacados por leveduras) e traços de ácido caféico que não excedem 0,05% (CLIFFORD, 1985b), além de pequenas quantidades de ácido ferrúlico, p-coumárico e quínico em suas formas livres (CLIFFORD, 1985b). Este pesquisador também reportou a presença em torno de 1% de fenólicos

glicosilados. A ocorrência de conjugados cinamoil nos grãos cru como o cafeoil triptofano, p-coumaroil-triptofano e cafeiol-tirosina foi também reportado por CLIFFORD (2000). Apesar da maioria das lactonas serem produzidas durante o processamento térmico, FARAH et al. (2005) reportaram a existência destes compostos em grãos de café cru. Os compostos fenólicos, principalmente os ácidos clorogênicos e caféicos, exercem uma ação antioxidante protetora, evitando os predadores e o crescimento microbiano (HOMMA, 2001).

Outros ácidos presentes no grão de café cru são os ácidos málico e cítrico (BALZER, 2001), ácidos alifáticos e ácidos não voláteis, ácido nicotínico (ANDRADE et al., 1998), além do ácido quínico. Grãos de café arábica possuem, em média, 0,55 g/100g de ácido quínico livre, enquanto café robusta possui 0,35 g/100g (BALZER, 2001). Ainda de acordo com o trabalho de BALZER (2001), o grão de café cru arábica possui 0,5% de ácido cítrico, 0,5% de ácido málico, 0,2% de ácido oxálico e 0,4% de ácido tartárico. Os ácidos presentes e suas quantidades no grão cru podem ser indicadores da qualidade final do grão de café torrado, uma vez que a acidez da bebida é considerada um atributo sensorial importante. De acordo com FREITAS (2001), certo nível de acidez é usualmente associado com a melhor qualidade da bebida.

PIMENTA (1995) atribuiu a baixa acidez titulável dos grãos verdes à ausência de mucilagem neste tipo de grão, não havendo, assim, fermentações dos açúcares dessa camada, originando ácidos que poderiam ser difundidos para o interior da semente. MAZZAFERA (1999) não encontrou diferenças significativas entre os valores de pH para os grãos imaturos, preto e verde-preto, entretanto, o menor valor de pH correspondeu aos grãos verdes, indicando a sua maior acidez, aproximadamente 3,5 mL NaOH/g. FRANCA et al. (2005b) concluiu que o valor de pH diminui, isto é, a acidez aumenta, com a perda da qualidade sensorial das bebidas, nas quais há o aumento da ocorrência de grãos defeituosos imaturos e ardidos. RAMALASHMI et al. (2007) também reportaram uma maior acidez em amostras da mistura de grãos defeituosos quando comparada a acidez encontrada para grãos sadios, atribuindo esta diferença à presença de grãos ardidos.

VASCONCELOS et al. (2007) mostraram que o grão ardido possui a maior acidez titulável, provavelmente devido a sua fermentação, e que o grão preto a menor, devido provavelmente a perda (lixiviação ou volatilização) de ácidos durante o contato deste grão com o solo. Estes pesquisadores mostraram que os grãos defeituosos apresentaram maior valor de pH em comparação aos valores encontrados para os grãos sadios, sendo o maior valor encontrado para o grão preto, aproximadamente 6. De acordo com FRANCA

e OLIVEIRA (2008) a maior acidez dos grãos defeituosos ardidos pode estar associada ao processo fermentativo ocorrido.

Os grãos de café crus possuem vários compostos voláteis que se concentram durante o processo de torrefação dos grãos, embora alguns se degradam, diminuindo as suas concentrações. Ácidos, álcoois, aldeídos, alcanos, alquenos, compostos benzênicos, ésteres, furanos, cetonas, lactonas, oxazoles, compostos fenólicos, piridinas, pirazinas, pirróis, compostos sulfurados, tiazóis e tiopernos são as classes mais comuns dos compostos voláteis. De acordo com DART e NURSTEN (1986) as metoxipirazinas, características do grão de café cru são bastante difundidas no reino vegetal e são componentes essenciais para a formação do flavor e aroma. GROSCH (2001) publicou que o principal volátil no café cru é 3-isobutil-2-metioxipirazina.

Considerando os grãos defeituosos, MANCHA AGRESTI et al. (2008) reportaram que somente 5 substâncias foram detectadas nos grãos de café defeituosos e não detectadas em grãos sadios. O grão ardido apresentou a maior quantidade de substâncias não detectadas nos grãos sadios, seguido pelos grãos defeituosos pretos e verdes. Ainda de acordo com estes pesquisadores, pirazinas e pirróis foram detectados em grandes quantidades em grãos ardidos e pretos em comparação às quantidades detectadas nos grãos verdes.

A discriminação de grãos de café sadios dos defeituosos, antes da torração, tem sido objeto de estudos de pesquisadores brasileiros (MAZZAFERA, 1999, MENDONÇA et al., 2003, OLIVEIRA et al., 2005, FRANCA et al., 2005a, VASCONCELOS et al., 2007). Apesar da discriminação dos grãos de café cru ser eficiente considerando a cor e o tamanho dos grãos, ela não é seletiva considerando os grãos imaturos e sadios, o que justifica os esforços dispensados neste trabalho.

Dentre os atributos químicos, o teor de histamina e acidez titulável são parâmetros associados à presença de grãos defeituosos, porém os resultados ainda não são conclusivos para discriminar os grãos de café cru por tipo. O teor de histamina é associado à bebidas de qualidade inferior, indicando que possivelmente a detecção de histamina pode ser associado à presença de grãos defeituosos (OLIVEIRA et al., 2005, VASCONCELOS et al., 2007). A acidez titulável tende a aumentar, com a queda da qualidade da bebida, associada à presença de grãos defeituosos fermentados. Entretanto não foram reportadas diferenças significativas entre os valores encontrados para estes parâmetros e uma associação com o tipo de grão e/ou espécie.

A espectrometria de massas com ionização por electrospray foi avaliada neste trabalho como técnica analítica capaz de discriminar os grãos de café por espécie e/ou

por tipo. Considerou-se o padrão de grãos defeituosos dos grãos robusta, também proposto neste trabalho. Foi avaliada também a possibilidade de identificação de compostos químicos identificadores de uma espécie e ou tipo de grãos, o que possibilitaria o desenvolvimento de técnicas analíticas específicas para o controle de qualidade do café cru.

3.3.2 – GRÃOS TORRADOS

O processo de torrefação promove inúmeras reações responsáveis pelas alterações físicas e químicas no grão de café. Estas alterações, que afetam e determinam os atributos sensoriais do grão torrado, dependem da origem e tipo do grão de café cru, das condições (tempo e temperatura) e grau de torrefação e do resfriamento dos grãos torrados (SIVETZ e DESROSIER, 1979).

As alterações físicas mais evidentes são a alterações da cor da superfície do grão de café e o significativo aumento do seu volume. De acordo com a literatura consultada, o tom verde-acinzentado é substituído pelo marrom claro para torrefação suave até quase preto para a torrefação forte e, o aumento do volume do grão de café está entre 50 a 100% do seu volume antes do processamento térmico.

Nos grãos de café defeituosos, a torrefação também promove o decréscimo da luminosidade e saturação da cor da superfície dos grãos. FRANCA et al (2005a) e VASCONCELOS (2005) encontraram resultados semelhantes ao avaliar os parâmetros de cor nos grãos de café sadios e defeituosos, antes e após o processo de torrefação. Os grãos de café defeituosos ardido e preto continuam apresentando valores de luminosidades menores do que os apresentados pelos grãos verdes, e maiores que os grãos sadios, indicando que estes últimos torram mais do que os defeituosos. Ressalta-se que, com a moagem dos grãos torrados, a luminosidade dos grãos ardido e preto aumentou em comparação a luminosidade dos demais tipos de grãos de café. A saturação da cor também é diminuída com o processo de torrefação, exceto para o grão preto, que também apresentou o maior valor para a tonalidade da cor (esverdeada), enquanto os outros grãos de café tornaram-se amarronzados.

O aumento progressivo do volume dos grãos, incluindo a fase do “estouro”, é a principal alteração física provocada pelo processo de torrefação. Os grãos expandem-se devido ao aumento da pressão interna dos gases, devido à produção de gás carbônico, que com o aumento da temperatura contribuem para a formação de poros internos ou

bolsões de ar. Nas temperaturas típicas de torrefação, o grão é aquecido a temperaturas abaixo de sua temperatura de transição vítrea e torna-se flexível, possibilitando a expansão da estrutura, com o aumento da pressão. Quando os grãos de café são resfriados à temperatura ambiente, a estrutura do grão alcança uma temperatura abaixo da temperatura da vítrea tornando o grão de café quebradiço, mas ainda com poros internos com área suficiente para o gás carbônico permanecer preso ou ser absorvido (ANDERSON et al., 2003). De acordo com SIVETZ e DESROSIER (1979) cerca de metade do dióxido de carbono produzido fica retido no grão. Após torrefação moderada, a proporção de vazios em um grão de café é de 47% enquanto no grão de café cru esta proporção é nula (SIVETZ e DESROSIER, 1979). MASSINI et al. (1990) reportaram que as mudanças estruturais no grão de café durante a torrefação como o aumento do número e tamanho das cavidades internas, o tamanho da dilatação e a perda de massa e densidade estão intimamente relacionadas com a quantidade de gás carbônico liberado.

Dentre as espécies de café, CLARKE e MACRAE (1985) reportaram que o grão torrado da espécie robusta contém mais dióxido de carbono do que o torrado da espécie arábica, principalmente devido ao seu maior teor de carboidratos. O grau de torra também é importante, uma torra escura contém mais CO₂ inicialmente do que a mais clara. SCHENKER et al. (2000) mediu o tamanho do poro no grão de café torrado utilizando um porosímetro de mercúrio e encontrou que a maioria dos poros possuía diâmetros entre 10 a 50nm, e que os poros eram maiores quando formados em torras com temperaturas mais elevadas, quando comparado com poros obtidos em torras com temperaturas inferiores.

Avaliando o volume dos grãos de café defeituosos antes e após o processo de torrefação, FRANCA et al. (2005a) mostraram que os volumes dos grãos defeituosos sofrem menores (35-41%) alterações quando comparados à alteração do volume dos grãos sadios (65%), e que dentre os grãos defeituosos, os grãos pretos sofreram a menor variação de volume com o processo de torrefação, aproximadamente 40%. Estes resultados foram associados ao fato de que estes grãos torram mais lentamente (CLARKE, 1987a), fato corroborado também pelos dados apresentados de perda de massa por FRANCA et al. (2005a).

Considerando amostras de café de diferentes qualidades sensoriais, BORGES et al. (2004a) e FRANCA et al. (2005b) mostraram que o volume dos grãos de café aumenta no decorrer do processo de torrefação, sendo este aumento mais pronunciado no início das reações de pirólise. Esta variação no volume dos grãos é refletida tanto na densidade dos grãos individuais como na densidade granular. As densidades dos grãos de café

diminuem consideravelmente com o processo de torrefação, devido à perda simultânea de massa volátil e aumento do volume dos grãos (DUTRA et al., 2001; RODRIGUES et al., 2003, BORGES et al., 2004a; FRANCA et al., 2005b). A porcentagem de redução é dependente do grau de torração, sendo entre 45 a 60%, entre as torras clara e escura, respectivamente (SIVETZ e DESROZIER, 1971; CLARKE, 1987a; DUTRA et al., 2001).

FRANCA et al. (2005a) mostraram a porcentagem de redução da densidade dos grãos de café também é dependente do tipo de grão torrado, uma vez que o grão defeituoso preto foi o que apresentou o maior valor de densidade em comparação aos grãos de café sadios. Este grão de café defeituoso apresentou o menor aumento de volume e um decréscimo de 32% na densidade granular, enquanto os grãos sadios aumentaram o volume em, aproximadamente 65% com um decréscimo correspondente de 45% para a densidade granular.

A perda de massa nos grãos de café é comumente utilizada para monitorar o processo de torrefação dos grãos de café, sendo que este parâmetro pode ser empregado para determinar o grau de torra (CLARKE, 1987a). BORGES et al. (2004a) reportaram que a perda de massa dos grãos de café está associada à qualidade dos grãos, uma vez que observaram uma perda de massa menor nos grãos de café de qualidade de bebida inferior, indicando que possivelmente estes grãos torram menos.

Avaliando a perda de massa dos grãos de café defeituosos, é consenso na literatura (FRANCA et al., 2005a; VASCONCELOS et al., 2007 e MANCHA AGRESTI et al., 2008) que os grãos de café sadios apresentam uma perda de massa maior do que os grãos defeituosos. Dentre os grãos defeituosos, o grão verde apresenta a maior perda de massa, seguido dos grãos ardido e preto.

Com o processo de torrefação, a luminosidade dos grãos de café diminui. Os resultados publicados por FRANCA et al. (2005a) mostram que a superfície dos grãos ardidos e pretos são menos luminosas que a dos grãos verde e sadio, e com diferença neste parâmetro de cor após a moagem somente para os grãos ardido e preto torrados. Esta diferença indica que os grãos ardidos e pretos foram menos torrados que os grãos verdes e sadios, para os quais não foram encontradas diferenças significativas entre as luminosidades dos grãos inteiros e moídos (FRANCA et al., 2005a).

A formação do aroma do café torrado é um processo complexo que inclui reações de Maillard e Strecker e degradações térmicas (De MARIA et al, 1994). Quantitativamente, as maiores alterações são descritas para os ácidos clorogênicos, sacarose (TRUGO e MACRAE, 1984), trigonelina (CASAL et al., 2000) e aminoácidos (CLARKE e MACRAE, 1985). Assim são produzidos os compostos característicos do

flavor do café torrado, incluindo, furanos, pirazinas, alquil-pirazinas e pirróis (CLIFFORD, 1985a; DART e NURSTEN, 1985; De MARIA et al., 1996). Outros precursores como ácidos clorogênicos e cafeína aumentam o amargor e acidez, através da degradação em compostos fenólicos. Apesar das drásticas mudanças químicas no grão de café com o processo de torrefação, qualitativamente, a composição química centesimal dos grãos de café permanece a mesma, exceto para o teor de umidade, uma vez que as mudanças ocorrem em cada classe de compostos especificamente (FRANCA e OLIVEIRA, 2008).

Considerando os grãos de café defeituosos, este comportamento qualitativo também foi observado, como mostram os dados compilados por FRANCA e OLIVEIRA (2008) e apresentados na Tabela 8. Assim, a influência do processo de torrefação será discutida em cada classe dos compostos.

Tabela 8 – Composição centesimal dos grãos de café defeituosos cru e torrado

Constituintes	Preto	Verde	Ardido	Sadio
	Cru			
Água	9-13	9-10	8-10	9-12
Proteína	16-17	15	15-16	14-15
Lípides	8-10	10	8-9	10-11
Cinzas	6	5-6	5-6	5
Carboidratos	59-70	62-70	61-71	60-72
	Torrado			
Água	1	1-2	1	1
Proteína	14-16	13-15	14-15	13-14
Lípides	10-12	9-11	10-12	9-11
Cinzas	6	5	5	4-5
Carboidratos	66-69	68-71	67-71	68-73

Imediatamente após a torra, o teor de umidade pode estar próximo de zero, especialmente para torras escuras (CLARKE, 1985). Entretanto, os teores de umidade do grão podem aumentar até 3% considerando que os grãos de café torrados absorvem água do ambiente. PITTIA et al. (2001) reportaram os teores médios de umidade de 1,38% e 1,16% para os grãos de café arábica e robusta, respectivamente, submetidos a

uma torra a 105 °C. Estes pesquisadores também mostraram que o teor de umidade nos grãos torrados é dependente das condições de processamento.

Considerando os grãos de café defeituosos, OLIVEIRA et al. (2006) reportaram que o teor de umidade dos grãos diminui com o grau de torra, sem diferença significativa entre os grãos sadios e defeituosos. Avaliando o teor de umidade e atividade de água em grãos de café defeituosos e sadios submetidos à torra clara, média e escura, VASCONCELOS et al. (2007) também reportaram que o teor de umidade e a atividade de água dos grãos diminuem com o grau de torra, sem diferença significativa entre os grãos defeituosos e sadios.

Da fração de carboidratos de baixo peso molecular, a sacarose é o mais importante precursor do aroma e sabor do café torrado (ALCAZAR et al., 2005; FARAH et al., 2006). Quanto maior o teor de sacarose no grão cru melhor será a qualidade da bebida (KY et al., 2000). Com a torrefação dos grãos de café, a sacarose é rapidamente degradada em furanos, sendo este composto o mais importante precursor do flavor do café (CLIFFORD, 1985a; DART e NURSTEN 1985; De MARIA et al., 1994; De MARIA et al., 1996; FARAH et al., 2006). Ainda de acordo com estes pesquisadores, a sacarose também reage com aminoácidos, durante a torrefação, produzindo pirazinas e compostos carbonílicos que também contribuem para o flavor do café torrado. A degradação dos monossacarídeos, decorrente da torrefação dos grãos de café é uma das complexas reações que ocorrem para a formação do aroma e sabor do café torrado (De MARIA et al., 1996), sendo que as reações de desidratação e polimerização são comuns, originando materiais de alto peso molecular solúveis ou não em água. FARAH et al. (2006) reportaram uma degradação da sacarose de 98% durante o processo de torrefação, considerando grãos de café sadios.

Outros açúcares de baixo peso molecular como glicose, frutose, rafinose, stachyose, arabinose, ribose, manose, galactose e rhamose também podem reagir com os aminoácidos ou serem degradados durante o processo da torrefação. OOSTERVELD et al. (2003a,b) e FISCHER et al. (2001) mostraram que durante a torração 20-37% dos carboidratos presentes no grão de café cru são convertidos em produtos de degradação, dependendo do grau da torrefação, sendo que o processo de torrefação altera significativamente a composição dos açúcares do grão de café (OOSTERVELD et al., 2003 a,b). Os produtos da hidrólise da sacarose, glicose e frutose, são formados na torrefação, sendo estes açúcares redutores degradados termicamente. Desta forma, as quantidades destes açúcares no café torrado são mínimas. NOYES e CHU (1993) encontraram 0,1% de açúcares como média para uma amostra de 21 blends (arábica/robusta) torrados brasileiros, sendo que a maior parte destes açúcares é

sacarose (0,08%). A sacarose, mesmo sendo significativamente degradada na torrefação, permanece nos grãos torrados em 0,4 a 2,8% base seca (b.s.) (ROGERS et al., 1999), contribuindo para a doçura da bebida.

Há poucas informações sobre a influência do grau de torração na quantidade de sacarose nos grãos defeituosos na literatura. Os resultados de FRANCA et al. (2005a) evidenciaram que os grãos pretos e ardidos torram menos que os demais grãos, nas mesmas condições de torração. Desta forma, espera-se que as quantidades relativas de sacarose nos grãos defeituosos pretos e ardidos sejam diferentes em relação à dos demais grãos. Recentemente, VASCONCELOS et al. (2007) mostraram que traços de sacarose foram detectados em grãos de café defeituosos levemente torrados.

A torrefação dos grãos de café provoca grandes mudanças nas quantidades e nas estruturas conformacionais dos polissacarídeos solúveis em água. De acordo com REDGWELL et al. (2002a), a degradação térmica durante a torrefação implica em os carboidratos serem destruídos ou quimicamente modificados, facilitando a extração aquosa destes, em parte, também devido a mudanças na microestrutura do grão. De acordo com OOSTERVELD et al. (2003a) a solubilização dos polissacarídeos é dependente do grau de torrefação.

Quanto à degradação térmica, no café submetido a uma torração leve, 12-24 % dos polissacarídeos são degradados, enquanto que 35-40 % são degradados considerando a torração severa (REDGWELL et al., 2002a). A degradação do arabinogalactano, manano e celulose apresentaram valores de 60 %, 36 % e 0 % (REDGWELL et al., 2002a,b).

A composição glicosídica dos polissacarídeos, solúveis em água quente, presentes em café torrado brasileiro, com uma perda de massa de 8,7%, é 68% de galactomanano, 30% de arabinogalactano e 2% de celulose (NUNES e COIMBRA, 2001a). De acordo com OOSTERVELD et al. (2003a), a fração de polissacarídeos solúveis extraídos do café torrado, contém principalmente manose (39% mol), galactose (38% mol), arabinose (13% mol) e ácido galacturônico (7%mol). Estudos mostraram que os arabinogalactanos são particularmente susceptíveis, enquanto que os mananos são degradados moderadamente (OOSTERVELD et al., 2003a). TRUGO (1985) mostrou que a arabinose é progressivamente destruída na torrefação, sendo o arabinogalactano presente no extrato aquoso do café torrado menos ramificado que o presente no extrato aquosos do grão cru (NUNES e COIMBRA, 2001a). De acordo com OOSTERVELD et al. (2003a) a manose é o açúcar menos sensível à degradação térmica, sendo 5% degradada considerando uma torra leve e 28% considerando uma torra severa. Ainda de acordo com estes pesquisadores, quase toda a galactose é degradada na torrefação, indicando que a

composição dos arabinogalactanos no grão de café varia significativamente com o grau de torrefação.

Todos os extratos obtidos a partir do café torrado apresentam cor marrom, indicando que alguns componentes são provenientes das reações de Maillard ou caramelização dos açúcares. A formação dos produtos da reação de Maillard é bem conhecida, mas a extensão da ligação covalente dos polissacarídeos no café com a melanoidina ou proteínas ainda não está clara (REDGWELL et al. 2002a,b).

A degradação dos lipídios durante o processo de torrefação é relativamente pequena. De acordo com DART e NURSTEN (1989), uma pequena quantidade do óleo é utilizada na produção de compostos voláteis e a outra parte parcialmente quebrada. Com o aquecimento e na presença de ácidos, os óleos do café se hidrolisam a glicerol e ácidos graxos. Os ácidos graxos possuem cadeia curta e sofrem volatilização parcial, reduzem a superfície de tensão dos cafés, evitando a formação de espumas na bebida. Entretanto, sabe-se que os lípidos atuam como protetores de substâncias aromáticas, sendo, por isso, desaconselhável o uso da torrefação escura, que promove a exudação de óleo do grão, com conseqüente perda de aroma.

Após a torração, o teor de lípidos sofre um pequeno decréscimo, em base seca do grão cru, nos grãos de café sadios, enquanto permanece inalterado nos grãos de café defeituosos, sem diferenças significativas (OLIVEIRA et al., 2006). VASCONCELOS et al. (2007) reportaram um pequeno aumento no teor de lípidos nos grãos defeituosos preto e ardido, podendo estar associado à formação de substâncias durante a torra solúveis em óleo. Estes resultados corroboram a observação de que os grãos de café defeituosos torram menos do que os grãos de café sadios, todos sob as mesmas condições de processamento (FRANCA et al., 2005a).

Ressalta-se que grande parte dos dados presentes na literatura normalmente consideram um significativo aumento no teor de lípidos no grão de café torrado. Entretanto, de acordo com FOLSTAR (1985), estes resultados podem ser associados a base em que os resultados são expressos, a base seca do grão torrado, que não considera toda a perda de massa característica do tipo de grão torrado.

De acordo com OLIVEIRA et al. (2008), o processo de torrefação não alterou significativamente o perfil de ácidos graxos nos grãos de café sadios e defeituosos. Os ácidos linoléico e palmítico permanecem como os aminoácidos mais abundantes no grão de café torrado. Foram detectadas quantidades moderadas dos ácidos oléico e esteárico e baixas quantidades dos ácidos araquídico, linolênico, berrênico e eicosenoico.

SABBAGH e YOKOMIZO (1976) verificaram que os minerais sofrem um ligeiro aumento com a torração nos grãos de café arábica e robusta, tendo seus valores relativamente constantes com o aumento do grau de torra. Segundo CLARKE (1985) o conteúdo de cinzas em amostras de café torrado é dependente da perda de massa do grão e o pequeno aumento no teor de cinzas no grão de café torrado pode ser associado à perda de massa inerente ao processo de torração. Não é esperada a perda de constituintes minerais durante a torra, exceto para enxofre e fósforo.

O teor de minerais é pouco alterado nos grãos defeituosos após a torração destes. OLIVEIRA et al. (2006) e VASCONCELOS et al. (2007) observaram um leve aumento no teor de minerais nos grãos ardidos torrados, sem diferenças significativas entre as demais amostras torradas.

As proteínas são insolubilizadas durante a torrefação dos grãos de café e os aminoácidos completamente consumidos. O flavor do café torrado é devido provavelmente à grande quebra e interações dos aminoácidos derivados destas proteínas. Sob condições térmicas da torração, os aminoácidos são parcialmente racemizados (CASAL et al., 2005), não sendo encontradas diferenças entre as porcentagens médias racemizadas nos grãos de café arábica e robusta. Segundo estes pesquisadores, as análises de aminoácidos presentes nos grãos torrados após hidrólise ácida indicam diminuição em lisina, metiolina e histamina quando comparada aos teores dos respectivos aminoácidos na mesma amostra de grão cru para ambas as espécies.

O teor de proteína nos grãos defeituosos não varia muito com a torrefação (OLIVEIRA et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2007). Entretanto, considerando a correção equivalente ao nitrogênio da cafeína e trigonelina, os resultados de OLIVEIRA et al. (2006) mostraram que o processo de torrefação diminuiu o teor de proteínas nos grãos defeituosos.

Avaliando as aminas nos grãos de café torrados, AMORIM et al. (1977) reportaram que somente pequenas quantidades de putrescina foram detectadas após dez minutos de torra, sendo que nenhuma amina esteve presente após doze minutos de torra. Mas, de acordo com CIRILO et al. (2003) a agmatina é formada durante a torração dos grãos de café. Entretanto, putrescina e espermina, detectadas nos grãos de café cru, não foram detectadas em grãos torrados, sugerindo que ambas foram decompostas termicamente. Foram observadas também as reduções dos teores de espermidina e serotonina.

OLIVEIRA et al. (2005) avaliaram o efeito da torração sob os teores de aminas em amostras de café de qualidades sensoriais diferenciadas e os resultados mostraram um decréscimo significativo no teor de aminas em função do tempo de torração. Baseado nos

dados de perda de massa monitorados durante o processamento e os dados disponíveis na literatura (AMORIN et al., 1977 e CIRILO et al., 2003) estes autores concluíram que a degradação das aminas ocorre principalmente no estágio de secagem do processo de torrefação.

VASCONCELOS et al. (2007) avaliaram a presença de aminas em grãos de café defeituosos e sadios submetidos a torras clara, média e escura. Somente traços de serotonina foram detectados e nenhuma amina foi detectada nas torras média e escura. Estes resultados estão de acordo com os publicados por OLIVEIRA et al. (2005) e corroboram com a hipótese da degradação das aminas antes da etapa de pirólise, no processo de torração.

A trigonelina sofre rápida degradação produzindo uma grande variedade de compostos, principalmente piridinas e pirróis, característicos do grão de café torrado. Cerca de 50 a 80% da trigonelina é decomposta com o processo de torrefação, sendo que o remanescente desse composto no grão pode influenciar no sabor amargo da bebida, quando extraído no preparo da infusão (CLARKE, 1985). A degradação da trigonelina é a principal fonte do ácido nicotínico, uma importante vitamina para o ser humano. Considerando o teor deste ácido no café torrado e sua disponibilidade na bebida, o café apresenta-se uma fonte importante desta vitamina (CLARKE e MACRAE, 1985).

Considerando uma torra escura, a degradação média da trigonelina nos grãos de café foi de 90%, sendo que o teor de trigonelina presente no grão torrado não possui correlação significativa com a qualidade das bebidas (FARAH et al., 2006). Considerando os grãos de café defeituosos, MENDONCA et al. (2003) e FRANCA et al. (2005a) mostraram que os níveis de trigonelina diminuíram nos grãos defeituosos durante o processo de torrefação. Nos grãos pretos a degradação deste parâmetro foi menor quando comparada às dos demais grãos defeituosos, todos submetidos às mesmas condições de torrefação, indicando que os grãos defeituosos pretos atingiram um grau de torra menor (FRANCA et al., 2005a).

DUTRA et al. (2001) detectaram cafeína nos gases de exaustão do processo de torrefação, indicando que este composto solubilizou no vapor d'água. Entretanto, BORGES et al., (2004b) afirmaram que a cafeína não sofre grandes alterações com o processo de torrefação, sendo observado uma tendência à diminuição da concentração deste composto durante a fase da pirólise. Esta diminuição pode ser atribuída ao arraste deste composto pelos gases de torrefação, por apresentar uma alta solubilidade em vapor d'água. A cafeína não é sublimada, pois as condições de elevada pressão durante a torra são desfavoráveis a tal processo. Posteriormente, FARAH et al. (2006) observaram que a

torrefação não afetou significativamente o teor de cafeína nas amostras de café classificadas pela prova de xícara, sendo observado um pequeno aumento devido à perda de massa de outros componentes.

Os ácidos clorogênicos (5-CQA) degradam-se termicamente, produzindo lactonas e outros derivados, diretamente com o grau de torra. De acordo com FARAH et al. (2005) as lactonas são formadas a partir dos ácidos clorogênicos após uma perda de massa de 6 a 7% durante o processo de torrefação. Em torno de 7% dos ácidos clorogênicos nos grãos de café arábica e 5,5% nos grãos robusta parecem ser degradados em 1,5- γ -quinolatonas durante a torrefação do grão (FARAH e DONANGELO, 2006). Ainda de acordo com estes autores, é esperado que 3-cafeiolquínico-1-5-lactona (3-CQL) e 4-cafeiolquínico-1-5-lactona (4-CQL) sejam as maiores lactonas encontradas no grão torrado, sendo maiores seus teores nos grãos robusta do que nos grãos de café arábica. Lactonas formadas a partir dos ácidos FQA, diCQA e p-CoQA, nesta ordem decrescente, também foram identificadas em grãos de café torrados (FARAH et al., 2005).

De acordo com CLIFFORD (1985b), numa torração com perda de massa igual a 1% (b.s.), a degradação dos ácidos clorogênicos é de 8 a 10% do teor original. De acordo com FARAH e DONANGELO (2006) nos grãos torrados arábica os ácidos clorogênicos estão em torno de 2,15 a 3,23(% b.s.) e no grão robusta 2,76 (%b.s.).

Ainda segundo CLIFFORD (1985b), parte destes ácidos destruídos é perdida nos gases de torrefação, outra é incorporada nas estruturas das melanoidinas ou formam o ácido quínico e fenóis livres. O ácido quínico formado pela degradação dos ácidos clorogênicos também pode ser degradado em catecol, quinol e pirogalol. Os ácidos clorogênicos são hidrolizados a ácidos quínico e caféico, e então, produzem os compostos fenólicos voláteis de acordo com HOMMA (2001). De acordo com BALZER (2001) o teor de ácido quínico nos grãos de café torrados aumentam com o grau de torra e proporcionalmente com o teor de sua lactona correspondente. Ressalta-se que a degradação do ácido quínico nos grãos de café robusta é maior do que a dos grãos arábica, sendo que a diferença existente entre os teores deste ácido nos grãos crus é então diminuída com a torração (BALZER, 2001).

De acordo com a literatura (FARAH e DONANGELO, 2006) os níveis dos ácidos clorogênicos substituídos na posição 5- com o ácido quínico diminuem substancialmente enquanto todos os outros substituintes nas posições 3- e 4- aumentam, em alguns casos, quase que o dobro de seus níveis iniciais. Os ácidos dicafeiolquínico podem ser parcialmente hidrolizados a monoésteres e ácido caféico e posteriormente a vários compostos fenólicos simples (MOREIRA et al., 2000).

As melanoidinas, produzidas via reação de Maillard, são um dos maiores componentes do café torrado, contribuindo muito para toda a atividade antioxidante através de diferentes mecanismos (ILLY e VIANI, 1995). De acordo com YANAGIMOTO et al. (2004), as melanoidinas produzidas via reação de Maillard inibem significativamente a oxidação lipídica.

Há muitos compostos antioxidantes no café torrado, cada um com características diferenciadas. De acordo com PARRAS et al. (2007), a torração aumenta a capacidade antioxidante do café em 25%, aproximadamente, e a diferença entre a atividade antioxidante em função das espécies de café observada por alguns autores é provavelmente devido à diferença do teor de compostos fenólicos e às diferentes taxas que estes compostos são degradados durante a torração, com a sucessiva formação de compostos antioxidantes. Entretanto, RICHELLE et al. (2001) não observaram diferenças entre as atividades antioxidantes dos grãos de café torrados das espécies arábica e robusta, mesmo os grãos da espécie robusta apresentando o dobro da atividade antioxidante dos grãos de café arábica cru.

Os ácidos clorogênicos apresentam efeitos benéficos em relação à saúde. Estes compostos são esterificados com açúcares e lípidos, sofrem hidrólise no trato gastrointestinal via enzimática ou bacteriológica, tornando, por exemplo, o ácido caféico disponível (KIYOHARA et al., 1999). Estima-se que cerca de 64% da necessidade diária humana de ingestão de compostos antioxidantes é suprida com um consumo de 4 a 5 copos de café por dia (SVILLAS et al., 2004). PARRAS et al. (2006) avaliou a atividade antioxidante da bebida café obtida de três maneiras diferenciadas, expresso, filtrado e italiano, e reportou que todas as bebidas apresentaram boas características antioxidantes.

FRANCA et al. (2005b) observaram um decréscimo na concentração do 5-ACQ com o processo de torrefação, independente da qualidade da bebida, e uma pequena variação entre as amostras analisadas, sem correlação com a qualidade da bebida. FARAH et al. (2005) mostraram que a perda média total dos ácidos clorogênicos durante o processo de torrefação foi de 93%, considerando uma torra escura e que as correlações entre os teores de CQA e FQA com a qualidade da bebida tornaram-se menos significativas com a torrefação dos grãos.

Dentre os grãos defeituosos, MAZZAFERA (1999) reportou que a degradação dos ácidos clorogênicos é menor nos grãos defeituosos pretos. Recentemente, RAMALAKSHMI et al. (2007) reportaram um leve aumento no teor de ácidos clorogênicos em amostra de café de baixa qualidade, mistura de grãos defeituosos, em comparação aos valores encontrados para amostras de grãos sadios.

Com o processo de torrefação, o nível de acidez é significativamente diminuído (50-60%), sendo a acidez do café torrado associada ao grau de torra. Dependendo do tipo do grão de café e da temperatura final de torrefação, pode-se ter uma degradação de 33-56% do ácido cítrico e 16-40% de ácido maléico. A decomposição destes ácidos bem como a de ácidos fenólicos é compensada pela formação de ácidos voláteis como ácidos fórmico e acético.

De acordo com FRANCA et al. (2001) a formação e degradação de ácidos durante a torrefação proporcionam uma diminuição e um posterior aumento de pH ao longo do processo, com os maiores valores correspondendo às amostras de pior qualidade da bebida. Na fase de secagem dos grãos, o pH apresenta valores praticamente constantes. O ácido quínico, encontrado em traços nos extratos do grão de café cru, tem sua quantidade aumentada durante a torrefação devido à decomposição dos ácidos clorogênicos (LENTNER e DEATHERAGE, 1959).

Avaliando as propriedades físico-químicas dos grãos defeituosos em função da torrefação, VASCONCELOS et al. (2007) observaram que este processamento diminui a acidez titulável dos grãos defeituosos, sem diferenças significativas entre as amostras; e que o pH dos grãos defeituosos é maior do que o dos grãos sadios, antes e após a torrefação. O maior valor de pH foi observado para o grão preto (VASCONCELOS et al., 2007).

MANCHA AGRESTI et al. (2008) avaliaram o perfil de compostos voláteis em grãos de café arábica torrados, em três graus de torração. Os resultados encontrados por estes pesquisadores mostraram que a micro-extração por fase sólida acoplada a cromatografia gasosa com detector de massas foi adequada para extração, concentração e análise dos perfis de voláteis. Os resultados também mostraram que os perfis de compostos voláteis são capazes de discriminar os grãos torrados sadios dos defeituosos, e que os grãos ardido e preto podem estar associados à fermentação dos grãos imaturos e sadios, respectivamente.

Considerando a possibilidade de discriminação dos grãos de café torrados por tipo de grãos defeituosos são escassos os estudos sobre métodos analíticas eficientes nesta discriminação, além da detecção e quantificação de grãos de café defeituosos em café torrado. Entretanto, a discriminação dos grãos de café torrados por espécie tem sido avaliado por PIZARRO et al., 2007, ESTEBAN-DIEZ et al. (2007), DOWNEY et al.(1997), KEMSLEY et al. (1995) utilizando a técnica de espectroscopia por infra-vermelho.

Apesar do relativo sucesso reportado pelos estudos citados na discriminação dos grãos de café por espécie, ressalta-se que muitos destes métodos analíticos utilizados

podem ser considerados caros, elaborados e/ou consomem tempo em demasia, por exemplo, com a preparação da amostra. O tratamento dos dados analíticos em demasia, para a retirada de possíveis respostas indesejadas e interferências antes do tratamento estatístico contribui para a complexidade analítica. A identificação de compostos possivelmente discriminantes entre as espécies no modelo de classificação desenvolvido deve consumir o mínimo de tempo possível, o que exige rapidez no método analítico e no tratamento dos dados obtidos.

A espectrometria de massas com ionização por electrospray foi considerada uma opção analítica para avaliar a possibilidade de discriminação dos grãos torrados por espécie e por tipo de grão defeituoso, apesar de ser uma técnica onerosa, que envolve altos investimentos iniciais, além dos custos de operação e manutenção do equipamento. Considerando a injeção direta de extratos aquosos dos grãos de café torrados não há dados disponíveis na literatura. Então, é clara a necessidade de avaliar a espectrometria de massas com ionização por electrospray como ferramenta analítica capaz de discriminar os grãos de café torrados sadios dos defeituosos e por espécie, associada à quimiometria, sendo uma realidade a adição intencional de grãos defeituosos e grãos robusta, em “blends” de grãos arábica.

3.4 – ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A espectrometria de massas é uma técnica analítica poderosa e eficiente. Pode ser utilizada para identificar e obter informações sobre a massa molar de compostos inorgânicos, orgânicos e biológicos desconhecidos, quantificar materiais conhecidos em misturas complexas, obter composição quantitativa de misturas complexas e elucidar as propriedades químicas e estruturais das moléculas conhecidas e desconhecidas. A detecção de compostos pode ser conseguida em quantidades muito baixas, mesmo em misturas quimicamente complexas. O desenvolvimento tecnológico na espectrometria de massas tem contribuído significativamente para o desenvolvimento de técnicas analíticas de novos compostos orgânicos, principalmente biomoléculas.

Os princípios científicos básicos desta técnica são simples e podem ser resumidos como a detecção de espécies eletricamente carregadas geradas em uma fonte de ionização e/ou fragmentação. A medida da relação massa/carga (m/z) é o fundamento principal desta técnica. Este fundamento advém dos trabalhos de Faraday, Thomson e Milikan a respeito da natureza das partículas e datam do século XIX. O controle da trajetória dos íons em fase gasosa, uma vez que os íons podem ser manipulados através do uso de campos elétricos e magnéticos, é a base da espectrometria de massa. As diferenças entre os métodos analíticos são atribuídas às fontes de ionização/fragmentação e ao modo de analisar os íons (analisadores de massas). Algumas técnicas de ionização são muito energéticas, causando fragmentação extensiva, enquanto outras técnicas são consideradas suaves, produzindo somente compostos moleculares.

Existem diversos tipos de espectrômetros de massa, cada qual com suas vantagens e desvantagens. O objetivo básico de um espectrômetro de massa é mensurar a relação massa/carga (m/z), mas também têm sido capazes, por exemplo, de medir a energia cinética dos íons ou aprisioná-los por longos intervalos de tempo. Didaticamente, um espectrômetro pode ser entendido como um instrumento contendo uma fonte de íons, um filtro de massas (m/z) e um detector (MORAES e LAGO, 2003). De acordo com SIUZDAK (1996) uma analogia pode ser feita entre um espectrômetro de massa e um ótico. Neste último, a luz é separada em vários comprimentos de onda por um prisma e então detectada por um receptor ótico, por exemplo, nossos olhos. Analogamente, um espectrômetro de massas contém uma fonte de íons, um analisador de massa que separa

os íons de acordo com os seus m/z e um detector de íons. Os componentes básicos de um espectrômetro de massas são apresentados na Figura 11.

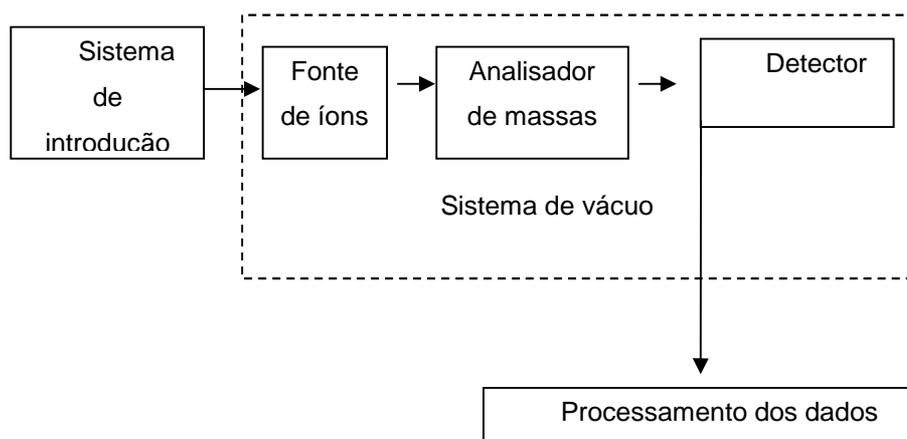


FIGURA 11 – Componentes básicos de um espectrômetro de massas

A amostra é introduzida dentro do instrumento e então ionizada e fragmentada na fonte de ionização. As moléculas carregadas são então eletrostaticamente direcionadas para o filtro que separa os íons de acordo com sua relação massa/carga (m/z). O sinal detectado é então transferido ao computador, que armazena e processa as informações coletadas na forma de um espectro de massas. Chama-se espectro de massas o gráfico no qual são mostradas as intensidades relativas dos sinais correspondentes aos vários valores de m/z registrados. Desta forma, a partir do valor de m/z , consegue-se estimar ou obter o valor exato da massa molar de uma substância (SIUZDAK,1996). Quase todas as substâncias podem ser analisadas por espectrometria de massa, uma vez que já existem diversos tipos de fontes de ionização, analisadores de massa e detectores.

O local de introdução da amostra é a interface entre a amostra e o espectrômetro de massas. A amostra para ser analisada por espectrometria de massas pode ser introduzida através de colunas capilares ou diretamente no equipamento. A introdução da amostra pelo método direto envolve um procedimento simplificado. A amostra é colocada numa sonda metálica ou seringa específica que é acoplada a um capilar. Desta forma, a amostra é lentamente inserida diretamente no equipamento. A infusão direta da amostra através do capilar é freqüentemente utilizada para introduzir eficientemente pequenas quantidades de amostra no equipamento sem destruir o vácuo (SIUZDAK,1996). A amostra então inserida passa pelo vácuo e chega à fonte de ionização.

As colunas capilares são também utilizadas para a infusão da amostra dentro do espectrômetro de massas. Estas são utilizadas em conjunto com técnicas de separação cromatográfica, como a cromatografia gasosa ou líquida, e a espectrometria de massas é utilizada como detector. Desta forma, informações extras são obtidas para a identificação da amostra, uma vez que, há a separação da amostra em diferentes componentes antes da análise de massas. A possibilidade deste acoplamento tem se mostrado uma outra grande vantagem da espectrometria de massas com relação a outras técnicas analíticas.

A função da fonte é fornecer íons moleculares, positivos ou negativos, que são direcionados através de um campo elétrico para o analisador de massas. Existem muitos tipos de fontes de ionização e cada uma apresenta suas especificidades, vantagens e desvantagens. As fontes de ionização sofreram grandes mudanças nos últimos anos, tornando as análises rápidas e simples. O que antes exigia uma preparação detalhada no laboratório da amostra ou simplesmente não era possível, hoje é possível devido aos grandes avanços tecnológicos nas fontes de ionização. Os métodos de geração dos íons em espectrometria de massas mais conhecidos são: ionização por elétrons (EI), ionização química (CI), bombardeamento por átomos rápidos (FAB), desorção/ionização a laser auxiliada por uma matriz (MALDI), ionização química a pressão atmosférica (APCI) e ionização por electrospray (ESI). Embora existam várias estratégias de separação e detecção, a etapa de ionização é aquela com o maior número de estratégias, sendo que os íons são produzidos a partir de uma molécula neutra principalmente por retirada de elétrons, captura de elétron, protonação, desprotonação, formação de adutos ou transferência de espécies carregadas (HOFFMANN e STROOBANT, 2002). Neste trabalho a fonte de ionização utilizada foi a por electrospray.

A ionização por electrospray é uma técnica utilizada para produzir íons moleculares gasosos a partir de uma solução líquida a pressão atmosférica (CODY, 2002). De acordo com MORAES e LAGO (2003) a ionização por electrospray é uma alternativa para a geração de íons a partir de espécies pouco voláteis presentes em fase líquida. A produção de íons por ESI exige basicamente dois processos: formação de gotículas eletricamente carregadas (fino spray eletrolítico) à pressão atmosférica e evaporação do solvente, desta forma liberando os íons moleculares para a fase gasosa. Uma vez na fase gasosa, os íons moleculares são conduzidos ao analisador de massas, como pode ser observado na Figura 12.

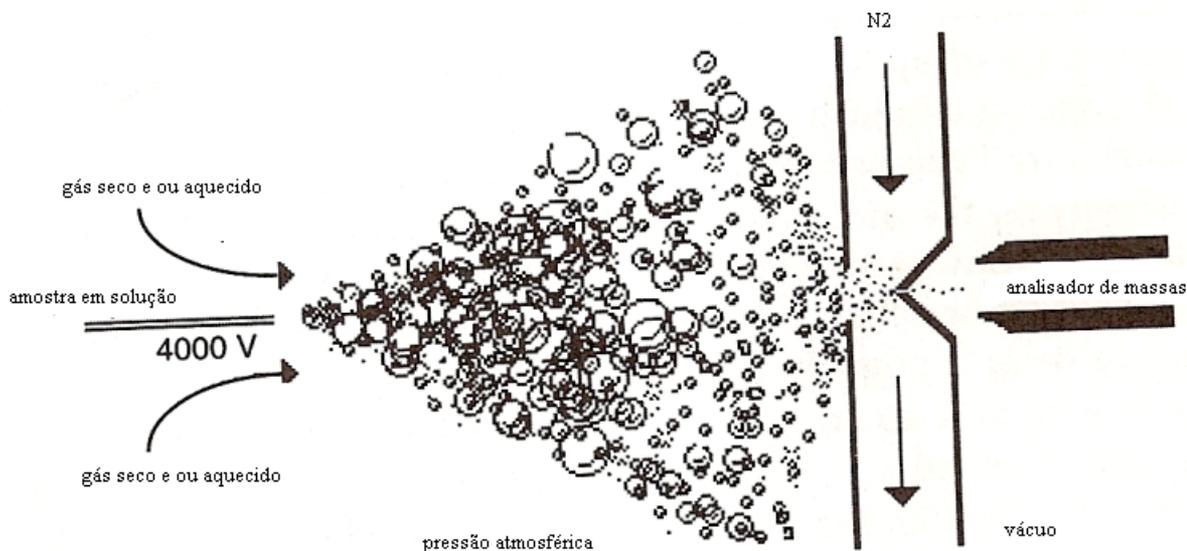


FIGURA 12 – Fonte de ionização por electrospray.

Essencialmente três características diferenciam esta técnica de ionização das outras já apresentadas. A primeira destas é a capacidade de produzir íons multiplamente carregados, com número de cargas elevado, reduzindo, assim, a relação m/z e tornando possível analisar compostos de elevada massa molecular até centenas de KDa, em praticamente todos os tipos de analisadores. A segunda característica é que as amostras devem ser introduzidas em solução, o que faz com que seja possível o acoplamento com muitas técnicas de separação cromatográficas. Por último, não menos importante, o fato de o electrospray ser uma técnica de ionização suave. A dessolvatação ocorre gradualmente em temperaturas relativamente baixas (tipicamente, de temperatura ambiente até 80°C), de forma a não gerar fragmentos das moléculas ionizadas. Assim, as interações covalentes entre as moléculas que existem em solução são preservadas na fase gasosa. Conseqüentemente, muitos íons gerados na fase gasosa mantêm exatamente a mesma estrutura e carga das espécies em solução. De acordo com MORAES e LAGO (2003) esta característica é perfeita para a análise de espécies não voláteis.

Uma vez que os íons são gerados, eles então precisam ser separados de acordo com suas massas, que também devem ser determinadas. Neste contexto surgem os analisadores de massa. O princípio geral de um detector de massas considera que os íons moleculares formados na fonte de ionização do espectrômetro de massas são

acelerados, em consequência do forte campo elétrico existente na região de interface com o vácuo, e conduzidos através de lentes fotoelétricas para a região que está em alto vácuo. O analisador de massas está nesta região e possui como objetivo separar os íons moleculares em função da sua razão massa/carga (m/z). Os analisadores de massas modernos consideram estes princípios, mas agregaram as inovações tecnológicas no campo magnético, assim oferecendo melhores acurácia ($> 0,01\%$) e sensibilidade (picomole a femtomole) e a possibilidade de fornecer informações estruturais extras, devido principalmente à possibilidade de colisões e análise dos fragmentos originados. Os analisadores de massas selecionam os íons moleculares em uma determinada faixa de m/z .

Diversos analisadores de massa estão disponíveis e a escolha por um deles depende do tipo de aplicação desejada e de suas características. Normalmente é considerado o intervalo de massas, poder de resolução, exatidão da massa, taxa de transmissão dos íons e sensibilidade, quantificação, velocidade de varredura, bem como a facilidade de acoplamento com o sistema de separação. As principais opções são analisadores de massa tipo quadrupolo (Q), "ion trap", tempo de voo (ToF), setores do tipo elétrico e magnético, e equipamentos com transformada de Fourier do tipo ressonância ciclotrônica de íons (FT-ICR).

Os analisadores de massas quadrupolo podem ser entendidos como filtros de massas, uma vez que somente os íons moleculares com razão m/z específica serão capazes de atravessar o campo elétrico oscilante e alcançar o detector. Dependendo da intensidade e frequências das voltagens aplicadas, certos íons serão mantidos em posição central, atravessando o analisador, enquanto que os íons não estabilizados pela escolha dos potenciais irão oscilar não harmonicamente e atingir as hastes do quadrupolo, não o atravessando. A razão m/z específica que atravessará o sistema quadrupolo e será registrada no detector é determinada pela correlação entre a frequência do campo elétrico oscilante aplicada (RF) ao conjunto das quatro barras paralelas e a razão m/z dos íons moleculares. A utilização da técnica de ionização por electrospray permitiu a utilização deste tipo de analisadores para moléculas de altas massas moleculares.

Os detectores que consideram o tempo de voo dos íons são conceitualmente os mais simples. Os íons expelidos da fonte de ionização são acelerados pela diferença de potencial elétrico e voam a uma distância (d) até encontrar o detector. As razões massa carga são determinadas medindo o tempo que os íons levam para mover entre a fonte e o detector. São consideradas a massa do íon, a sua carga e consequentemente a sua

energia cinética para mensurar o tempo gasto, que está diretamente associado à relação m/z . Todos os íons produzidos num pequeno espaço de tempo são separados e direcionados ao detector, e, em princípio, analisados, uma vez que não há limite superior de massa para a detecção, o que faz este detector especialmente utilizado em técnicas de ionização leves. Outra vantagem deste detector é sua eficiência de transmissão e alta sensibilidade. A desvantagem deste detector é a sua baixa resolução de massa. A resolução é afetada por fatores que criam uma distribuição diferenciada do tempo de voo entre íons com a mesma relação m/z . Estes fatores são as distribuições no tempo (tamanho do pulso na formação dos íons), no espaço (tamanho ou volume no quais os íons são formados) e a variação da energia cinética inicial dos íons formados. Considerando que a resolução da massa é proporcional ao tempo de voo, alternativamente o tamanho do tubo do tempo de voo pode ser aumentado e a voltagem aplicada diminuída, o que diminuiria a aceleração, aumentando o tempo de voo. Entretanto, nos últimos anos, o detector ToF sofreu grande número de modificações que permitiram aumentar sua resolução e intervalo útil de m/z , destacando-se a utilização dos “reflectores” e ToF ortogonal de acordo com NETO (2002). Os “reflectores” são dispositivos que corrigem a energia “extra” dos íons e mesma razão m/z , através da reflexão destes, como um espelho, mandando-os de volta ao tubo de voo. Por exemplo, os íons com maior energia cinética irão penetrar mais nos “reflectores”, demorando mais tempo na reflexão, chegando ao detector ao mesmo tempo dos outros íons de mesma razão m/z .

Ressalta-se que múltiplos analisadores podem ser colocados seqüencialmente na trajetória dos íons desde a fonte de ionização até o detector, considerando os elementos intercalados de análise e os de reação. Os elementos de análise são usados convencionalmente para filtrar o feixe de íons de acordo com a relação m/z , e os de reação são operados apenas com os potenciais (AC), sem fazer nenhuma seleção de m/z . O acoplamento pode ser de analisadores do mesmo tipo (ex. triplo quadrupolo) ou com equipamentos híbridos (ex. Q-ToF), sendo este o utilizado neste trabalho.

3.4.1 – A fonte de ionização por electrospray - ESI

No final da década de 70, a ionização química (CI) possibilitou obter maiores informações, inclusive o peso molecular, de substâncias orgânicas voláteis que sofriam extensiva fragmentação durante a ionização por elétrons (EI). Em 1981, a ionização por

bombardeamento de átomos acelerados (FAB) foi introduzida, tornando-se um método rápido e conveniente de ionização e análise de compostos polares instáveis termicamente. A partir dos anos 80, a técnica de ionização por electrospray permitiu a possibilidade de análise de compostos de alto peso molecular e o desenvolvimento de uma interface eficiente entre a cromatografia líquida e a espectrometria de massas. Neste contexto, a ionização por electrospray contribuiu significativamente para as aplicações e o desenvolvimento tecnológico da espectrometria de massas. No início da década de 90, os especialistas em espectrometria de massas receberam duas novas técnicas de ionização, que são complementares, para a análise de grandes moléculas: MALDI e ESI. Neste contexto, a ionização por electrospray tem se tornado uma das técnicas de ionização em maior expansão. De acordo com o levantamento publicado por MORAES e LAGO (2003) houve um aumento de 77 vezes no número de trabalhos científicos publicados entre 1980 e 2000, sendo que 80% destes trabalhos estão relacionados com análise de biomoléculas e compostos orgânicos.

Nas últimas décadas, destacam-se duas fases distintas de investigação e desenvolvimento. A primeira, que ocorreu antes de 1970, é caracterizada pelas contribuições para os aspectos fundamentais do processo de produção da carga assim como no modo experimental de concretizá-lo, e a segunda fase que demonstrou a aplicabilidade da fonte de electrospray como um método de ionização branda. Assim, a técnica sofreu um incremento notório com o desenvolvimento e construção de fontes iônicas comercializáveis baseadas no princípio de carregar gotas eletricamente.

A fonte de ionização por electrospray consiste basicamente de dois componentes separados, mas interdependentes. O primeiro componente é a região de pressão atmosférica que consiste em uma sonda ou agulha, na qual é aplicado um alto potencial elétrico. Normalmente entre 3 a 5 kV, dependendo das características da amostra a ser analisada. Desta forma, é estabelecido um potencial elétrico significativo entre a sonda e o orifício de entrada da região de alto vácuo. Opcionalmente, há algum aparato que contribui para a dessolvatação das moléculas, normalmente térmico ou pneumático. O segundo componente é a interface com o vácuo, que promove o transporte dos íons moleculares para o detector de massa. Lentes com pequenas aberturas foram introduzidas entre estes dois compartimentos para acoplar compartimentos a pressão atmosférica com compartimentos a pressões muito baixas. A interface com o vácuo tipicamente consiste de um orifício ou capilar, através do qual o spray é introduzido, atravessando uma série de “skimmers” e estágios em que a pressão é gradativamente

reduzida (Figura 13). Por fim, ressalta-se a existência de uma interface auxiliar de hardware que registra os sinais elétricos provenientes do detector.

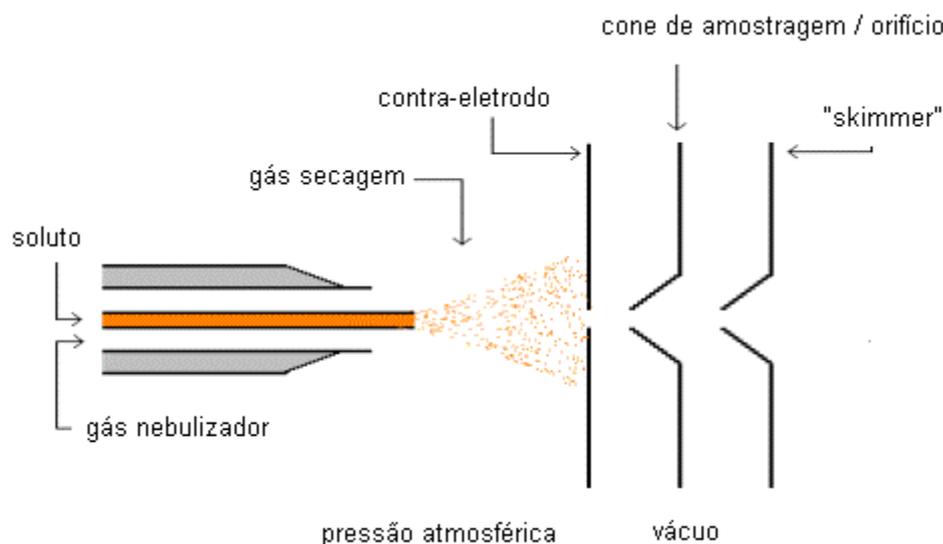


Figura 13 - **Esquema da fonte de ionização por electrospray.**

Fonte: www.astbury.leeds.ac.uk

De acordo com HOFFMANN e STROOBANT (2002) um electrospray é produzido pela aplicação de um forte campo elétrico (10^6 V/m), em condições atmosféricas, a um líquido passando através de um capilar (d.i. 50 a 100 μm), com um fluxo normalmente de 1 -10 $\mu\text{L}/\text{min}$ (MORAES e LAGO, 2003). O campo elétrico, obtido ao aplicar uma diferença de potencial de 3 a 6 kV entre o capilar e o contra-eletrodo, separados por 0,3 a 2 cm, induz o acúmulo de cargas na superfície do líquido que está na ponta do capilar. O campo elétrico promove a separação das cargas negativas e positivas que existem na solução. Com o aumento da voltagem, a gota que antes era quase esférica, alonga-se e há o acúmulo das cargas na ponta. Quando a pressão eletrostática torna-se maior que a tensão superficial, a gota adquire o formato de um cone, dito Cone de Taylor. Esta película líquida se quebra formando bolhas altamente carregadas

Por exemplo, quando um potencial negativo é aplicado na sonda de electrospray e na solução aquosa, os anions tendem a se afastar para uma região menos negativa, isto é, em direção ao contra-eletrodo, concentrando-se na ponta da agulha. Este tipo de separação de carga é chamado de processo eletroforético (MORAES e LAGO, 2003). As cargas negativas concentradas na superfície repelem umas com as outras, e a partir da

ponta da sonda, o líquido na superfície expande, como pode ser visto na Figura 25. Quando a força eletrostática e a tensão superficial são balanceadas, a superfície líquida adquire a forma de do Cone de Taylor. No instante seguinte, com um pequeno aumento do número de bolhas carregadas, o potencial eletrostático aumenta e o excesso de carga negativa vence a tensão superficial. Desta forma, ocorre a formação de uma gota carregada a partir da ponta do Cone de Taylor, sendo que à medida que as gotas diminuem de tamanho, liberam os íons moleculares para o estado gasoso.

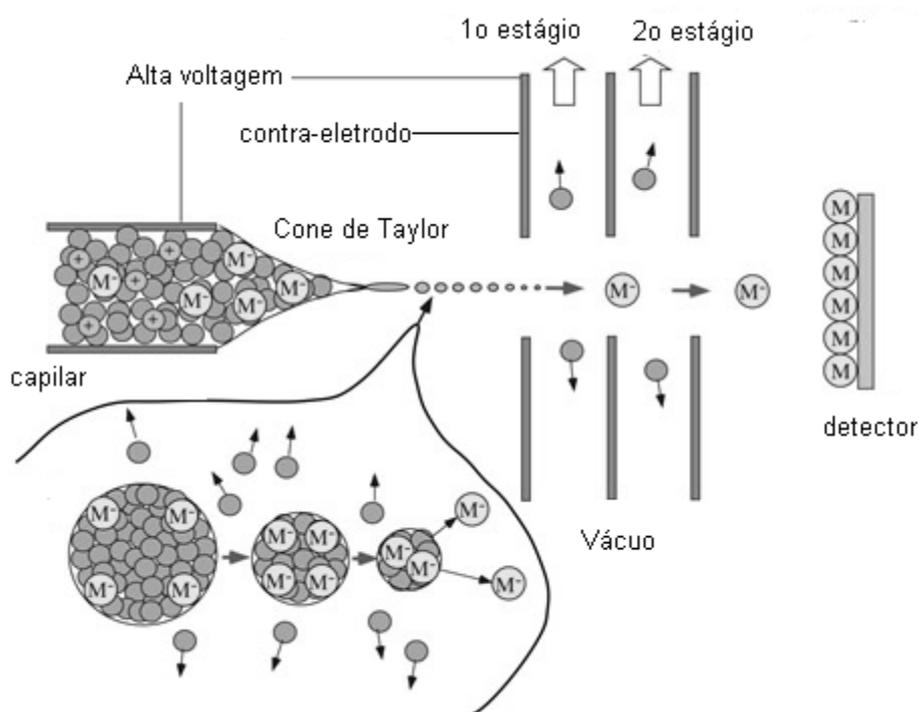


Figura 14 – Ilustração do Cone de Taylor na fonte ESI.

Depois da liberação das gotas com alta densidade de carga do Cone de Taylor, estas passam pela região entre a ponta do capilar e o contra eletrodo. Nesta região, estas gotas vão sendo dessolvatadas, sendo a evaporação do solvente favorecida pela energia térmica do ambiente e/ou pelo gás secante, normalmente nitrogênio. A dessolvatação das gotas, isto é a perda do solvente existente nas gotas, é um processo que ocorre concomitantemente com a formação dos íons na fase gasosa, como pode ser visto na Figura 15.

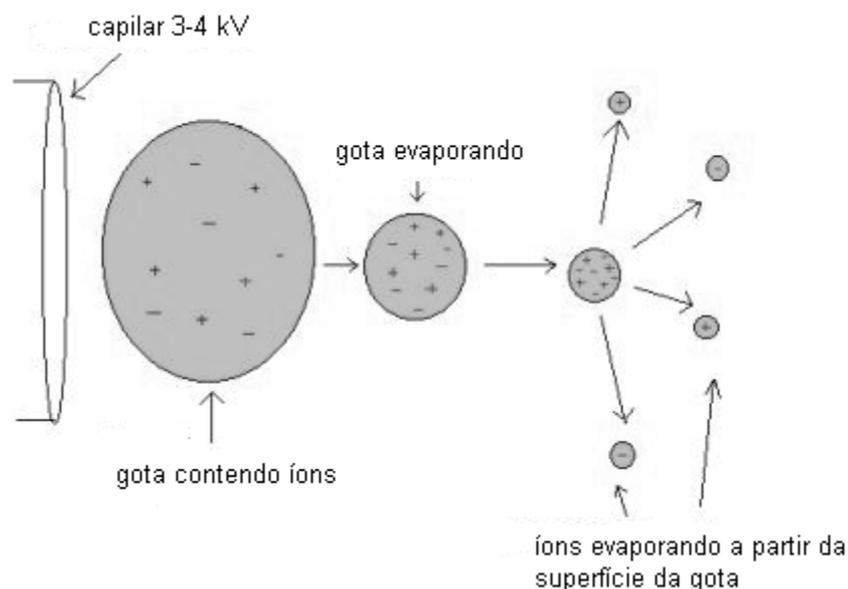


Figura 15 – **Dessolvatação das gotas e a formação dos íons na fase gasosa**

Fonte: www.astbury.leeds.ac.uk

Existem duas teorias que explicam a formação das espécies carregadas na ionização por electrospray durante o processo de dessolvatação das gotas: o mecanismo de carga residual (CRM) e o modelo de evaporação do solvente ou íon (IEM). No mecanismo de carga residual, considera-se que à medida que a gota é dessolvatada, isto é, o solvente é evaporado, com o auxílio do gás nitrogênio e/ou uma fonte térmica, a densidade da carga superficial aumenta na gota até que as forças repulsivas entre as cargas iguais superam a tensão superficial, levando à divisão da gota inicial. O ponto em que a repulsão entre as cargas é igual à tensão superficial é o limite de estabilidade de Rayleigh. Após o limite de estabilidade de Rayleigh, as gotas são vencidas pelas forças Coulômbicas, emitindo um vapor contendo pequenas gotículas. A gota continua então perdendo solvente por evaporação até que o limite de estabilidade de Rayleigh seja novamente alcançado e um novo vapor de gotículas seja então emitido. Esse processo de divisão contínua permanece até que seja alcançado um estado no qual cada gota conterà apenas um íon molecular. Considerando o mecanismo da carga residual, tem-se que os íons detectados nos espectros ESI-MS são as espécies carregadas que permanecem após toda a evaporação do solvente da gotícula (CODY, 2002).

O outro mecanismo proposto para a formação dos íons na fase gasosa é o modelo da evaporação do íon (IEM). Este mecanismo sugere que a gota para sofrer fissão não precisa alcançar o limite de Rayleigh, sendo que a emissão dos íons ocorre diretamente de gotas muito pequenas ($R < 10\text{nm}$) e altamente carregadas. A fissura precoce da gota deve estar relacionada a pelo menos dois fatores: a vibração das gotas que estimula a

sua ruptura e a deformação, com ruptura, da gota que possui um desequilíbrio de cargas, uma vez que a gota está imersa num campo elétrico intenso (MORAES e LAGO, 2003).

Nenhuma destas duas teorias é universalmente aceita. Tem sido investigado e sugerido que o mecanismo para a formação de íons a partir de moléculas menores pode diferenciar do mecanismo para a formação de íons maiores multiplamente carregados (CODY, 2002). Por fim, os íons moleculares gerados são direcionados para uma região de pressão intermediária, denominada, também, de interface com o vácuo, atravessando a região do capilar ou cone de amostragem.

A interface entre a região de pressão atmosférica e a região de vácuo consiste de uma pequena abertura ou um pequeno tubo capilar. Os principais componentes da interface com o vácuo são os “skimmers”, os estágios de bombeamento de ar e as lentes eletrostáticas. Os ‘skimmers’ são pequenos orifícios que possuem a função de separar os íons moleculares considerando a sua velocidade e a sua massa. Os estágios de bombeamento de ar são responsáveis pela diminuição gradativa na pressão e o conjunto de lentes eletrostáticas conduz os íons moleculares ao analisador de massas.

Por conter íons moleculares, gás secante e forte campo elétrico, na região de pressão intermediária pode haver colisão entre os íons moleculares acelerados pelo campo elétrico e as moléculas do gás secante. Assim, ao entrar nesta região, um íon solvatado pode sofrer colisão e perder moléculas do solvente ou até mesmo sofrer processos de rearranjo intramolecular ou fragmentações. Estes fenômenos recebem o nome de dissociação induzida por colisão (CID).

A dissociação induzida por colisão pode ser interessante em alguns casos, mas pode dificultar a visualização das espécies na forma como elas se encontravam em solução. As espécies neutras que colidiram com as moléculas do solvente não serão detectadas na forma em que se encontravam quando na fase líquida devido a fragmentações ou rearranjos intramoleculares, por exemplo. Para a preservação dos íons moleculares originais a dissociação por colisão induzida deve ser minimizada. O fenômeno CID pode ser minimizado controlando a queda de potencial elétrico sentida pelo íon molecular na região de interface com o vácuo.

O processo de ionização por electrospray é entendido também como um processo eletroquímico. Segundo HOFFMANN e STROOBANT (2002) é um processo dependente da concentração iônica e de sua mobilidade, além dos efeitos de polarização na ponta do capilar. De acordo com MORAES E LAGO (2003), o potencial elétrico aplicado no capilar metálico (kV) e a ação do gás nebulizador promovem a formação de um spray de partículas carregadas, ou seja, uma corrente eletrolítica. A fonte de ionização por

electrospray apresenta os três constituintes básicos de uma célula eletrolítica: o eletrodo de trabalho, que é o capilar onde o potencial elétrico é aplicado, o contra-eletrodo, a região de interface com o vácuo e a fase eletrolítica que é o spray eletrolítico, com o pode ser visto na Figura 16.

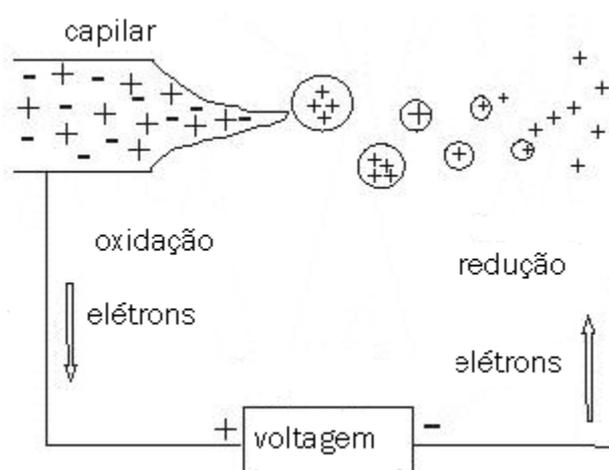


Figura 16 – Representação do processo eletroquímico na fonte de ionização por electrospray

A reação eletroquímica fornece íons positivos à solução, por exemplo, convertendo moléculas do analito em moléculas carregadas positivamente e liberando elétrons, caracterizando uma oxidação. O transporte dos íons moleculares formados não ocorre ininterruptamente pela solução, como nas células eletrolíticas convencionais, sendo que parte do transporte dos íons ocorre na fase gasosa. Esta é a principal diferença em relação a uma célula eletrolítica convencional, isto é, na fonte de ionização por electrospray, a fase eletrolítica é gasosa e não líquida. No entanto, para que a fonte de ionização por electrospray opere como uma célula eletrolítica, vários fatores devem ser considerados, tais como, velocidade de fluxo da solução no capilar, magnitude da corrente elétrica da fonte de ionização e potencial redox das espécies em solução (MORAES e LAGO, 2003).

A velocidade de fluxo da solução no capilar está diretamente relacionada com a organização da dupla camada elétrica que se forma na interface capilar/solução, devido ao alto campo elétrico aplicado. Esta organização é fundamental para a formação dos íons da fase gasosa, uma vez que influencia a transferência de elétrons do capilar para a solução e a separação das cargas na superfície das gotas. Quanto menor o fluxo da

amostra, maior será o tempo de residência das espécies neutras na interface capilar/soluções e conseqüentemente, mais extensas serão as reações de oxidação das moléculas do analito presentes na amostra e/ ou de outras espécies contaminantes, por exemplo. Quando a magnitude da corrente elétrica da fonte de ESI for da mesma ordem que a corrente faradaica e a diferença de potencial entre o capilar e o “skimmer” for maior ou igual que o potencial redox das espécies em solução, poderão ocorrer reações redox. Então, nestas condições, a fonte de ionização por electrospray poderá atuar como uma célula eletrolítica, oxidando ou reduzindo as espécies, gerando íons moleculares ($M^{+•}$ ou $M^{•-}$). MORAES e LAGO (2003) citaram o funcionamento do ESI como uma célula eletrolítica comprovando a formação de espécies oxidadas/reduzidas através da utilização de um detector UV-visível. Entretanto, de acordo com MORAES e LAGO (2003) o processo eletroquímico poderá ter influência desprezível no espectro de massas da espécie em estudo. No caso da maior parte dos estudos conduzidos por electrospray, estudos de biomoléculas, as alterações eletroquímicas sobre estas espécies comuns no sistema, como os eletrólitos, o metal do capilar e o próprio solvente, sofrem muito mais facilmente o processo de redox.

As possibilidades de aplicações da ionização por electrospray são inacreditáveis, de acordo com CODY (2002), sendo considerada uma técnica de ionização suave, possuindo vasto campo de aplicação, revolucionado o modo de ionização e transferência da moléculas para o espectrômetro de massa (MS), para a caracterização de suas massas e estruturas. Esta técnica pode ser utilizada para a análise de uma grande variedade de classes de compostos, incluindo compostos orgânicos sintéticos, compostos farmacêuticos e seus metabólitos, produtos naturais, drogas ilícitas, proteínas, carboidratos, nucleotídeos e DNA, lipídios, polímeros, compostos inorgânicos e organometálicos e surfactantes. Uma grande contribuição da fonte de ionização por electrospray para a espectrometria de massas foi a possibilidade de análise de novas classes de moléculas instáveis termicamente, altamente polares e de alto peso molecular (CATHARINO et al., 2005). Outra vantagem é a possibilidade de obtenção de informações imediatas sobre a composição da amostra injetada diretamente no equipamento, sem separação cromatográfica, com pouca ou nenhuma preparação da amostra, caracterizando o “fingerprinting”, isto é, a impressão digital da amostra. Esta técnica é considerada tão rápida como a ressonância magnética nuclear ou infra-vermelho na obtenção dos resultados (GOODACRE et al., 2003).

A ionização por electrospray acoplada a espectrometria de massas (ESI-MS) tem sido aplicado para a obtenção de “fingerprinting” de complexas misturas como o própolis

(SAWAYA et al., 2004), cerveja (ARAUJO et al., 2005), vinho (COOPER e MARSHALL, 2001; CATHARINO et al., 2006), whisky (MOLLER et al., 2005), óleos vegetais (CATHARINO et al., 2005; WU et al., 2004), óleos essenciais (MOLLER et al., 2006) e extratos etanólicos de araticum (ROESLER et al., 2007) e pequi (ROESLER et al., 2008) . Destaca-se que não há na literatura informações sobre a utilização de ESI-MS na obtenção dos “fingerprinting” de amostras de grãos de café antes e após a torrefação. Então, a ionização por electrospray da amostra diretamente injetada no espectrômetro de massa foi utilizada neste trabalho para obter informações gerais sobre a composição nos extratos dos grãos de café antes e após a torrefação, caracterizando o fingerprinting dos grãos de café.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

A matéria prima utilizada foi grãos de café das espécies arábica e robusta, safra de colheita 2003/2004, provenientes da Fazenda Samambaia (Santo Antônio do Amparo, MG). Os grãos de café foram rejeitados pela máquina de separação por cor, utilizada para separar os grãos defeituosos dos sadios, e, denominados neste trabalho como mistura PVA. Os grãos pretos, verdes e ardidos que constituem a mistura PVA foram separados manualmente para as análises e identificados conforme a Tabela 9. Para as amostras dos grãos da espécie robusta a letra r foi acrescida na identificação das amostras.

Tabela 9 – Tipo de defeito do grão de café e sua identificação

Tipo de defeito	Identificação
Preto	P
Verde	V
Ardido Escuro	Ae
Ardido Claro	Acl
Sadio	S

Para caracterizar em massa a mistura PVA, amostras de aproximadamente 100 g foram retiradas das misturas de PVA das espécies arábica e robusta. Em seguida, os grãos defeituosos (preto, verde, ardido claro e escuro) e os sadios foram manualmente separados de cada uma das amostras e pesados para determinar a composição em massa dos grãos defeituosos e sadios.

4.2. Métodos

4.2.1. – Estudo comparativo dos métodos de determinação do teor de umidade em grãos de café cru beneficiado

As técnicas termogravimétricas de determinação do teor de umidade nos grãos de café são amplamente utilizadas, mesmo sendo consenso na literatura (ISENGARD e FARBER, 1999; MATHLOUTHI, 2001; ISENGARD, 2001) que estas fornecem resultados considerando a perda de água e de compostos voláteis da amostra. Para correlacionar as técnicas termogravimétricas e a técnica Karl Fisher, considerada específica para a determinação do teor de umidade (DE CARO et al., 2001), este estudo foi realizado.

A amostra constituiu-se de grãos de café cru arábica previamente classificados pela prova de xícara como bebida mole. Os grãos de café foram acondicionados em recipientes fechados durante 48 horas, mantidos no laboratório em que a umidade relativa foi monitorada com o auxílio de um termohigrômetro de parede, caracterizando a amostra dos grãos crus. Para obter amostras de teores de umidade diferenciados, as amostra de 100 grãos de café cru aleatoriamente selecionados foram secas e umidificadas. A secagem foi realizada em estufa convectiva marca Nova Ética Mod 400/3ND durante 30, 60 e 90 segundos a 200 °C. Considerando os grãos secos, a perda de massa foi avaliada conforme procedimento descrito por DUTRA et al. (2001) como a diferença percentual de cada amostra de 100 grãos, antes e após a torração, com o auxílio de uma balança analítica calibrada (Bel Engineering).

Quantidades diferentes de água destilada foram borrifadas nas amostras de grãos de café inteiros, a saber: 1 g, 2 g e 5 g de água em 100 g de grãos de café cru. As amostras foram deixadas em repouso por 24 horas, em um frasco hermeticamente fechado, a temperatura ambiente. Após este período de armazenamento, as amostras foram analisadas, sendo as embalagens abertas somente no momento das respectivas determinações.

Os teores de umidade do café cru beneficiado foram determinados gravimetricamente, por diferença, após secagem de 5,0 g de amostra a 105 ± 5 °C em estufa convectiva e balança determinadora de umidade. Em estufa convectiva, as amostras foram analisadas por 16 h (método ISO 6673) e 24 h (método do Ministério da Agricultura do Brasil), considerando os grãos inteiros e moídos (<20#Tyler). Na balança de umidade, modelo Mark 160 Top Ray, fabricada pela Bel Engineering, as amostras foram secas até que a diferença entre duas pesagens consecutivas foi menor do que 5%,

considerando o modo automático do equipamento. Entretanto, foi considerado o intervalo de determinação entre as amostras de 2 minutos como recomendado por ISENGARD e FARBER (1999).

O valor nominal do teor de umidade nas amostras de grãos de café foi obtido utilizando o titulador Karl Fischer, modelo KF 1000 fabricado pela Analyser, e a o reagente de Karl Fisher com piridina como solução titulante. O equipamento foi calibrado internamente de acordo com as instruções do manual fornecido pelo fabricante. Para a calibração externa do aparelho foram preparadas soluções em metanol seco P.A. com 0%, 5% e 10% de água destilada. Alíquotas de 0,2 mL foram injetadas em triplicata no vaso titulométrico do aparelho.

A água livre dos grãos de café foi extraída como recomendada pela literatura (DE CARO et al., 2001) e pelo manual do fabricante do aparelho. Em cerca de 1,0 g de café moído (<20# Tyler) foram adicionados 10 mL de uma solução (3:1) de metanol P.A. e clorofórmio (ISENGARD e STRIGGLER, 1992). A extração foi realizada durante 1 hora em banho de ultra-som, sendo as amostras centrifugadas por 10 minutos a 2800 rpm. Após a separação de fases, alíquotas de 0,2 mL do sobrenadante foram retiradas e injetadas diretamente dentro do vaso titulométrico do aparelho. As injeções de cada amostra foram realizadas em duplicata. Foram avaliados dois solventes para o vaso titulométrico: metanol seco e solução (3:1) de metanol P.A. e clorofórmio.

O teor de umidade da amostra foi calculado de acordo com a equação:

$$\% \text{ H}_2\text{O} = x \cdot ((f2 / f3) + z) - (f1 \cdot f2) / f3 \quad (1)$$

em que:

x = quantidade de água em % da alíquota

f1 = quantidade de água em % no branco

f2 = quantidade de solvente (g)

f3 = amostra (g)

z = x / 100

Todas as análises foram realizadas casualmente considerando 5 réplicas por experimento de determinação termogravimétrico. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e os valores médios obtidos foram comparados através do teste de Duncan a 5% de probabilidade.

4.2.2. – Ensaio de Torração

As amostras constituídas de 100 grãos de café, conforme sugerido por STROSHINE (1997), foram aleatoriamente selecionados por tipo de grão e submetidas à torração em estufa convectiva (marca Nova Ética Mod 400/3ND) a 200 °C durante 1 hora. Foram torradas no mínimo em triplicata cada amostra ou em número de réplicas suficientes para produzir massa para todas as técnicas adotadas. A perda de massa dos grãos de café torrados foi determinada como a diferença percentual entre o peso da amostra antes e após a torrefação sob o peso inicial dos grãos de café, conforme descrito por DUTRA et al. (2001).

4.2.3. - Caracterização física dos grãos de café crus e torrados

Foram selecionados aleatoriamente 100 grãos de café (STROSHINE, 1997), de cada amostra identificada por tipo, para a avaliação dos atributos físicos dos grãos de café antes e após a torração, considerando dois lotes de amostras por defeito.

O volume dos grãos de café foi calculado de acordo com o procedimento descrito por DUTRA et al. (2001), que considera a forma do grão de café similar a um semi-elipsóide. Foram medidas três dimensões, por grão, individualmente, a saber: a maior, a menor e uma intermediária, como pode ser visto na Figura 17.

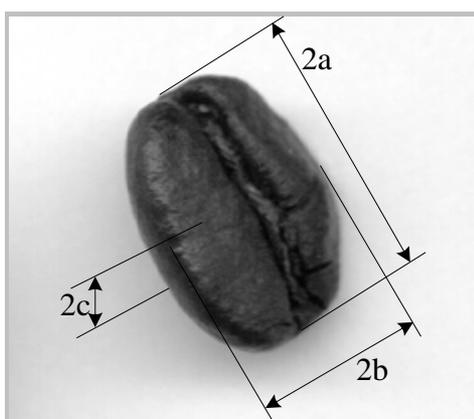


Figura 17 – Dimensões do grão de café

Fonte: DUTRA et al. (2001)

O volume do grão de café foi calculado a partir da equação (2), aproximando o volume deste do volume da metade de um elipsóide triaxial, em que V_g é o volume do

grão, a e b correspondem à metade dos diâmetros maior e intermediário, respectivamente e c corresponde ao diâmetro menor.

$$Vg = \frac{2}{3} \pi a b c \quad (2)$$

A densidade da partícula dos grãos de café foi avaliada como a relação entre a massa de 100 grãos e a soma dos volumes individuais de cada grão de café. A densidade do leito dos grãos de café foi avaliada considerando uma proveta de 50 mL.

Para análise de cor foi utilizado um colorímetro Colortec PCM (Clinton, USA), iluminante: D65 (luz diurna) e ângulo de observação de 10°. As medições de cor foram efetuadas cinco vezes para cada amostra de café moído e vinte vezes para cada amostra de café inteiro, conforme publicado no trabalho de MENDONÇA et al. (2003). Os valores fornecidos pelo colorímetro (L^* , a^* e b^*) foram utilizados para cálculo da saturação (c^*) e tonalidade (h_{ab}), conforme as seguintes equações (BORGES et al., 2002):

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (3)$$

$$h_{ab} = \tan^{-1}(b^* / a^*) \quad (4)$$

A diferença de cor entre duas medidas foi quantificada utilizando a equação (5), como a distância entre estes pontos no espaço CIEL*a*b* (BORGES et al., 2002).

$$\Delta E_{12} = \left[(L_1^* - L_2^*)^2 + (a_1^* - a_2^*)^2 + (b_1^* - b_2^*)^2 \right]^{1/2} \quad (5)$$

Os valores médios obtidos para todos os atributos físicos avaliados foram submetidos à análise de variância e comparados a 5% de probabilidade pelo Teste de Duncan.

4.2.4 - Caracterização química dos grãos de café crus e torrados

4.2.4.1 – Avaliação dos métodos de extração

Os métodos avaliados foram a extração com água quente e a extração aquosa no banho maria. As amostras foram moídas (<#20 mesh Tyler) e os lipídios retirados segundo método AOAC (1995), com pequenas modificações. Amostras contendo aproximadamente 2,5 g foram envolvidas em dois papéis de filtro qualitativo, sendo os lipídios extraídos a 60 °C com aproximadamente 100 mL de éter de petróleo durante 6 horas no aparelho Soxhlet, modelo TE-044, marca Tecnal.

A extração com água quente foi realizada conforme sugerido na literatura (De MARIA et al., 1994; De MARIA et al., 1999; NUNES e COIMBRA 2001a,b, OOSTERVELD et al. 2003a,b, OOSTERVELD et al., 2004; FARAH et al., 2006) para a extração dos carboidratos totais das amostras de café. Em 1 g de café seco, moído (< 20#) e desengordurado foram adicionados 20 mL de água destilada quente (70 - 80°C). A amostra foi agitada durante 15 minutos. Especificamente, neste trabalho, a massa da amostra foi minimizada devido à dificuldade de se obter grãos defeituosos pretos. Terminada a extração, a amostra foi filtrada e o extrato foi completado para um volume de 50 ml, com o auxílio de um balão volumétrico.

A extração dos compostos solúveis em água utilizando o ultra-som foi realizada com base nos trabalhos publicados por MECOZZI et al. (1999), GINZ et al. (2000), MECOZZI et al. (2002), BERNADEZ et al. (2004), KAFKAS et al. (2006), MURKOVIC e DERLER (2006) com pequenas modificações. Em 1,0 g de café seco, moído (< 20#) e desengordurado foram adicionados 20 ml de água destilada a temperatura ambiente. Decorridas às 3 horas de extração, a amostra foi filtrada e o volume do extrato completado num balão volumétrico de 50 mL.

Os carboidratos totais foram quantificados colorimetricamente no extrato aquoso dos grãos de café sadios e defeituosos para avaliar a eficiência de extração das técnicas testadas. Esta determinação foi realizada de acordo com o método colorimétrico fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). Em tubos de ensaio, 1,0 mL da solução de fenol 5% (p/p) e 5 mL de ácido sulfúrico P.A. foram adicionados em 1,0 mL da amostra dos grãos sadios, verdes e ardidos claros diluída 2500 vezes, ou grãos ardidos escuros e pretos diluída 1500 vezes. Os tubos foram deixados em repouso por 30 minutos a uma temperatura de 25-30 °C.

Com o auxílio de um espectrofotômetro da marca Cole-Parmer 1100RS, as absorvâncias foram lidas no comprimento de onda de 485 nm (DUBOIS et al., 1956). A curva de calibração externa foi construída a partir de um padrão estoque de glicose P.A. de 1000 microgramas/ mL. As diluições a partir deste padrão estoque foram de 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70%. O branco das amostras (1 mL da solução de fenol 5 % (p/p), 5 mL de ácido sulfúrico P.A. e 1 mL de água destilada) foi utilizado para zerar o espectrofotômetro.

Nos testes de eficiência de extração, os resíduos foram secos e novamente submetidos à 3h de extração aquosa no banho de ultra-som. A determinação colorimétrica dos carboidratos totais nos extratos aquosos dos resíduos foi realizada considerando uma diluição de 750 vezes para todos os resíduos.

4.2.4.2 – Caracterização por espectrometria de massas com ionização por electrospray.

Os grãos de café defeituosos e sadios foram caracterizados quimicamente por espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS) através de seus extratos aquosos injetados diretamente no equipamento nos modos positivo e negativo, sem separação cromatográfica, obtendo o “fingerprinting” de cada amostra.

O espectrofotômetro de massa ESI-Q-TOF Micromass-Waters com ionização por electrospray (ESI)-MS foi utilizado para gerar os espectros de massa característicos dos íons de cada extrato aquoso de grãos de café de diferentes espécies cru. Os extratos aquosos foram injetados a uma taxa de 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, utilizando uma seringa gastight Hamilton. As condições gerais do equipamento Micromass-Waters foram: temperatura da fonte de 80°C, 2500V como a voltagem do capilar e 40 V de voltagem do cone. Os espectros de massa foram adquiridos e acumulados no modo de varredura (scan) de m/z 100 a 800 com o auxílio do software MassLynx versão 4.1.

Alternativamente, para os extratos aquosos do grão de café torrado, o espectrofotômetro de massa Shimadzu LCMS-IT-TOF com ionização por electrospray (ESI)-MS foi utilizado para gerar os espectros de massa característicos dos íons. Os extratos aquosos foram injetados diretamente nos equipamentos a uma taxa de 0,2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, considerando a fase móvel metanol/água 30%, utilizando uma seringa gastight Hamilton. As condições gerais do equipamento foram: volume da injeção 5 μl , nitrogênio a 1,5 mL/minuto como gás de nebulização e secagem, temperatura do CDL⁻¹ e do bloco

200 °C, voltagem do detector 1,65kV. Os espectros de massa foram adquiridos e acumulados no modo scan de m/z até 1000, com auxílio do software “Excell chemometrics add-in” (LCMS Solutions - Shimadzu).

Os dados amostrais foram previamente tratados conforme indicado pela literatura (NETO e MOITA, 1998; GELADI, 2003; FERNANDES et. al, 2005), sendo normalizados com base na maior intensidade. Os ruídos foram caracterizados como 5% e 0,05% nos espectros dos grãos cru e torrados, respectivamente. Desta forma, os dados amostrais foram organizados numa matriz, amostras x íons de relação m/z e suas respectivas intensidades.

A quimiometria foi utilizada como ferramenta para classificar os tipos e as espécies dos grãos de café a partir de seus “fingerprinting” obtidos por ESI-MS como nos estudos de GOODCRACE et al. (2003); CATHARINO et al. (2005); MOLLER et al. (2005); CATHARINO et al (2006); GOMEZ-ARIZA et al. (2006); SANTOS et al. (2005) ; SOUZA et al. (2007). A análise de componentes principais (PCA) e a análise hierárquica de Clusters (HCA) foram as técnicas utilizadas neste trabalho. A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para agrupar por similaridade as amostras, favorecendo a visualização dos resultados e permitindo a detecção de possíveis “out-liers” e a avaliação da possibilidade de redução do numero de amostras e variáveis, além de identificar os compostos (variáveis) determinantes nos agrupamentos das amostras apresentados. Apesar do conhecimento ‘*a priori*’ da classificação das amostras de café por tipo, o HCA foi imposto aos dados, com objetivo de observar a estrutura geral dos grupos formados a partir dos dados amostrais, confirmando a classificação já existente dos grãos de café arábica e a proposta para os grãos da espécie robusta.

5. RESULTADOS

As misturas de grãos defeituosos (PVA) utilizadas neste trabalho foram caracterizadas quanto à porcentagem de defeitos. O resultado referente à caracterização da mistura PVA da espécie arábica é apresentado na Figura 18. Observa-se que a maioria dos grãos de café da mistura PVA são sadios (67%) e 33% são defeituosos. Entretanto, este resultado não foi encontrado por OLIVEIRA et al. (2006) que caracterizaram a mistura PVA arábica da safra 2001/2002 com 70% de grãos defeituosos. Ainda assim, estes resultados correspondem, aproximadamente, à porcentagem de grãos defeituosos (30 a 40%) encontrados por OLIVEIRA et al. (2005) em bebidas de baixa qualidade, classificadas pela prova de xícara como rio e riada.

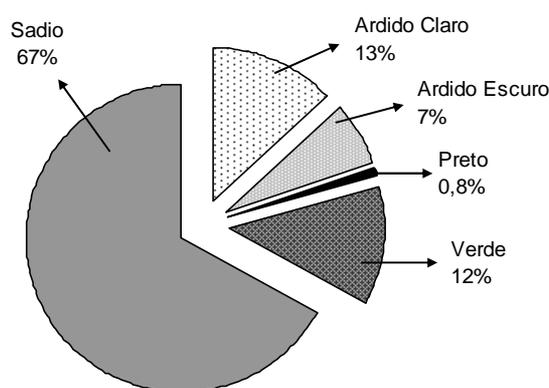


Figura 18 – **Caracterização em massa por tipo de grãos das misturas PVA do café arábica da safra 2003/2004**

Dentre os grãos defeituosos, os grãos ardidos claros e escuros correspondem a aproximadamente a 60% dos grãos defeituosos e 20% da mistura PVA. O grão defeituoso ardido claro está em maior quantidade, seguidos dos grãos verdes, estando este resultado de acordo com os publicados por OLIVEIRA et al. (2006) que caracterizaram uma mistura PVA da mesma espécie e procedência, mas de safra diferente (safra 2001/2002). Os grãos pretos estão presentes em quantidades menores que 1% na mistura PVA, correspondendo a aproximadamente 2% dos grãos defeituosos. Trabalhando com uma mistura PVA da mesma procedência, mas de safra diferente, safra

2001/2002, OLIVEIRA et al. (2006) mostraram também que os grãos pretos são os grãos defeituosos em menor proporção na mistura PVA.

Na literatura não há informações sobre os grãos defeituosos de café da espécie robusta, sendo um dos objetivos deste trabalho propor o padrão para os grãos de café defeituosos da espécie *Coffea canephora*. O padrão proposto leva em consideração, principalmente, a cor, o tamanho e o formato característicos dos grãos defeituosos, os resultados obtidos em comparação aos já publicados para os grãos defeituosos da espécie arábica (MAZZAFERA et al., 1999; FRANCA et al., 2005a, VASCONCELOS et al., 2007) e a classificação dos grãos de café por tipo de defeito, que já é utilizada (SINDICAFÉ, 2007).

Na Figura 19 é apresentada a distribuição em massa dos defeitos para a mistura de grãos de café defeituosos da espécie robusta. Observa-se que a distribuição dos grãos defeituosos na mistura da espécie robusta é diferente da apresentada para os grãos da espécie arábica (Figura 18), mesmo ambas possuindo a mesma procedência e safra de colheita. A mistura de grãos defeituosos da espécie robusta apresentou 81 % (p/p) de grãos defeituosos. Dentre os grãos defeituosos, os grãos ardidos claro e escuro correspondem a 63% destes, sendo este resultado similar ao encontrado na distribuição dos grãos defeituosos da espécie arábica. Os grãos verdes estão presentes na segunda maior quantidade, como na mistura da espécie arábica, entretanto, em proporções maiores, 25% na mistura PVA, como pode ser visto na Figura 19, correspondendo a 31% dos grãos defeituosos. Os grãos pretos estão presentes em 5% na mistura PVA robusta e corresponde a 6% dos grãos defeituosos, proporção superior a encontrada para os grãos pretos da espécie arábica.

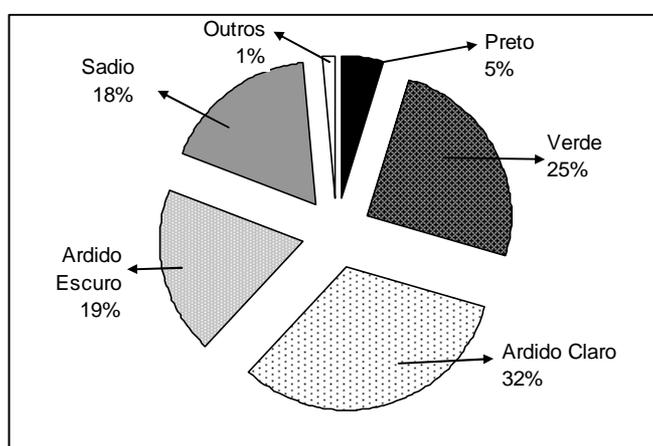


Figura 19 – Caracterização em massa por tipo de grãos das misturas PVA do café robusta da safra 2003/2004

5.1 – Estudo comparativo dos métodos de determinação de teor de umidade

Os grãos de café cru foram armazenados numa atmosfera com o teor de umidade entre 63 a 66%, foram secos e umedecidos de acordo com as informações apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10 – **Identificação das condições experimentais das amostras de café umedecidas e secas**

Amostra	Condição experimental
Gu3	Grão de café umedecido com 0,05 g água / g café
Gu2	Grão de café umedecido com 0,02 g água / g café
Gu1	Grão de café umedecido com 0,01 g água / g café
Gc	Grão de café cru
Gs1	Grão de café seco por 30s a 200 °C
Gs2	Grão de café seco por 60s a 200 °C
Gs3	Grão de café seco por 90s a 200 °C

Para garantir a homogeneidade das amostras torradas em experimentos diferentes, o tempo de estabilização da temperatura da estufa convectiva (90 segundos) e as perdas de massas dos grãos submetidos à torrefação apresentadas na Figura 20 foram utilizados como parâmetros de igualdade e aceitação da amostra, considerando testes estatísticos de comparação. Observa-se na Figura 20 que a perda de massa dos grãos de café aumenta com o processo de torrefação, estando este resultado de acordo com os apresentados na literatura (BORGES et al., 2004a).

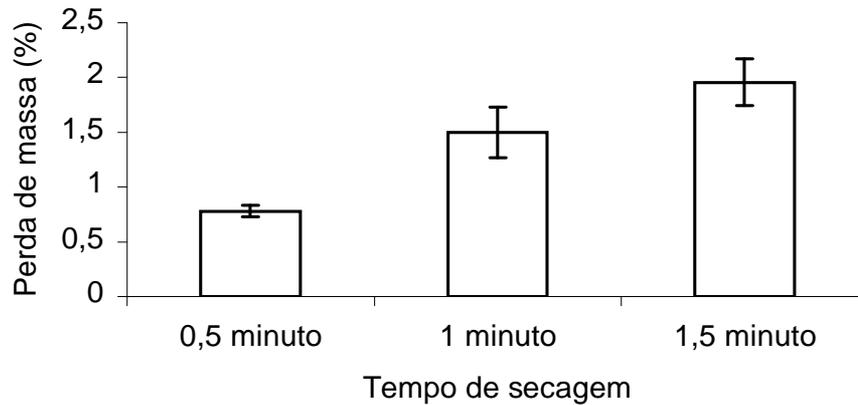


Figura 20 – Perda de massa média dos grãos de café sadios em função do tempo de secagem

No Brasil, a técnica oficial de determinação do teor de umidade em grãos de café cru é a secagem em estufa convectiva por 24 horas a 105 °C (MAPA, 2006). A determinação do teor de umidade foi realizada nos grãos de café inteiros e moídos e os resultados estão apresentados na Figura 21. Pode ser observado que o processo de moagem contribuiu para a perda de umidade e compostos voláteis principalmente em amostras mais secas, isto é, o aquecimento inerente ao processo de moagem dos grãos de café mais secos contribuiu de maneira diferenciada para a perda de água e compostos voláteis, quando comparada a perda devido ao processo de moagem nas amostras menos secas. Entretanto, destaca-se o comportamento da amostra mais úmida (Gu3), como pode ser visto na Figura 21. O aumento do teor de água no grão de café cru tornou-o menos quebradiço, dificultando a moagem da amostra e provocando o aquecimento notável destas amostras. Este aquecimento pode ser associado à conseqüente perda de água e compostos voláteis na amostra Gu3, justificando o resultado apresentado na Figura 21. Alternativamente, a utilização de gelo seco para moer as amostras de café mais úmidas pode minimizar esta perda de água e compostos voláteis devido ao aquecimento, eliminando esta interferência dos resultados.

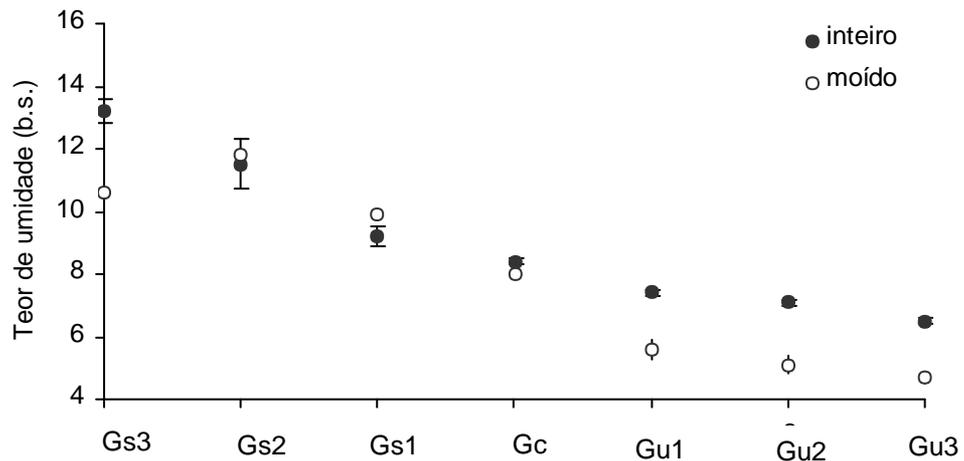


Figura 21 – **Influência do processo de moagem na determinação do teor de umidade em estufa por 24 horas a 105°C.**

A método considerada padrão foi a titulação da água livre por Karl Fisher (ISENGARD e FARBER, 1999). O desempenho do titulador foi testado, sendo obtida uma ótima correlação ($R^2 > 0,99$) entre os padrões externos preparados e injetados e o resultado fornecido pelo equipamento, como pode ser visto na Figura 22.

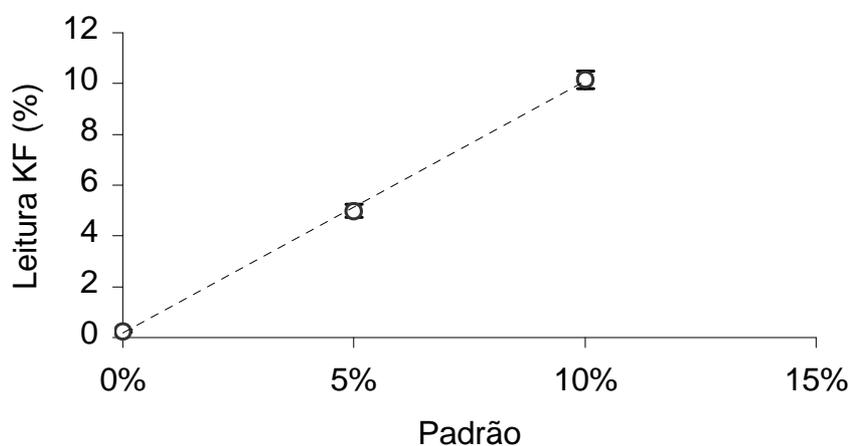


Figura 22 – **Avaliação do desempenho do titulador KF-1000**

As eficiências do solvente metanol seco e da solução (3:1) de metanol/clorofórmio foram avaliadas como solventes no vaso titulométrico do equipamento. A técnica de

secagem da amostra em estufa convectiva a 105 °C por 16 horas (ISO 6673) foi utilizada como referência, fornecendo o parâmetro utilizado para a avaliação. Os teores de umidade da amostra titulada em diferentes solventes de titulação são apresentados na Figura 23, sendo observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os resultados. Dentre os solventes avaliados, o metanol seco apresentou a menor diferença entre o resultado tomado como referência, indicando a sua maior eficiência como extrator. A diferença observada entre os resultados obtidos utilizando o metanol seco e a estufa convectiva pode ser atribuída à determinação simultânea da massa de água e de compostos voláteis na determinação termogravimétrica na estufa convectiva. Além disso, o resultado obtido utilizando a solução (3:1) de metanol/clorofórmio pode ser considerado irreal, considerando a faixa de 8 a 13% para o teor de umidade em grãos de café cru (CLARKE, 1985; REH et al., 2006). Assim, o metanol seco foi utilizado como solvente no vaso titulométrico do equipamento para os experimentos de determinação do teor de umidade padrão.

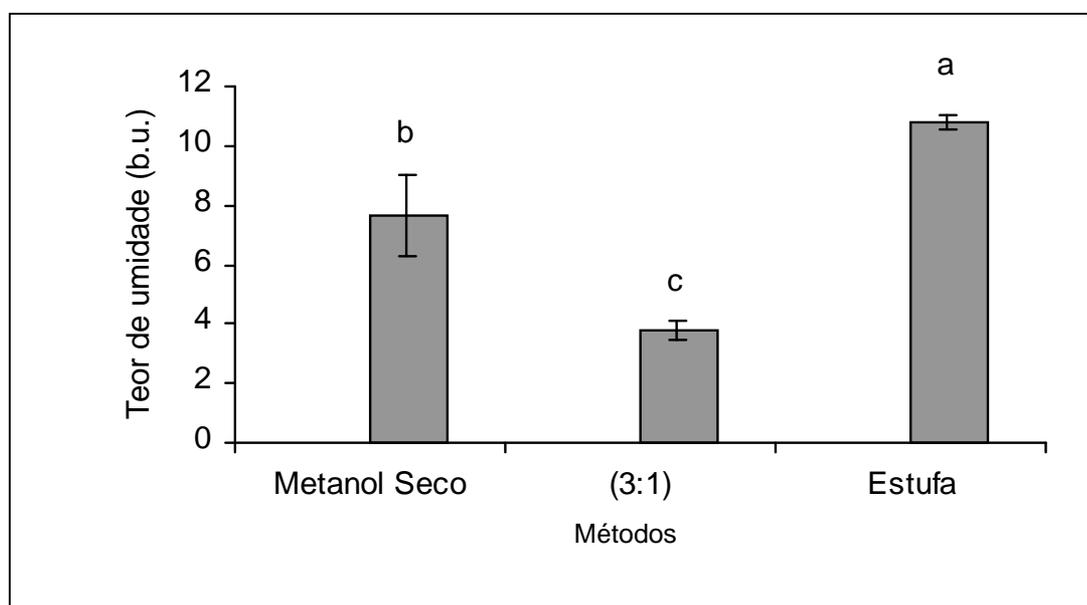


Figura 23 - **Comparação do teor de umidade (b.s.) do café cru considerando diferentes métodos.**

A comparação dos métodos de determinação de umidade utilizados considerando as diferentes amostras obtidas após a secagem e umidificação é apresentada na Tabela 11. Considerando a faixa de teor de umidade na qual o café é comercializado (8-13%), pode ser observado na Tabela 11 que os métodos de secagem na estufa ISO 6673 e Ministério da Agricultura (MA(ii)), considerando os grãos inteiros, apresentaram resultados

similares aos apresentados pela método padrão de Karl Fisher. Estes resultados indicam que a perda de compostos voláteis não foi significativa nas amostras mais úmidas (Gu1, Gu2 e Gu3).

Ao contrário, para as amostras que foram secas (Gs1, Gs2 e Gs3) foram encontradas diferenças significativas entre os resultados obtidos pelo método de referência Karl Fischer (KF) e as técnicas analíticas de secagem na estufa por 16 horas (ISO 6673) e por 24 horas, grãos inteiros (MA (i)), sendo que os métodos termogravimétricos forneceram valores maiores que os obtidos pelo método de KF. Estes resultados estão associados à perda simultânea de água e compostos voláteis das amostras mais secas, além da formação de água ou outros compostos voláteis, como subprodutos da degradação térmica da amostra, inerentes às determinações termogravimétricas (ISENGARD e FARBER, 1999; MATHLOUTHI, 2001; ISENGARD, 2001).

Tabela 11 – Teor de umidade (b.u.) nos grãos de café arábica sadio considerando diferentes métodos de determinação

Amostra	Métodos				
	KF	ISO 6673	MA (i)	MA (m)	BU
Gu3	13,3 ± 0,2 a	13,3 ± 0,5 a	13,2 ± 0,4 a	10,6 ± 0,1 b	13,5 ± 0,2a
Gu2	11,0 ± 0,4 bc	10,9 ± 0,2c	11,5 ± 0,8ab	11,8 ± 0,1 a	11,9 ± 0,5 a
Gu1	9,2 ± 0,3a	9,1 ± 0,1 a	9,2 ± 0,3 a	9,9 ± 0,1 a	8,2 ± 1,0 b
Gc	6,3 ± 0,6b	7,8 ± 0,1 a	8,4 ± 0,1 a	8,0 ± 0,1 a	6,0 ± 0,4 b
Gs1	5,5 ± 0,4b	7,0 ± 0,1 a	7,4 ± 0,1 a	5,6 ± 0,3 b	5,7 ± 0,8 b
Gs2	5,2 ± 0,1 cd	5,9 ± 0,1b	7,1 ± 0,1 a	5,05 ± 0,3 d	5,5 ± 0,4 c
Gs3	4,2 ± 0,2d	5,8 ± 0,1b	6,5 ± 0,1 a	4,7 ± 0,2 c	5,4 ± 0,6 b

Média ± desvio padrão – Valores seguidos da mesma letra na mesma coluna (a,b) não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos pelos métodos termogravimétricos, apresentados na Tabela 11, foram plotados em função do método padrão (KF). O resultado é apresentado na Figura 24, na qual pode ser observada uma tendência linear para o comportamento de todos os dados experimentais.

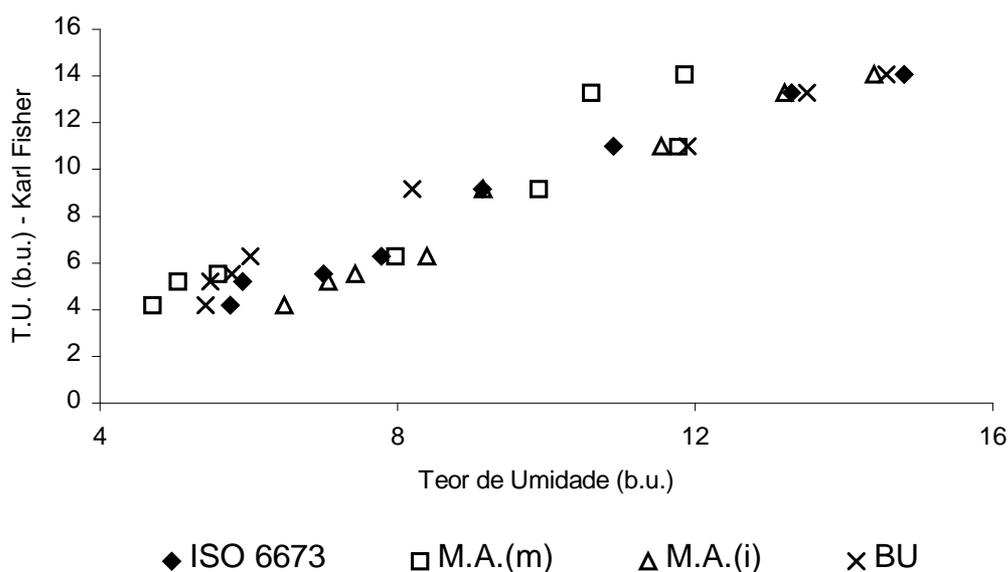


Figura 24 – Relações lineares entre os métodos utilizados na determinação do teor de umidade nos grãos de café sadios

Os resultados de análise de regressão linear imposta aos dados experimentais estão apresentados na Tabela 12. Observa-se que todos os coeficientes de determinação são menores do que 0,99 e que as métodos ISO 6673 e M.A.(i) foram as que apresentaram os maiores coeficientes de determinação, estando este resultado de acordo com os resultados apresentados na Tabela 11.

Tabela 12 – Equações lineares dos métodos utilizados para determinar o teor de umidade nos grãos de café arábica sadio

Método	Equação linear	R ²
ISO 6673	KF = 1,1218 . ISO6637 – 1,8698	0,98
M.A. (m)	KF = 1,1809 . M.A. (m) – 1,4464	0,85
M.A. (i)	KF = 1,2765 . M.A.(i) – 3,8006	0,98
B.U.	KF = 0,9805 BU – 0,0937	0,97

Ainda assim, para observar a associação linear entre os métodos utilizados, estes foram correlacionadas e os resultados estão apresentados na Tabela 13. Corroborando com os resultados já apresentados na Tabela 12, observa-se que as melhores correlações lineares são entre a método de Karl Fisher (KF), considerada método padrão, e os métodos termogravimétricos a 105 °C de determinação de umidade em grãos inteiros que utiliza a estufa convectiva por 16 horas (ISO 6673) e 24 horas (M.A.(i)). Observa-se também que a método termogravimétrico de determinação da umidade em estufa convectiva por 24 horas, considerando os grãos moídos, apresentou o menor coeficiente de correlação, reforçando a idéia de que a moagem dos grãos e o maior tempo de secagem contribuem para uma significativa perda de compostos voláteis.

Tabela 13 – **Coefficientes de correlação entre os métodos avaliados para a determinação do teor de umidade em grãos de café arábica cru sadio**

	<i>KF</i>	<i>ISO 6673</i>	<i>M.A.(m)</i>	<i>M.A.(i)</i>	<i>BU</i>
<i>KF</i>	1				
<i>ISO 6673</i>	0,988444	1			
<i>M.A.(m)</i>	0,930338	0,903351	1		
<i>M.A.(i)</i>	0,988116	0,995474	0,907565	1	
<i>BU</i>	0,98478	0,980566	0,897968	0,988275	1

Os resultados apresentados neste estudo comparativo foram compilados na forma de um artigo científico apresentado no Anexo A, e indicam que as métodos ISO 6673 e M.A.(i) são as que fornecem os resultados mais próximos aos obtidos pela método padrão Karl Fisher. Desta forma, a determinação do teor de umidade em grãos de café cru inteiro sadios e defeituosos das espécies arábica e robusta foi realizada em estufa convectiva por 16 hs a 105 °C.

Os resultados estão apresentados na Tabela 14. Os grãos defeituosos apresentaram um teor de umidade ligeiramente menor quando comparado ao teor do grão sadio, estando este resultado de acordo com os encontrados na literatura (MAZAFFERA, 1999; OLIVEIRA et al., 2005b; VASCONCELOS et al., 2007). Considerando as espécies avaliadas, pode ser observada uma tendência dos grãos da espécie arábica apresentar um teor de umidade ligeiramente mais elevado do que os teores encontrados para os grãos robusta. Este comportamento qualitativo também foi apresentado por PITTIA et al.

(2001), sendo de 11,45% e 11,26% os teores de umidade dos grãos de café cru das espécies arábica e robusta, respectivamente. Entretanto, FRANCA e OLIVEIRA (2008) reportaram que a faixa de umidade dos grãos de café arábica e robusta é 8-13% e 12-13%, respectivamente. As diferenças entre os resultados publicados na literatura e os apresentados na Tabela 14 podem ser associadas às condições ambientais e o tempo de estocagem do grão de café e a método analítico utilizado para a determinação termogravimétrica do teor de umidade.

Dentre os grãos defeituosos, o grão verde e preto apresentaram o maior e o menor teor de umidade, respectivamente, para ambas as espécies avaliadas. A fermentação ocorrida nos grãos defeituosos preto e ardido escuro pode ser associada a este resultado, uma vez que há a perda de massa, inclusive voláteis, nos processos fermentativos.

Tabela 14 – Teor de umidade (b.u.) dos grãos de café arábica e robusta cru

Grãos	Arábica	Robusta
P	7,90 ± 0,02 d, x	7,88 ± 0,03 d,x
V	8,83 ± 0,09 b, x	8,80 ± 0,07 b, x
Ae	7,97 ± 0,07 d, x	7,95 ± 0,05 d, x
Acl	8,36 ± 0,16 c, x	8,32 ± 0,12 c, x
S	9,13 ± 0,11 a, x	8,95 ± 0,15 a, x

Média ± desvio padrão – Valores seguidos da mesma letra na mesma linha (x,y) ou na mesma coluna (a,b,c,d) não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

O conhecimento do teor de umidade em grãos de café cru é importante considerando os aspectos econômicos e da qualidade dos grãos crus e do café torrado. Economicamente, a determinação do teor de umidade está associada à comercialização dos grãos crus, uma vez que estes são comercializados em massa úmida. Considerando a qualidade dos grãos, o teor de umidade é determinante no crescimento de microrganismos, sendo que em grãos de café armazenados a uma umidade elevada, por exemplo, o crescimento de fungos é favorecido, depreciando a qualidade do grão e do café torrado TANIWAKI et al. (2001).

5.2 – Caracterização física dos grãos de café cru e torrados

Os atributos físicos dos grãos de café sadios e defeituosos das espécies arábica e robusta, antes e após a torração, estão apresentados na Tabela 15. Avaliando o volume dos grãos de café cru, pode ser observado que os grãos sadios são maiores do que os defeituosos, e que dentre os grãos defeituosos, o grão preto é o menor, independentemente da espécie avaliada. Estes resultados estão de acordo com os publicados por MENDONÇA et al. (2003) e FRANCA et al. (2005a), na caracterização física de grãos defeituosos da espécie arábica, e indicam que o tamanho dos grãos de café pode ser utilizado para a separação de grãos sadios dos defeituosos nas espécies avaliadas.

Considerando os grãos sadios, os da espécie arábica são maiores do que os robusta, como reportado por PITTIA et al., (2001). É interessante observar nos resultados apresentados na Tabela 15 que o menor grão arábica (defeituoso preto) ainda assim é maior do que o grão sadio robusta, reforçando a possibilidade de separação dos grãos por espécie, entretanto, desconsiderando a qualidade do grão de café (MARTIN et al, 1999; CASAL et. al, 2000).

Com a torração dos grãos de café o volume destes aumenta, como pode ser observado nos resultados apresentados na Tabela 15, conseqüência da produção de gás carbônico nas reações de pirólise, que rompe as estruturas celulósicas do grão de café (CLARKE, 1985). Observa-se que os grãos sadios e pretos torrados também apresentaram os maiores e menores volumes, respectivamente, com diferença significativa entre as espécies. Dentre as espécies avaliadas, os grãos da espécie robusta são menores do que os da espécie arábica, como podem ser observados na Tabela 15.

Considerando os grãos da espécie arábica, pode ser observado que os grãos defeituosos continuam menores do que os sadios, sendo que os grãos preto e ardido escuro apresentaram a menor variação do volume em comparação com as variações apresentadas pelos grãos ardido claro, imaturo e sadio. Estes comportamentos estão de acordo com os resultados de perda de massa dos grãos torrados apresentados na Tabela 15.

Dentre os grãos torrados da espécie robusta, este comportamento qualitativo não foi observado. Observa-se na Tabela 15, que os grãos sadio e preto apresentaram valores similares para a variação do volume com a torração e perda de massa. Estes resultados indicam que os grãos sadios torrados podem ser distinguidos dos defeituosos por tamanho somente na espécie arábica.

Na Tabela 15 também podem ser observados os resultados das densidades da partícula e do leito avaliadas nos grãos de café. Considerando os grãos de café cru, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre as espécies avaliadas, por tipo de grão de café, com exceção do grão preto robusta que possui a densidade do leito maior do que a do grão preto arábica. Pode ser observado também que o grão defeituoso preto apresentou os menores valores para as densidades avaliadas, independentemente da espécie, estando este resultado de acordo com os disponíveis na literatura para grãos de café arábica (FRANCA et al., 2005a).

Dentre os grãos de café arábica, observa-se que o grão sadio apresentou a maior densidade da partícula, como os resultados reportados por MENDONÇA et al. (2003) e FRANCA et al. (2005a). Qualitativamente estes resultados não foram observados nos grãos da espécie robusta.

Considerando os resultados apresentados de densidade do leito na Tabela 15, pode ser observado que independentemente da espécie, a maior densidade do leito foi encontrada para o grão defeituoso ardido claro. Entretanto, FRANCA et al. (2005a) caracterizando grãos de café arábica observaram que a densidade do leito dos grãos sadios não difere da densidade granular dos grãos ardidos.

Destaca-se que os resultados obtidos estão de acordo com os disponíveis na literatura para grãos de café arábica: (1200-1300 kg/m³) e (600-650 kg/m³) para as densidades da partícula e do leito, respectivamente (SIVETZ e DESROSIER, 1979; CLARKE e MACRAE, 1987; DUTRA et al., 2001; RODRIGUES et al., 2003; MENDONÇA et al., 2003; FRANCA et al., 2005a).

Tabela 15 – Parâmetros físicos dos grãos de café sadios e defeituosos da espécies arábica e robusta, antes e após a torração.

GRÃO CRU					
Parâmetro	Sadio	Verde	Ardido Claro	Ardido Escuro	Preto
	Grão arábica				
Volume (x10 ⁹ m ³)	114,9 ± 0,2 ^{a,x}	95,5 ± 1,9 ^{b,x}	98,7 ± 5,8 ^{b,x}	90,0 ± 2,9 ^{b,x}	75,8 ± 3,1 ^{c,x}
Densidade da partícula (kg/m ³)	1293 ± 17 ^{a,x}	1253 ± 19 ^{ab,x}	1249 ± 18 ^{ab,x}	1252 ± 22 ^{ab,x}	1218 ± 18 ^{b,x}
Densidade do leito (kg/m ³)	625,6 ± 2,2 ^{b,x}	621,4 ± 8,1 ^{b,x}	648,8 ± 1,0 ^{a,x}	609,0 ± 6,8 ^{bc,x}	595,5 ± 11,2 ^{c,x}
Grão Robusta					
Volume (x10 ⁹ m ³)	73,7 ± 2,1 ^{a,y}	51,7 ± 2,0 ^{c,y}	70,1 ± 1,2 ^{b,y}	66,0 ± 4,4 ^{b,y}	42,5 ± 2,6 ^{d,y}
Densidade da partícula (kg/m ³)	1248 ± 2 ^{d,x}	1275 ± 3 ^{b,x}	1297 ± 2 ^{a,x}	1265 ± 4 ^{c,x}	1187 ± 5 ^{e,x}
Densidade do leito (kg/m ³)	626,6 ± 8,0 ^{b,x}	642,5 ± 1,7 ^{b,x}	661,6 ± 6,9 ^{a,x}	641,6 ± 6,9 ^{b,x}	560,5 ± 8,0 ^{c,y}
GRÃO TORRADO					
Grão arábica					
Volume (x10 ⁹ m ³)	194,6 ± 7,3 ^{a,x}	160,8 ± 16 ^{bc,x}	170,6 ± 5,7 ^{b,x}	131,9 ± 13,1 ^{c,x}	91,0 ± 12,5 ^{d,x}
% Acréscimo	69	68	73	47	20
Densidade da partícula (kg/m ³)	657 ± 8 ^{c,y}	686 ± 9 ^{c,y}	655 ± 1 ^{c,y}	737 ± 32 ^{b,x}	904 ± 12 ^{a,x}
% Decréscimo	49	45	48	41	26
Densidade do leito (kg/m ³)	350 ± 2 ^{c,y}	361 ± 6 ^{c,y}	349 ± 4 ^{c,y}	396 ± 11 ^{b,y}	465 ± 8 ^{a,x}
% Decréscimo	44	42	46	35	22
Perda de Massa (%)	16,1 ± 0,4 ^{a,x}	14,5 ± 0,3 ^{b,x}	13,6 ± 0,6 ^{a,x}	12,1 ± 0,2 ^{c,y}	10,3 ± 0,5 ^{d,y}
Grão Robusta					
Volume (x10 ⁹ m ³)	98,7 ± 6,1 ^{a,y}	74,5 ± 1,9 ^{b,y}	110,6 ± 1,9 ^{a,y}	84,7 ± 9,1 ^{b,y}	58,1 ± 1,4 ^{c,y}
% Acréscimo	34	44	58	28	36
Densidade da partícula (kg/m ³)	876 ± 12 ^{a,x}	865 ± 4 ^{a,x}	801 ± 7 ^{b,x}	857 ± 28 ^{a,x}	841 ± 12 ^{a,y}
% Decréscimo	30	32	38	32	29
Densidade do leito (kg/m ³)	467 ± 5 ^{a,x}	468 ± 2 ^{a,x}	427 ± 4 ^{c,x}	446 ± 4 ^{b,x}	399 ± 4 ^{d,y}
% Decréscimo	26	27	36	31	29
Perda de Massa (%)	13,9 ± 0,3 ^{a,y}	13,4 ± 0,1 ^{a,y}	13,6 ± 0,6 ^{b,x}	13,1 ± 0,4 ^{ab,x}	12,6 ± 0,4 ^{b,x}

Média ± desvio padrão. Valores apresentados para um parâmetro específico seguido da mesma letra na mesma linha (a,b) ou na mesma coluna (x,y) não apresentaram diferenças significativas pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade

Durante a torração dos grãos de café as densidades destes diminuem devido ao aumento de volume do grão e a simultânea perda de massa (FRANCA e OLIVEIRA, 2008). Dentre os grãos de café arábica, o grão sadio é o menos denso, e, pode ser observado que os grãos defeituosos preto e ardido escuro apresentaram os maiores valores de densidades em comparação aos demais grãos de café. Este resultado pode ser atribuído aos menores volumes destes grãos e as suas menores perdas de massa, como consequência de graus de torra inferiores atingidos (FRANCA et al., 2005a).

Observando os valores percentuais de redução das densidades, nota-se que os grãos defeituosos preto e ardido escuro apresentaram as menores variações, estando de acordo com os resultados acima apresentados, indicando que o grau de torrefação influencia na percentagem de redução das densidades dos grãos (CLARKE, 1985; DUTRA et al., 2001). Este comportamento qualitativo não foi observado nas amostras dos grãos robusta, nas quais não foram encontradas diferenças entre as reduções das densidades dos grãos defeituosos e sadios. Entretanto, avaliando as variações das densidades dos grãos por espécie, pode ser observada a tendência dos grãos arábica apresentarem maiores valores do que os apresentados pelos grãos robusta.

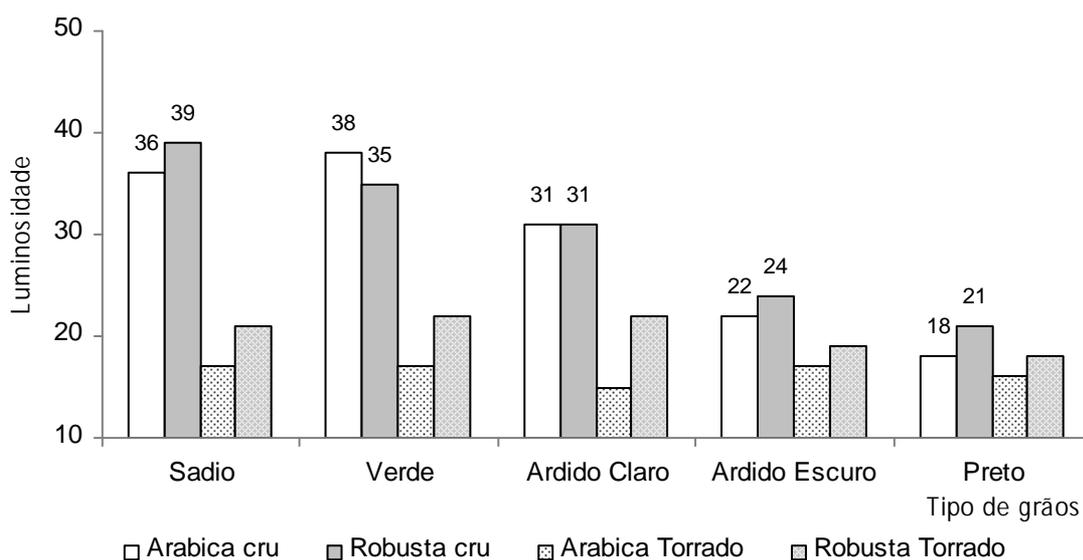
Ressalta-se que os valores encontrados para a redução percentual da densidade do leito dos grãos sadio, verde e imaturo estão de acordo com os encontrados na literatura (SIVETZ e DESROZIER, 1979; CLARKE, 1987a; DUTRA et al., 2001) que são de 45% para uma torra leve a média e de 60% para uma torra média a escura.

Avaliando a luminosidade dos grãos de café inteiros, Figura 25(a), pode ser observado que, independentemente da espécie avaliada, os grãos ardido escuro e preto apresentaram a menor luminosidade do que os grãos ardido claro, imaturos e sadios, indicando que este atributo pode ser utilizado com sucesso para separar os grãos ardido escuro e preto dos sadios, verde e ardido claro. Este resultado está de acordo com os encontrados na literatura para o café arábica (MENDONÇA et al. 2003; BORGES et al., 2002; FRANCA et al., 2005a; VASCONCELOS, 2006). Destaca-se que não foi encontrada diferença entre os valores de luminosidade dos grãos sadios e imaturos, de ambas as espécies avaliadas, evidenciando a não seletividade deste parâmetro no caso dos grãos sadios e imaturos, justificando a presença de grãos sadios na mistura de grãos defeituosos, como reportado por FRANCA e OLIVEIRA (2008). Observa-se na Figura 25(a) que, somente para o grão preto foi encontrada diferença entre os valores de luminosidade por espécie, sendo o grão preto da espécie arábica menos luminoso que os da espécie robusta.

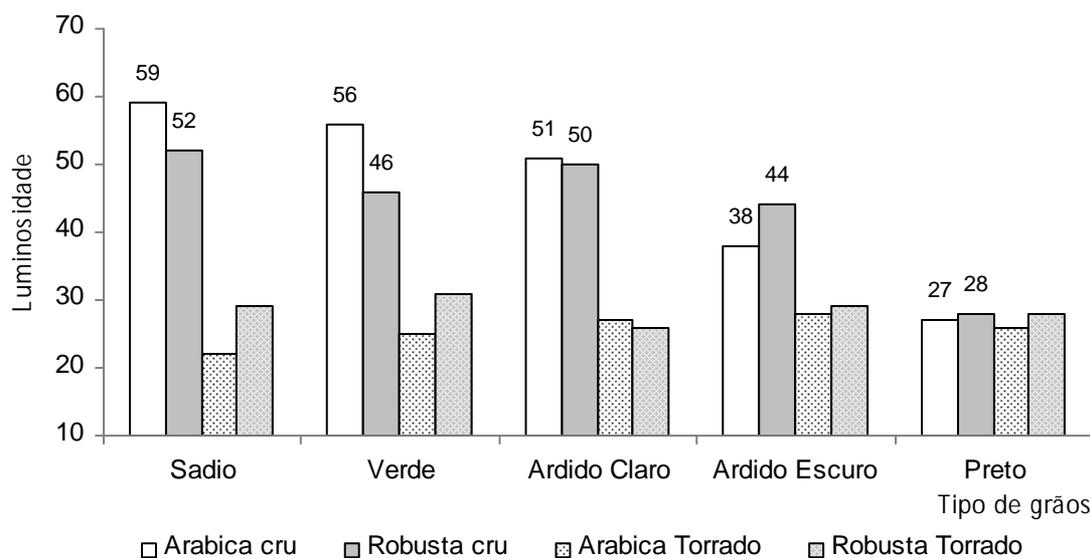
A luminosidade da superfície do grão de café é diminuída com a torração destes, como pode ser observado na Figura 25(a). Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre as luminosidades dos grãos sadios e defeituosos, para ambas as espécies avaliadas. Observa-se ainda que os grãos arábica são menos luminosos do que os robusta e a menor diferença pode ser observada (Figura 25a) entre os grãos ardido escuro e preto.

Avaliando o processo de moagem dos grãos de café antes e após a torração, observa-se que a luminosidade aumentou independentemente da espécie avaliada, como pode ser observado ao comparar as Figuras 25 (a) e (b), evidenciando que a superfície do grão cru é mais escura do que seu interior. Este resultado está de acordo com o reportado por FRANCA et al. (2005a). Destaca-se que o interior dos grãos sadio e imaturo arábica é mais luminoso do que o destes mesmos grãos da espécie robusta.

Após a torração dos grãos de café, este comportamento qualitativo é menos pronunciado, isto é, a diferença de luminosidade entre o exterior e interior do grão é menor, quando comparada à diferença de luminosidade existente entre a superfície e o interior do grão cru.



(a)



(b)

Figura 25 – Luminosidade dos grãos de café arábica e robusta, antes e após a torração, grãos inteiros (a) e grãos moídos (b).

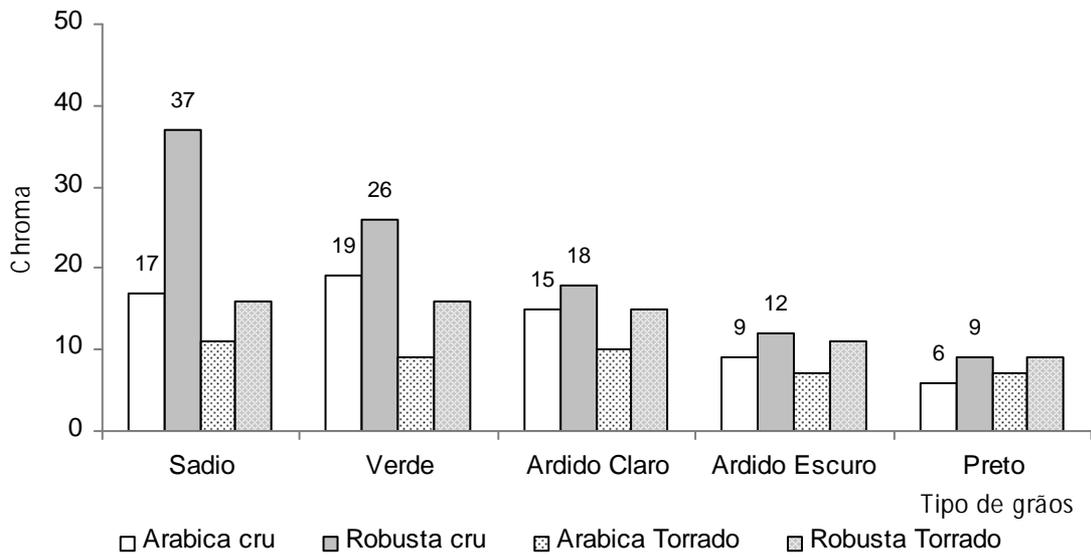
Avaliando os resultados de saturação da cor dos grãos inteiros (Figura 26a), pode ser observado que dentre os grãos defeituosos, os grãos ardido escuro e preto apresentaram os menores valores, para ambas as espécies. Este resultado está de acordo com os apresentados por MENDONÇA et al. (2003) e FRANCA et al. (2005a) para grãos arábica. Dentre as espécies avaliadas, os grãos da espécie robusta apresentaram a superfície com a cor mais saturada do que a os grãos de café da espécie arábica.

Considerando os grãos de café cru, da espécie arábica, não foram encontradas diferenças entre os valores de croma entre as superfícies dos grãos sadio, verde e ardido claro. Dentre os grãos de café da espécie robusta, é possível observar que este parâmetro de cor promove uma separação entre os grãos sadio e defeituosos, sendo destacado o valor de croma apresentado pela superfície do grão imaturo.

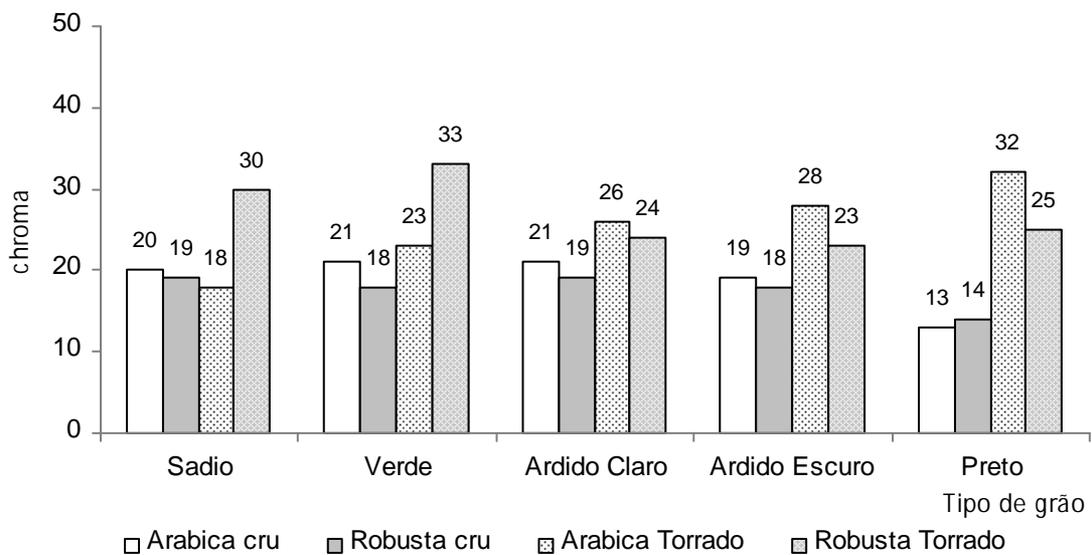
Com a moagem dos grãos cru não foi encontrada nenhuma diferença entre os valores de croma entre as espécies avaliadas, como pode ser observado na Figura (26b). Independentemente da espécie, observa-se que o grão preto apresentou um valor de croma um pouco menor do que os encontrados para os demais grãos.

Após a torração dos grãos, não foram encontradas diferenças entre os valores de croma da superfície dos grãos sadios e defeituosos das espécies arábica e robusta. Entretanto, os grãos arábica apresentaram superfícies com a cor menos saturadas do que a dos grãos robusta.

Dentre os grãos de café torrados e moídos, Figura 26(b), pode ser observada uma associação indireta entre o valor da saturação da cor dos grãos de café arábica com a sua qualidade sensorial, isto é, os grãos defeituosos tendem a apresentar valores maiores de saturação da cor do que o grão sadio. Dentre os grãos robusta, os sadios e imaturos apresentaram um valor de saturação um pouco maior do que os demais grãos de café.



(a)

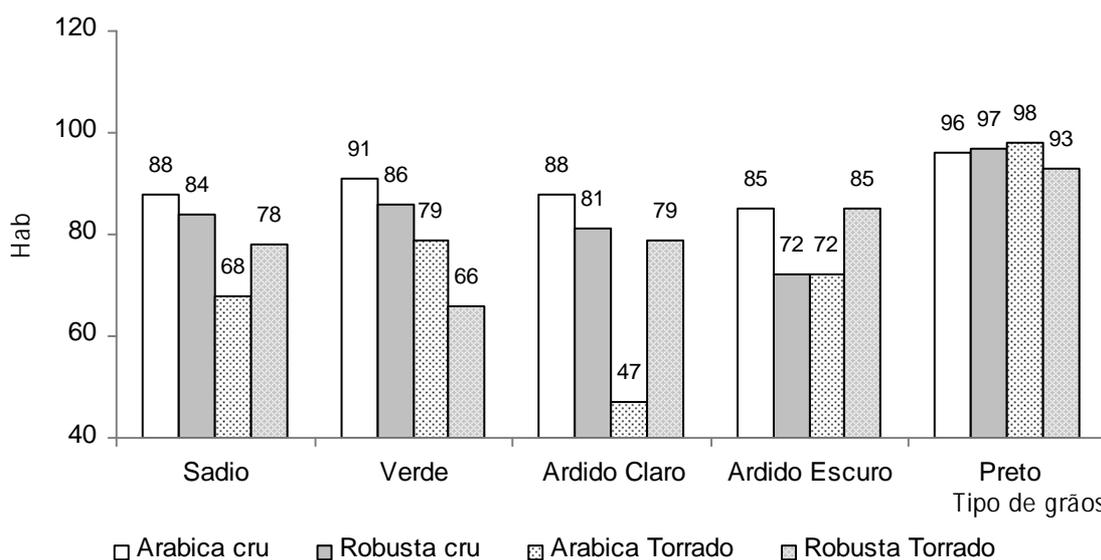


(b)

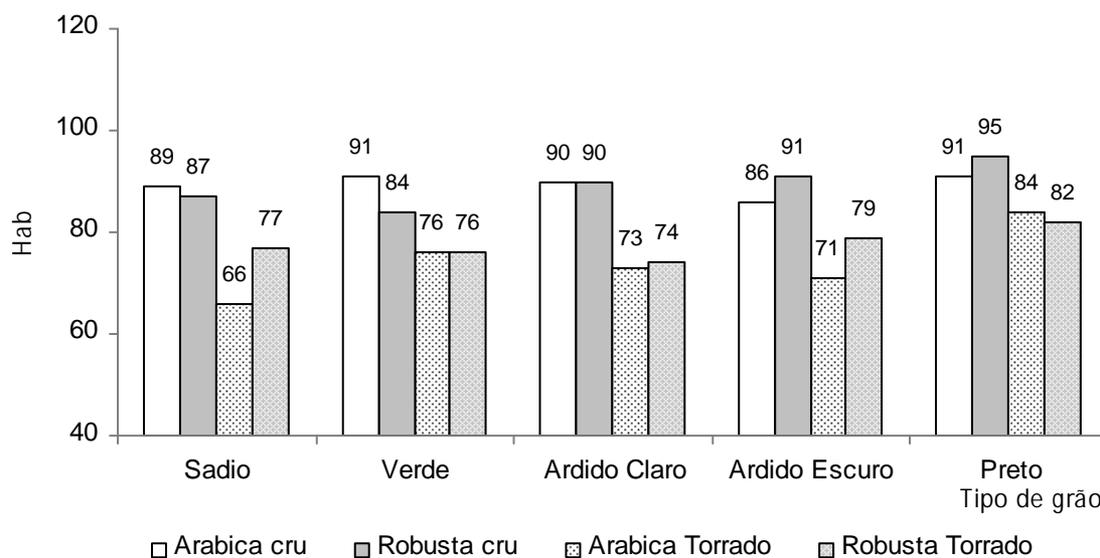
Figura 26 – Cromo dos grãos de café arábica e robusta, antes e após a torração, grãos inteiros (a) e grãos moídos (b).

Os resultados da tonalidade da cor da superfície dos grãos de café arábica e robusta estão apresentados na Figura 27 (a). Observa-se que os maiores valores (> 90) são dos grãos pretos antes e após a torração, de ambas as espécies, correspondendo à tonalidade cinza amarronzada. Este resultado está de acordo FRANCA et al. (2005a) que mostraram que o grão defeituoso preto apresentou o maior valor de tonalidade, correspondendo a tonalidade preto esverdeada.

Entretanto, observa-se a ocorrência de valores de tonalidade da cor dos grãos menores do que 85, indicando uma tendência de tonalidade marrom amarelada. Estes resultados não eram esperados e podem ser atribuídos ao tempo de estocagem das amostras, uma vez que os grãos de café utilizados neste trabalho foram colhidos há 4 anos atrás. De acordo com FREITAS (2001), a superfície dos grãos arábica tende a tonalidade amarelada e às vezes amarronzada após poucos anos de colheita, sendo a tonalidade verde acinzentada a usualmente observada (SIVETZ e DESROIZIER, 1979; FREITAS, 2001). Dentre os grãos de café robusta, a tonalidade amarronzada é a associada à qualidade.



(a)

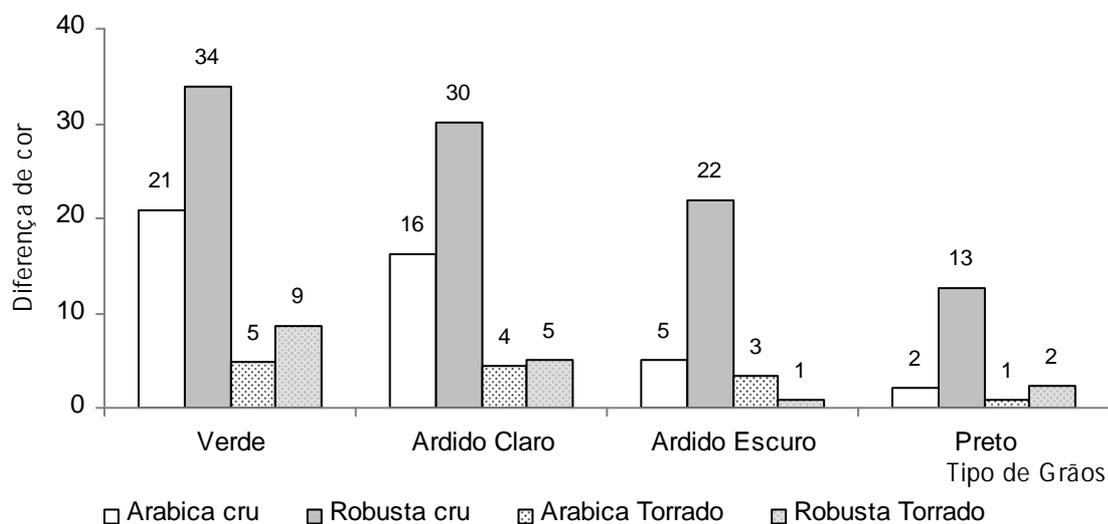


(b)

Figura 27 – Tonalidade (Hab) dos grãos de café arábica e robusta, antes e após a torração, grãos inteiros (a) e grãos moídos (b).

Os resultados da diferença de cor entre a superfície do grão de café defeituoso e o grão sadio, de cada espécie e entre as espécies, para cada tipo de grão de café são apresentados nas Figuras 28 (a) e (b), respectivamente. Pode ser observado na Figura 28 (a) que a cor da superfície do grão de café é um parâmetro adequado para a separação dos grãos defeituosos dos sadios, somente para os grãos da espécie robusta. Dentre os grãos arábica, a separação entre os grãos defeituosos e o sadio é eficiente somente para os grãos preto e ardido escuro. Os grãos defeituosos verde e ardido claro apresentam superfícies com cores similares a do grão sadio, sendo a máquina de separação de cor utilizada não seletiva entre estes grãos defeituosos e o grão sadio. Assim, a mistura de grãos de café rejeitados provavelmente conterá um percentual considerável de grãos sadios, uma vez que os grãos imaturos e ardido claro não são eficientemente separados. FRANCA et al. (2005a), FRANCA et al. (2005b), FARAH et al. (2006) e VASCONCELOS et al. (2007), trabalhando com grãos de café arábica, reportaram altos percentuais de grãos sadios em misturas PVA ou em cafés de baixa qualidade sensorial. Então, tornam-se evidente a necessidade de avaliação de métodos analíticas capazes de discriminar os grãos de café sadios dos defeituosos, principalmente os grãos imaturos e ardido claro.

Após a torração dos grãos de café, não foram encontradas diferenças entre as cores das superfícies dos grãos defeituosos e do grão sadio, para ambas as espécies avaliadas.



(a)

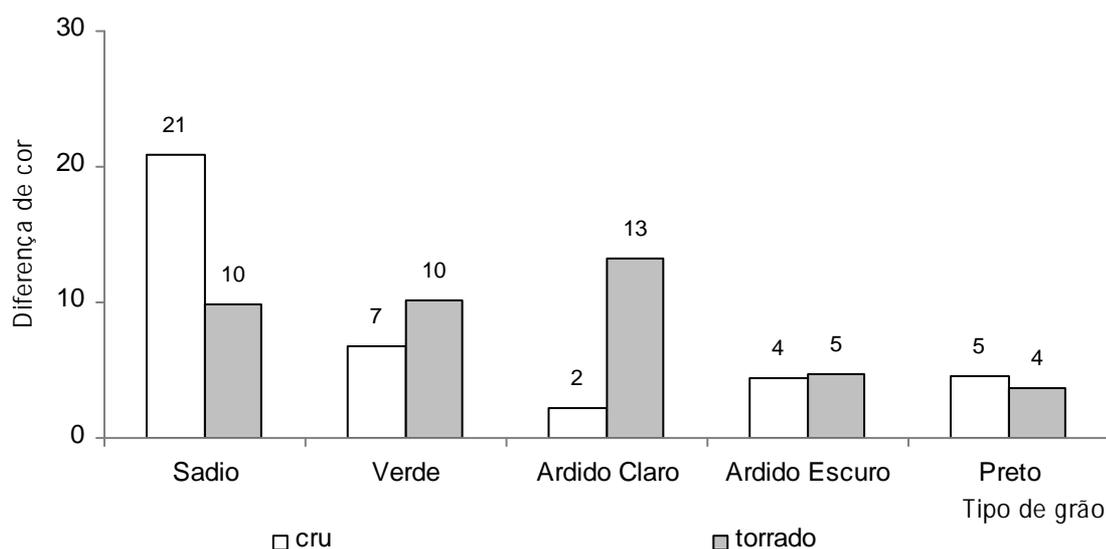


Figura 28 – Diferença de cor entre a superfície (a) dos grãos sadios e defeituosos e (b) entre os grãos arábica e robusta, por tipo de grão, cru e torrado.

Pode ser observado na Figura 28 (b) que a maior diferença de cor entre as espécies avaliadas corresponde ao grão cru sadio e ardido claro torrado, indicando que este atributo físico pode ser utilizado para uma separação eficiente dos grãos de café por

espécie, somente para grãos de qualidade. Não foram observadas diferenças de cor entre as espécies avaliadas para os grãos ardido escuro e preto.

Os resultados aqui apresentados estão compilados na forma de um artigo apresentado no Anexo C, já enviado e em revisão no Journal of Food Engineering.

A separação dos grãos defeituosos dos grãos sadios, antes da torrefação, é uma prática necessária para a manutenção da qualidade do produto final, uma vez que é consenso o efeito depreciativo dos grãos defeituosos na qualidade da bebida. O tamanho dos grãos de café é um parâmetro eficiente, uma vez que os grãos sadios são maiores do que os defeituosos. Entre as espécies, os grãos arábica são maiores do que os robusta. Entretanto, associada à separação por tamanho está a separação por cor, que é ineficiente para separar os grãos imaturos e ardido claro dos grãos sadios, da espécie arábica; e separar os grãos de café defeituosos por espécie. Desta forma, é comum a ocorrência de grãos sadios na mistura de grãos rejeitados, acarretando um prejuízo ao produtor, que zela pela qualidade de seu produto.

Destaca-se que, após a torração dos grãos de café, não houve a separação dos grãos por espécie e tipo de grão.

Diante do exposto, tornam-se evidentes a busca e a avaliação de técnicas analíticas que discriminem os grãos sadios dos defeituosos e por espécie antes e após a torrefação destes. Nos capítulos seguintes serão apresentados os estudos de possibilidade de separação dos grãos de café por defeito e por espécie, antes e após da torrefação. Antes, porém, será apresentada uma avaliação dos métodos de extração aquosa das amostras, etapa precedente à avaliação da técnica analítica para a discriminação dos grãos de café.

5.3 – Avaliação dos métodos de extração

A eficiência dos métodos de extração aquosa foi avaliada quantitativamente através da determinação colorimétrica dos carboidratos totais nas amostras de grãos de café arábica sadio e defeituosos preto, por apresentarem o maior e menor teor de sacarose, respectivamente (MAZZAFERA, 1999; VASCONCELOS et al., 2006). Os resultados são apresentados na Figura 29, na qual se confirma o comportamento apresentado na literatura (MAZAFFERA,1999; VASCONCELOS et al.,2006), de que o grão sadio possui maior teor de carboidratos totais solúveis em água do que o grão defeituoso preto, expresso como % (p/p) de glicose (b.s.).

Considerando os métodos de extração avaliadas não foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) entre elas. Mas, observa-se uma grande variabilidade experimental na extração dos carboidratos totais a quente no grão sadio. Esta variabilidade pode ter contribuído negativamente para uma possível diferenciação entre as métodos. Entretanto, pode ser observada tendência do banho de ultra-som em extrair mais massa solúvel em água. Então, devido à alta variabilidade experimental e a menor eficiência de extração, para ambos os tipos de grãos, a extração aquosa a quente foi descartada.

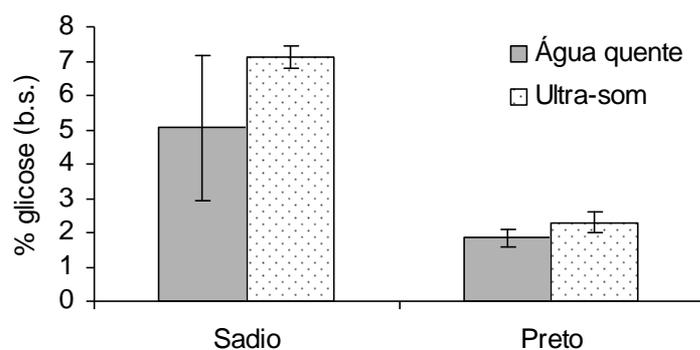


Figura 29 – **Extração aquosa dos carboidratos solúveis por ultra-som (Ultra-som) e com aquecimento (Água quente).**

Com o objetivo de diminuir o tempo de extração no ultra-som, o café sadio arábica foi submetido a extrações no banho de ultra-som durante 1, 2 e 3 horas. A influência do tempo de extração foi avaliada como de % (p/p) de carboidratos totais no extrato aquoso, expresso como % (p/p) de glicose. O resultado é apresentado na Tabela 16. Os tempos de extração não diferem entre si (p -valor $< 0,05$), mas, observa-se uma tendência de aumento do desvio padrão com a diminuição do tempo de extração.

Tabela 16 – Porcentagem de carboidratos totais em função do tempo de extração para grãos de café sadio arábica.

Tempo (h)	% Glicose (b.s.)
1	6,89 ± 0,6
2	7,07 ± 0,5
3	7,13 ± 0,3

Durante as extrações no banho de ultra-som, foi observado o aquecimento da água do banho, que foi monitorada com o auxílio de um termômetro. Na Figura 30 é apresentado o perfil de temperatura da água do banho de ultra-som em função do tempo de extração. Observa-se que a temperatura máxima alcançada foi aproximadamente 40 °C. Este resultado indica que possivelmente as degradações térmicas dos compostos aquosos são pequenas, uma vez que, por exemplo, os carboidratos degradam-se consideravelmente, via reação de Maillard, em temperaturas acima de 40 °C (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

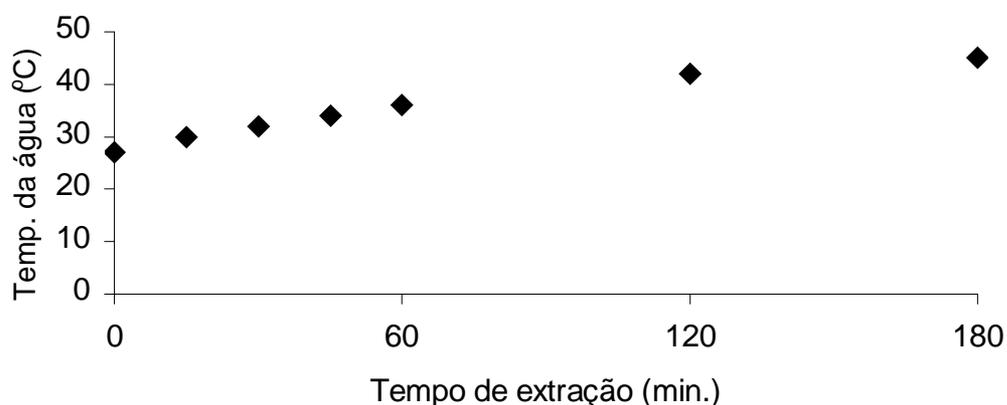


Figura 30 – Perfil de temperatura da água do banho de ultra-som em função do tempo de extração.

Diante dos resultados apresentados, a extração aquosa no ultra-som por 3 horas foi o método utilizado neste trabalho para produção dos extratos aquosos dos grãos de café sadios e defeituosos.

A massa solúvel em água extraída dos grãos de café arábica cru foi quantificada gravimetricamente para garantir a eficiência do método de extração adotado. Apesar do alto coeficiente de variação (> 10 %) encontrado, as massas solúveis em água extraída dos grãos de café cru arábica sadio e preto foram de 35% (p/p) e 20% (p/p), respectivamente. Os resultados obtidos estão de acordo com os publicados na literatura (De MARIA et al., 1994), sendo de 30% (p/p) a eficiência de extração aquosa em grãos de café sadios, confirmando a eficiência do método de extração adotado. Ressalta-se que a porcentagem de massa extraída do grão preto é menor do que a extraída do grão sadio, podendo este resultado ser associado ao menor teor de carboidratos presentes no grão preto (MAZAFFERA, 1999; VASCONCELOS et al., 2006) e a sua menor porosidade (FRANCA et al., 2005a).

Na seção seguinte, é apresentada a caracterização química dos extratos aquosos obtidos após a avaliação dos métodos utilizando a espectrometria de massas com ionização por electrospray.

5.4 – Caracterização por espectrometria de massas com ionização por electrospray

5.4.1 – Grãos de cafés cru

Os extratos aquosos, sem a fração etérea, dos grãos de café sadios e defeituosos das espécies arábica e robusta foram injetados diretamente no espectrômetro de massa com ionização por electrospray, considerando os modos de ionização positivo e negativo. Desta forma foram obtidos os espectros, considerados como a impressão digital (*fingerprinting*) característica de cada grão de café, como os obtidos por de MOLLER et al. (2006) para amostras de óleos essenciais, GÓMEZ-ARIZA et al. (2006) que pesquisaram a autenticação de óleo de oliva e GOODACRE et al. (2003) que trabalharam com extratos vegetais não fracionados.

Na Figura 31 apresentam-se os espectros ESI(+)-MS dos extratos aquosos dos grãos de café crus arábica. Observa-se que há uma variedade de compostos aquosos que são compostos moleculares carregados positivamente, e que, a ocorrência destes

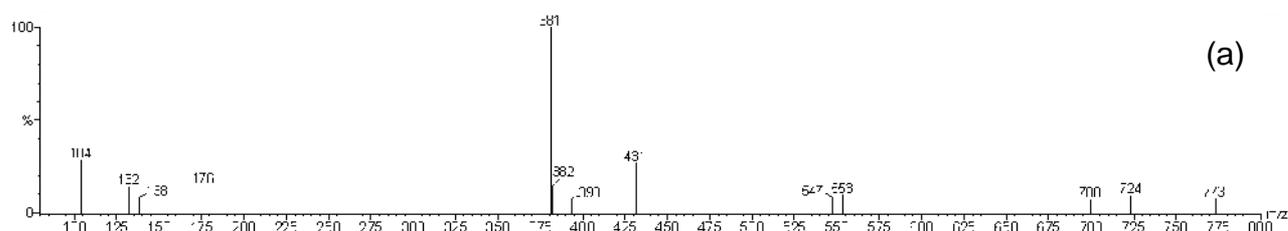
compostos aumenta com a intensidade do processo de fermentação sofrido pelo grão de café.

Os extratos dos grãos de café sadio e verde apresentaram o íon mais abundante de m/z 381. Os cátions de m/z 104, 176 e 219 foram detectados e também caracterizam os espectros dos grãos de café arábica sadio e verde mesmo que em proporções menores. Comparando o espectro do grão sadio (maduro) com o do grão verde (imaturo) observam-se a tendência de aumento da intensidade do cátion de m/z 431 e o desaparecimento de alguns íons menos intensos nas faixas de m/z 180 a 280, 430 a 560 com o amadurecimento do grão.

Os espectros dos grãos defeituosos ardido claro, ardido escuro e preto são caracterizados pela maior abundância do cátion de m/z 176, indicando, possivelmente, a quebra ou perda de algum composto que pode estar associado ao processo fermentativo que estes grãos de café sofreram. Este composto molecular também foi detectado nas amostras de café da safra anterior só que em intensidades menores, o que não o tornou o íon marcador ou mais abundante.

Ao comparar os espectros dos grãos defeituosos fermentescíveis, Figuras 31 (c), (d) e (e), algumas tendências podem ser observadas como a diminuição das intensidades dos íons de m/z 381 e 219, o aumento das intensidades dos íons de m/z 269 e 431 e a maior ocorrência de cátions de pequena intensidade à medida que o grão de café sofre fermentação. A variação das intensidades dos íons de m/z 381 e 431 em função do tipo de grão de café defeituoso também foi observada para os grãos da safra anterior e pode ser associado ao processo fermentativo sofrido pelos grãos de café.

É interessante observar que os espectros dos grãos de café ardido claro e escuro e preto apresentaram vários compostos com intensidades relativas que se destacam das demais numa primeira inspeção visual, sendo os cátions de m/z 104, 132, 138, 219, 269, 381, 431, 547 e 553. Pode ser observado também que o cátion m/z 269 foi detectado somente nos espectros dos grãos defeituosos.



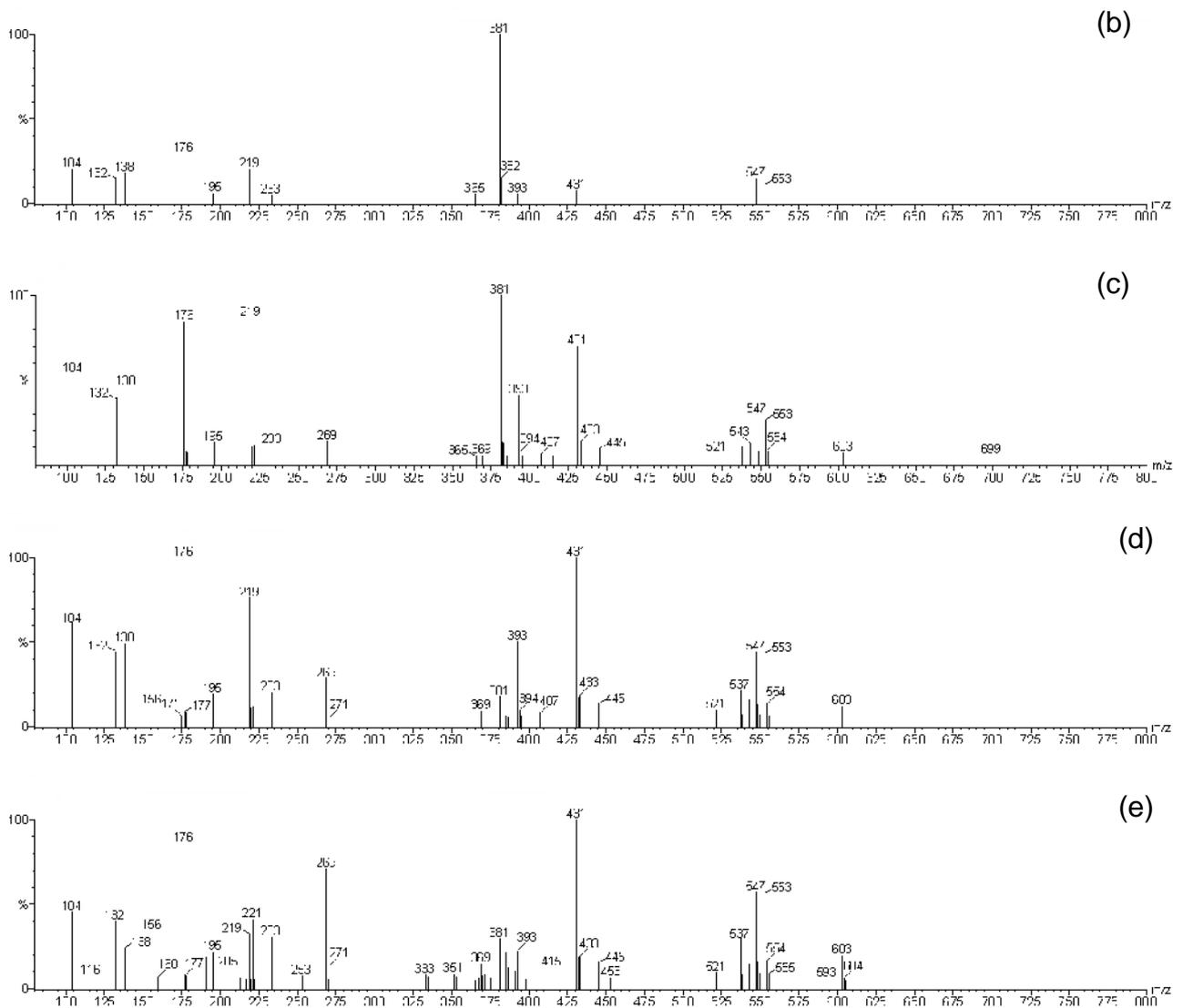


Figura 31 - Espectros dos grãos de café arábica cru gerados por ESI(+)-MS - (a) grão sadio, (b) grão verde, (c) grão ardido claro, (d) grão ardido escuro e (e) grão preto

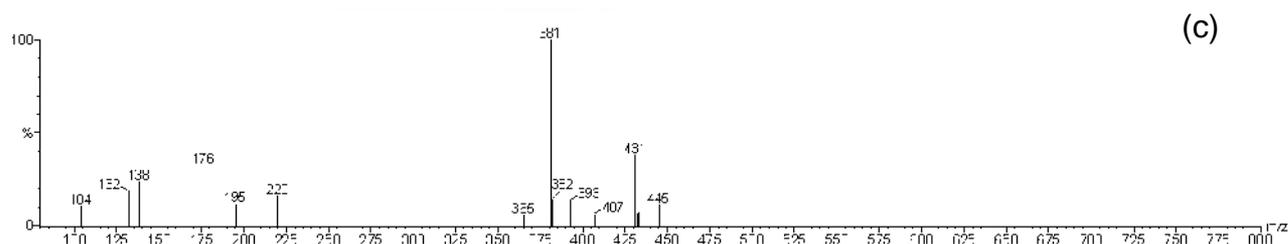
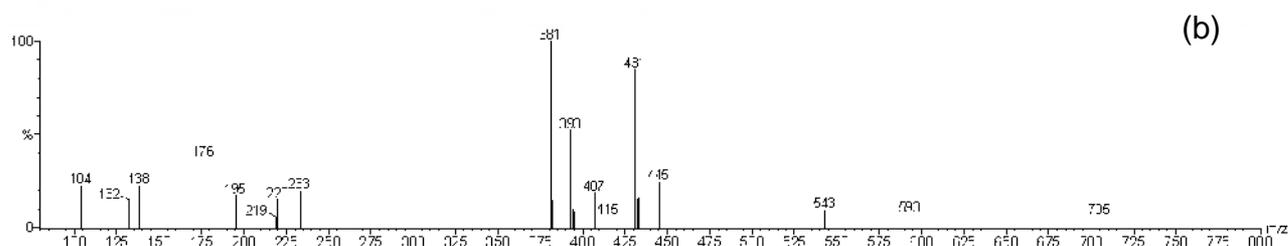
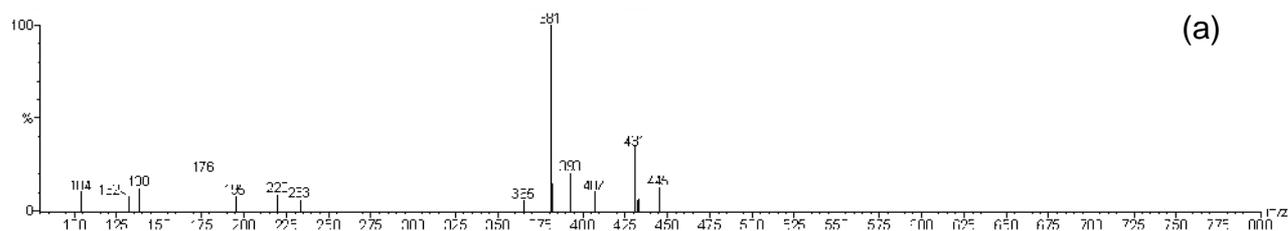
Os espectros característicos das amostras de café da espécie robusta estão apresentados na Figura 32. Estes são caracterizados pelo íon protonado de m/z 381 como o mais abundante, com exceção do grão preto, que possui o cátion m/z 431 como o mais abundante. De uma maneira geral, observa-se que os extratos aquosos dos grãos de café crus da espécie robusta contêm menos compostos hidrofílicos ionizados positivamente quando comparados aos extratos aquosos dos grãos de café da espécie arábica.

Além do íon mais abundante, os espectros dos grãos sadio e verde da espécie robusta caracterizam-se pela ocorrência significativa dos cátions 104, 176, 393 e 431. Comparando visualmente os espectros dos grãos sadio e verde (imaturo) observa-se a

diminuição da intensidade dos cátions na faixa de m/z 100 a 270, 390 a 700 a medida que o grão amadurece. Especificamente para o cátion de m/z 431, este comportamento qualitativo não foi observado para os grãos de café sadio e verde da espécie arábica, sendo que, para esta espécie, o composto m/z 431 tem sua intensidade aumentada em função do amadurecimento do grão de café.

Considerando os outros grãos defeituosos, Figuras 32 (c), (d) e (e), observa-se que a quantidade de compostos hidrofílicos carregados positivamente aumenta em função do grau de fermentação sofrida pelo grão de café, indicando, a relação destes compostos com o processo fermentativo sofrido pelo grão. Qualitativamente este comportamento também foi observado para os grãos de café da espécie arábica.

Pode ser notado ainda que as intensidades dos compostos m/z 104, 176 e 431 aumentam em função do grau de fermentação sofrido pelo grão de café, e a intensidade do composto m/z 381 diminui. Estes resultados podem estar associados à intensidade do processo fermentativo ocorrido no grão de café.



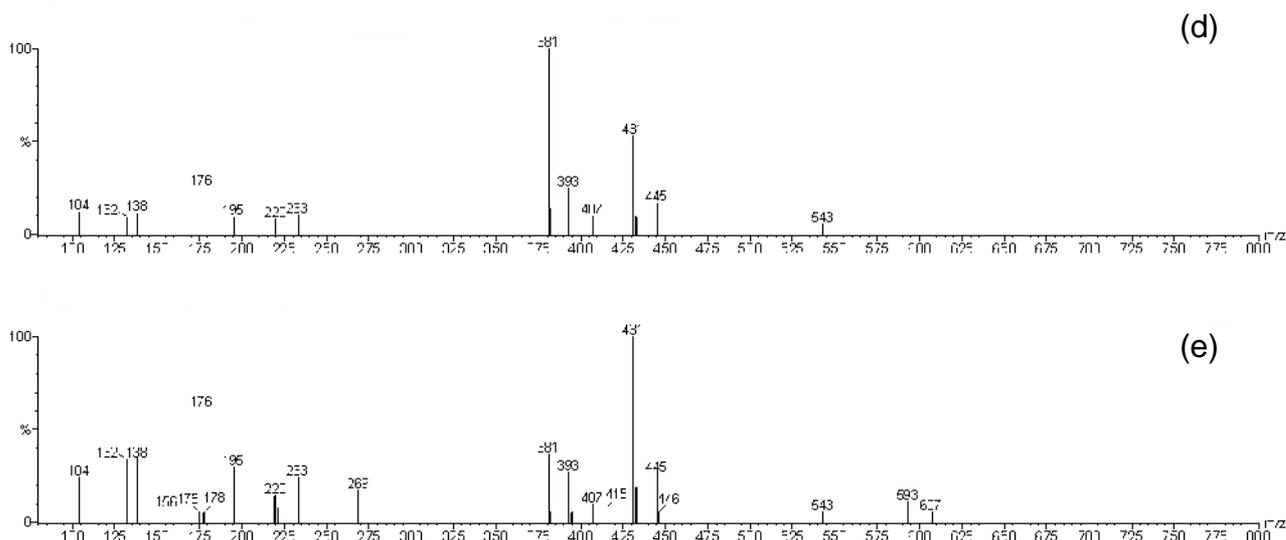


Figura 32 - Espectros dos grãos de café cru robusta da safra 2003/2004 gerados por ESI(+)-MS - (a) grão sadios, (b) grãos verde, (c) grão ardido claro, (d) grão ardido escuro e (e) grão preto

Comparando os grãos sadios das espécies arábica e robusta (Figuras 31(a) e 32(a)) observa-se a similaridade dos respectivos espectros, sendo o cátion m/z 381 o mais abundante. Quanto aos grãos verdes, à similaridade entre os espectros também pode ser observada, com exceção do cátion m/z 431 que possui intensidade significativa no espectro do grão verde da espécie robusta (Figura 32b).

Considerando os grãos de café que fermentaram, algumas diferenças podem ser observadas entre as intensidades dos cátions de m/z 104, 132, 138, 176, 219, 269, 381 e 431 considerando as espécies de café. Mas, para todos estes citados, as suas intensidades relativas são maiores nos espectros dos grãos de café da espécie arábica, indicando a maior ocorrência destes compostos nos grãos da espécie arábica. A diminuição da intensidade do cátion m/z 381 e o aumento da intensidade do cátion m/z 431 em função da intensidade do processo fermentativo sofrido pelo grão foi um comportamento qualitativo observado para os grãos de café defeituosos independentemente da espécie de café. Mas, nota-se que, nos grãos de café arábica fermentecíveis, o composto protonado mais abundante é o de m/z 176.

Na Figura 33 são apresentados os espectros dos extratos aquosos dos grãos de café arábica, obtidos com a injeção direta da amostra no modo negativo de ionização. Os espectros ESI(-)-MS são caracterizados pelo ânion mais abundante de m/z 191 e pelo pequeno número de compostos ionizáveis negativamente.

Comparando os grãos verdes e sadios, observa-se um aumento na intensidade do ânion de m/z 353 com o amadurecimento do grão de café, como pode ser visto nas Figuras 33 (a) e (b). Dentre os grãos ardido claro, ardido escuro e preto, pode ser observado que a intensidade do íon m/z 353 diminui em função da intensidade do processo fermentativo sofrido pelos grãos de café ardido claro, escuro e preto.

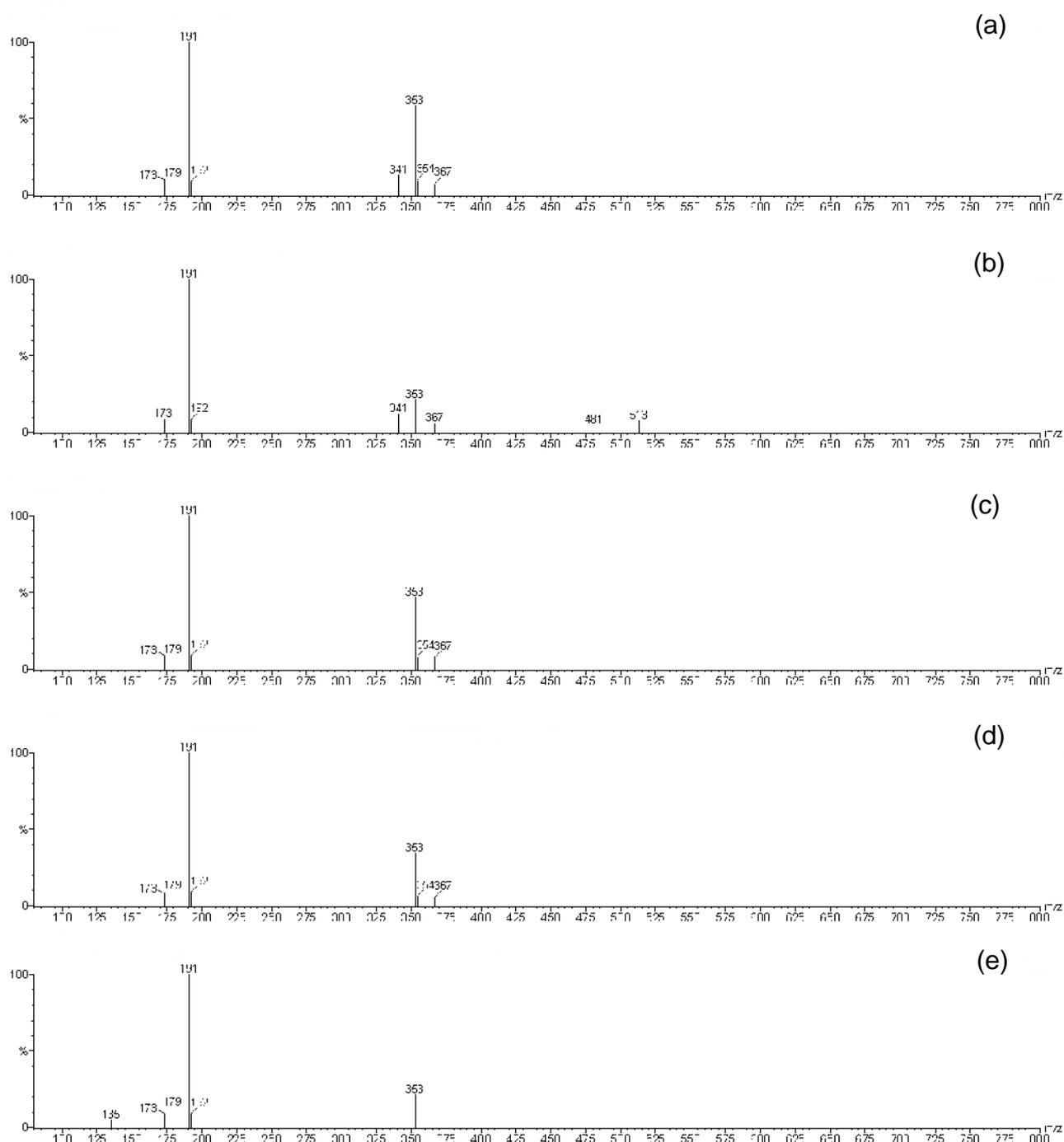
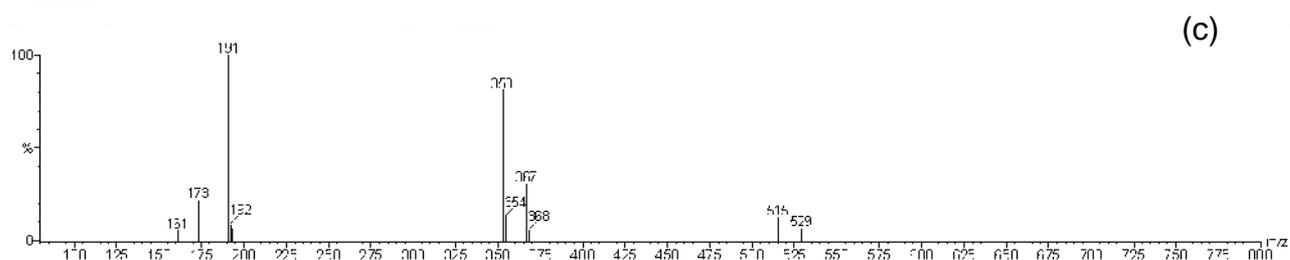
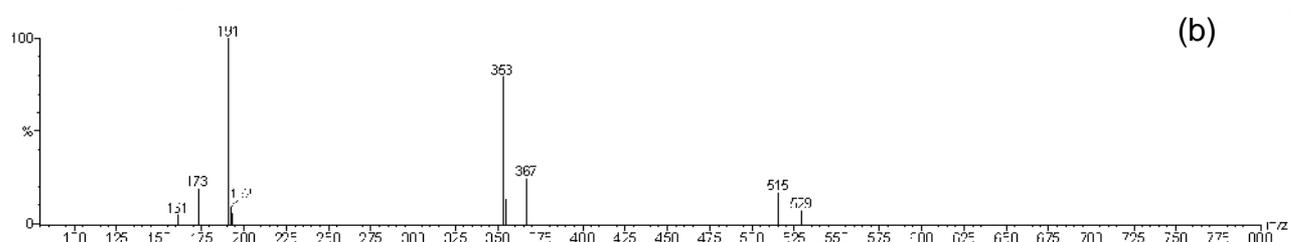
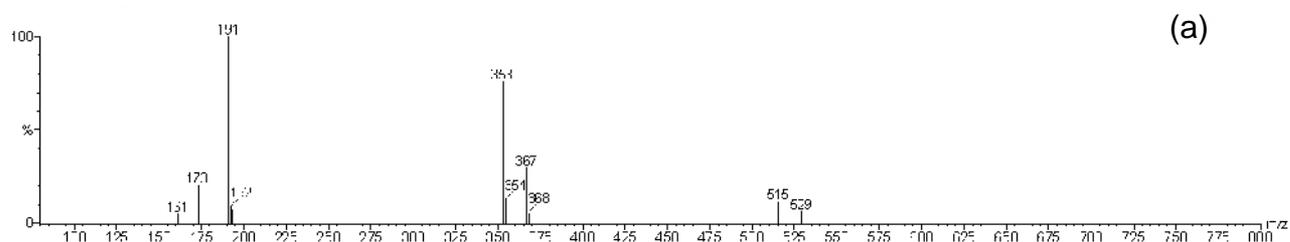


Figura 33 - Espectros dos grãos de café arábica cru obtidos por ESI(-)-MS - (a) grão sadios, (b) grão verde, (c) grão ardido claro, (d) grão ardido escuro e (e) grão preto.

Os espectros dos extratos aquosos dos grãos de café da espécie robusta são apresentados na Figura 34. Estes também são caracterizados pela abundância do ânion de m/z 191 e pelo pequeno número de compostos moleculares carregados negativamente, quando comparado ao número de compostos carregados positivamente, para a mesma amostra.

Destaca-se a ocorrência do composto molecular carregado negativamente ($m/z = 353$) em todos os espectros. Entre os grãos imaturos e maduros, Figuras 34 (a) e (b) observa-se a tendência deste composto em diminuir sua intensidade relativa com o amadurecimento do grão. Dentre os grãos de café fermentecíveis, observa-se também a tendência de diminuição da intensidade relativa deste composto em função da fermentação ocorrida nos grãos de café. Este comportamento qualitativo foi observado nos grãos de café arábica, mas, comparando os espectros apresentados nas Figuras 33 e 34, observa-se que a intensidade deste composto ($m/z = 353$) é maior nos grãos de café da espécie robusta do que nos grãos de café da espécie arábica.



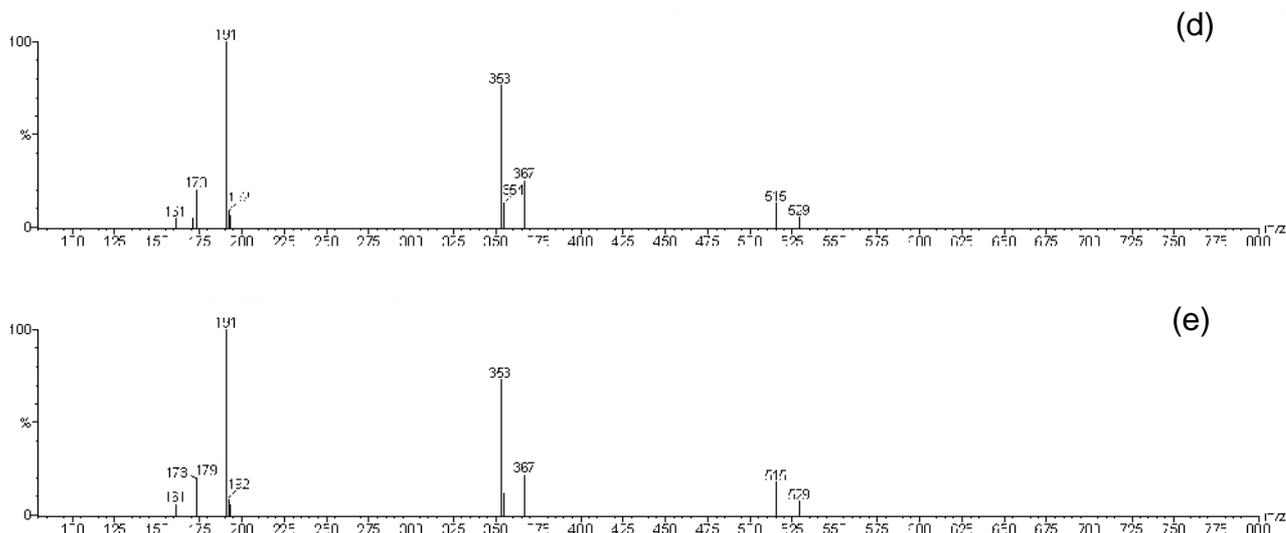
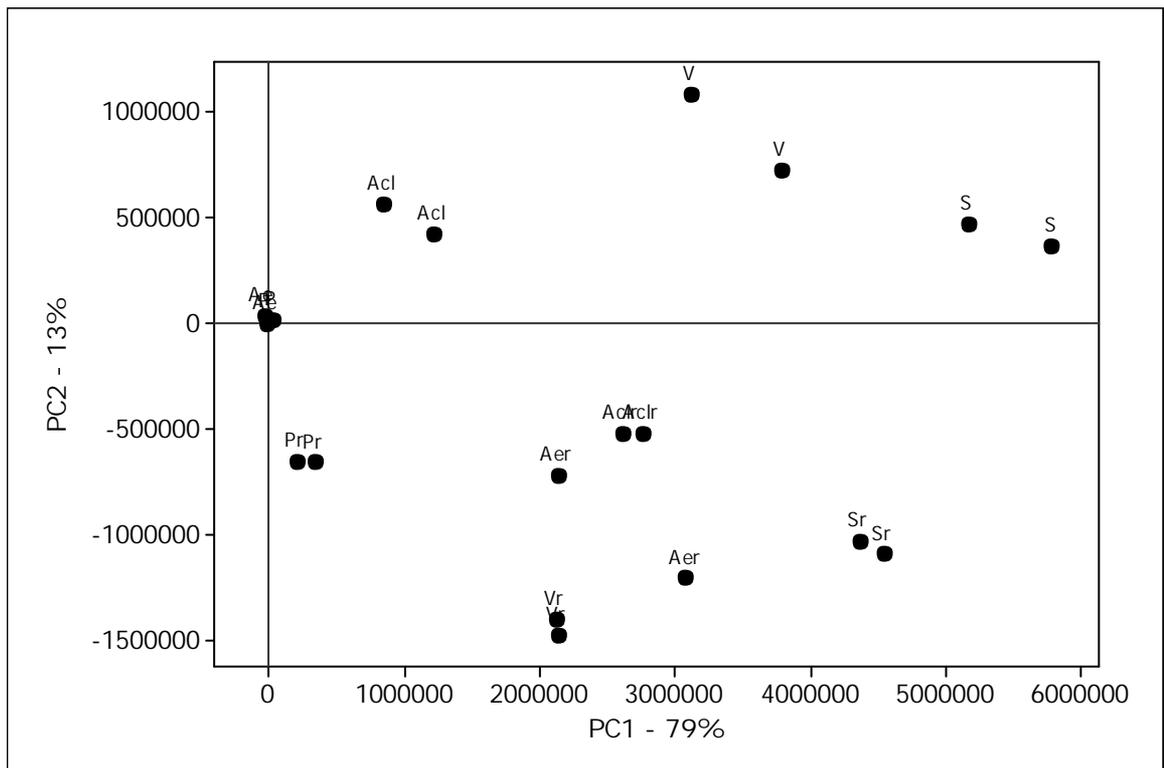


Figura 34 - Espectros dos grãos de café robusta cru safra 2003/2004 obtidos por ESI(-)-MS - (a) grão sadios, (b) grãs verde, (c) grão ardido claro, (d) grão ardido escuro e (e) grão preto.

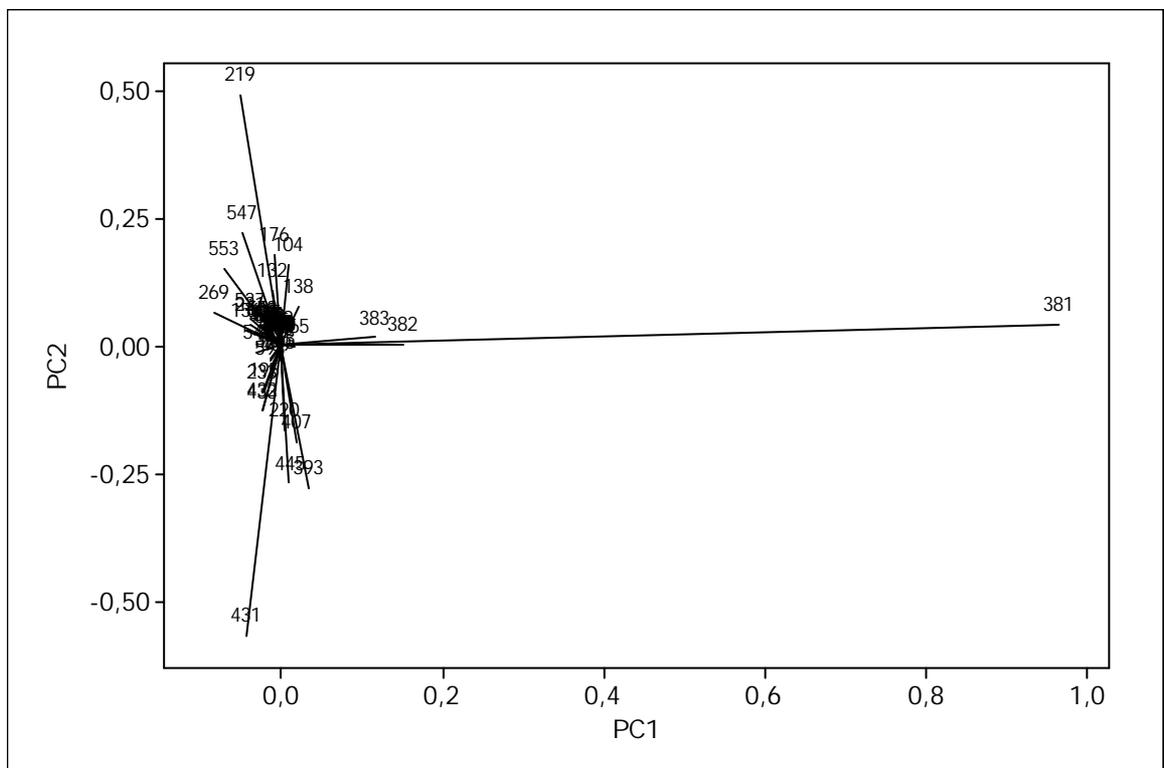
Comparando estes resultados com os espectros obtidos no modo positivo de ionização (Figura 31), com os apresentados na Figura 33, tem-se que no modo positivo de ionização foi gerado um número menor de compostos para os extratos aquosos dos grãos de café arábica, indicando a predominância de compostos solúveis em água que são preferencialmente carregados positivamente.

A possibilidade de discriminar os grãos de café cru por espécie e/ou por defeito foi avaliada utilizando a quimiometria e considerando os resultados obtidos nos espectros de ESI(-)-MS e ESI(+)-MS.

Para verificar a possibilidade da discriminação entre os grãos de café por espécie e por tipo de grãos de café baseados nos dados retirados dos espectros ESI(+)-MS, a análise de componentes principais foi aplicada as 20 amostras de extratos aquosos dos grãos arábica e robusta e 80 variáveis. Os resultados são apresentados nas Figuras 35 (a) e (b). O primeiro componente principal é caracterizado pelo cátion m/z 381 e contém 79% da variabilidade das amostras analisadas. Os compostos protonados m/z 219 e 431 são os principais compostos protonados característicos do segundo componente principal (PC2) com 13% da variabilidade total dos dados experimentais. De uma maneira geral, pode ser observada a discriminação dos grãos sadios dos defeituosos e a discriminação dos grãos de café por espécie.



(a)



(b)

Figura 35 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café saudáveis e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(+)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta)

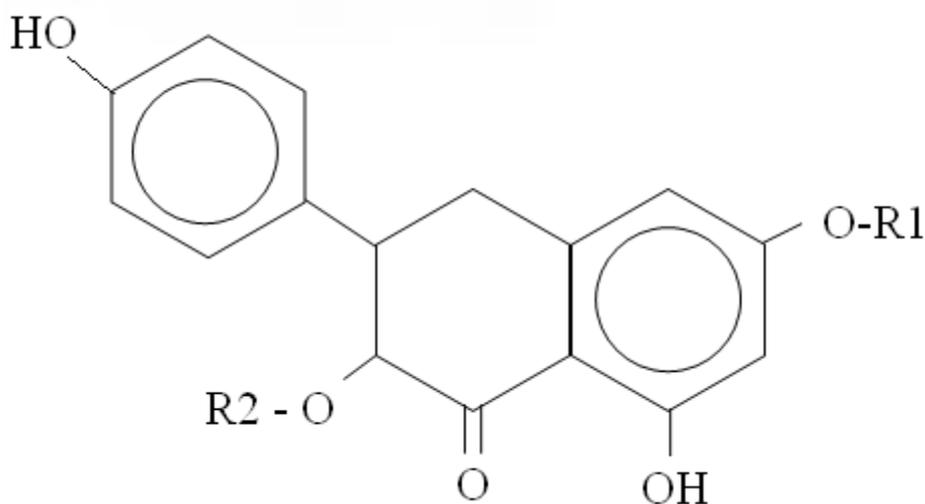
NUNES et al. (2005) trabalhando com amostras de grãos de café cru e torrado identificaram os compostos de m/z 381 e 219 como o aduto de um dissacarídeo com o potássio e seu fragmento, respectivamente. Sendo a sacarose o açúcar mais abundante nos grãos de café cru (ALCAZAR et al., 2005, BRADBURY, 2001 e TRUGO, 1985) pode ser inferido a possibilidade de que o aduto da sacarose foi o composto responsável pela discriminação dos grãos de café sadios dos defeituosos, independentemente da espécie. Observa-se ainda que os grãos sadios da espécie arábica apresentaram maior ocorrência deste açúcar quando comparada com os grãos da espécie robusta, como os resultados apresentados por CAMPA et al. (2004), KY et al.(2001), SILWAR e LULLMAN (1988).

O decréscimo na ocorrência deste composto determinou a discriminação entre os grãos sadios e defeituosos, de ambas as espécies avaliadas, sendo que os grãos sadios apresentaram maior teor do aduto da sacarose do que os grãos defeituosos (MAZZAFERA et al., 1999; FRANCA et al., 2005a; VASCONCELOS et al., 2007).

Dentre os grãos defeituosos, os grãos imaturos foram discriminados dos sadios devido ao decréscimo da sacarose, independentemente da espécie, indicando que os grãos verdes apresentaram menor detecção do aduto da sacarose com o potássio que os grãos sadios. Este resultado é coerente com os apresentados na literatura (MAZZAFERA, 1999; BRADBURY, 2001, VASCONCELOS et al., 2007).

Considerando os grãos de café defeituosos que fermentaram, ressalta-se que estes foram discriminados em função da intensidade do processo fermentativo ocorrido, uma vez que o decréscimo gradativo e diferenciado da sacarose determinou a separação destes, independentemente da espécie. Pode ser observado que os grãos de café preto e ardido escuro da espécie arábica caracterizam-se pela não detecção dos compostos característicos em PC1 e PC2, por apresentaram valores de *score* nulos nos dois primeiros componentes principais. Isto é, nos grãos arábica preto e ardido escuro não foram significativamente detectados sacarose e seu fragmento e o cátion de m/z 431.

No segundo componente principal (PC2), os grãos de café foram discriminados por espécie como pode ser observado na Figura 35 (a). Independente do tipo, os grãos de café arábica foram caracterizados pelo composto de m/z 219, possivelmente o fragmento da sacarose, e o cátion de m/z 431, respectivamente. O cátion m/z 431 foi previamente identificado por KUÇUKISLAMOGLU et. al (2000) de acordo com a estrutura apresenta na Figura 36 e as possíveis identificações apresentadas na Tabela 17.



Composto n° 1: R1 = R2 = rhamnose

Composto n° 2: R1 = rhamose e R2 = glicose

Composto n° 3: R1 = glicose e R2 = rhamnose

Figura 36 – Estrutura molecular do kaempferol

Tabela 17 - Identificação dos compostos moleculares (m/z 431)

Composto	Identificação	m/z 431
1	Kaempferol-3-O- α -L-rhamnosil-7-O- α -L-rhamnopiranosídico	(M-Rha) ⁺
2	Kaempferol-3-O- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosídico-7-O- α -L-rhamnopiranosídico	(M-Rha-Gli) ⁺
3	Kaempferol-3-O- α -L-rhamnopiranosil-7-O- β -D-glicopiranosil (1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopiranosídico	(M-Rha-Gli) ⁺

Fonte: (Kuçukislamoglu et. al, 2000).

Considerando a ocorrência natural de flavonóides, um subgrupo dentre os compostos fenólicos, em grãos de café crus (HERTOG et al., 1993, FARAH e DONANGELO, 2006; RUSAK et al., 2008), a ocorrência dos monossacarídeos rhamnose e glicose nos extratos aquosos dos grãos de café cru (OOSTERVELD et al., 2003a,b) e que os compostos fenólicos geralmente ocorrem em formas glicosiladas em vegetais (HERTOG et al., 1993), o cátion m/z 431 detectado principalmente nas amostra de grão

principalmente pelos ânions m/z 191, 367, 515 e 341, contém 7% da variabilidade total das amostras.

Observa-se claramente a discriminação dos grãos de café por espécie, sendo que os grãos de café arábica concentram-se a direita da Figura 38 (a) e os grãos da espécie robusta a esquerda. Dentre os da espécie arábica, ainda pode ser observada a discriminação destes por tipo em PC2. Os grãos sadios foram destacados dos grãos defeituosos. Dentre os grãos defeituosos, podem ser observados os grupos dos grãos ardido claro e escuro e o dos grãos preto e verde.

Sobrepondo as Figuras 38 (a) e (b) pode ser notado que o composto de m/z 353 determinou a discriminação dos grãos de café por espécie, sendo maior sua ocorrência nos grãos robusta do que nos arábica. O resultado da fragmentação deste composto evidenciou os fragmentos de m/z 191 e 179.

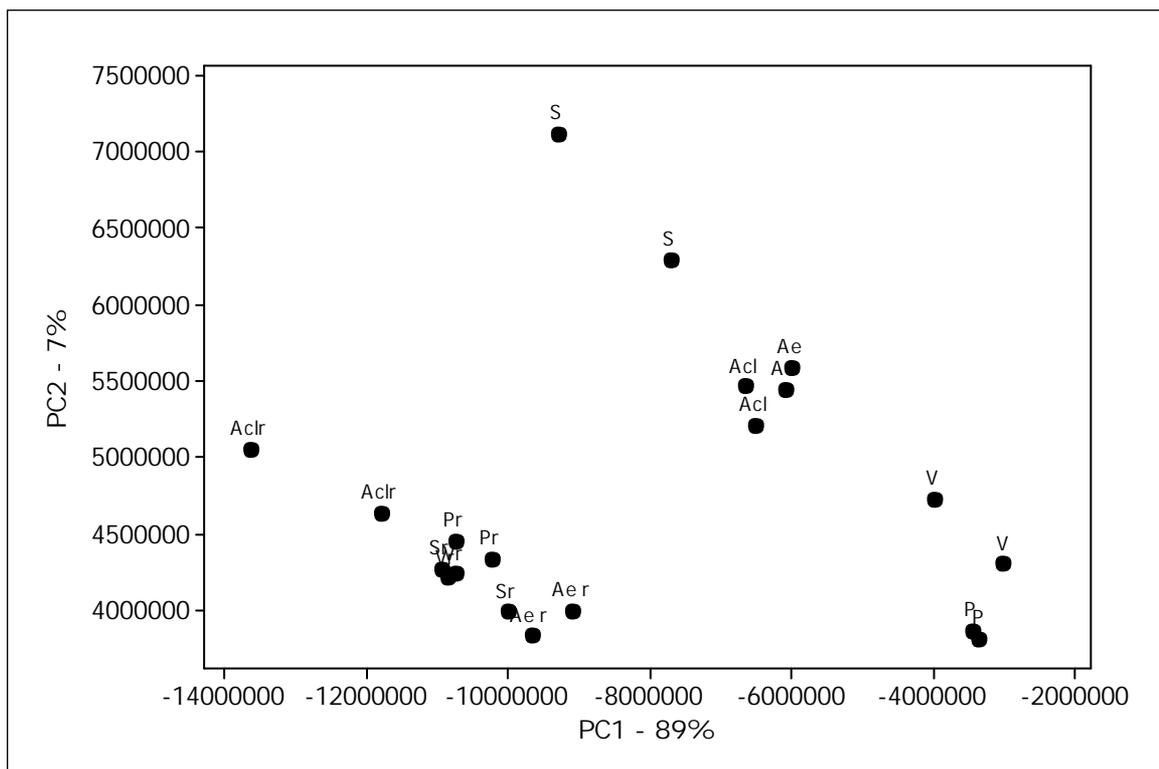
Na literatura (ZHU et al., 2004; GONTHIER et al., 2006; BRAVO et al., 2007), o composto molecular de mesmo m/z foi identificado como o ácido clorogênico. Considerando a ocorrência natural deste ácido em grãos de café (CLIFFORD, 1985b; YAMAGIMOTO et al., 2004; FARAH et al., 2006) e a similaridade dos resultados de fragmentação disponíveis na literatura (GONTHIER et al., 2006; BRAVO et al., 2007) infere-se que provavelmente o composto determinante na discriminação dos grãos de café por espécie seja o ácido clorogênico. E que, de acordo com os resultados apresentados nas Figuras 38 (a) e (b), os grãos de café robusta apresentaram maior teor de ácido clorogênico do que os grãos da espécie arábica, estando este resultado de acordo com a literatura (CLIFFORD, 1985b; DE MARIA et al., 1996; KY et al. 2001; FARAH e DONANGELO, 2006).

Observa-se também que os compostos de m/z 191 e m/z 367 também contribuíram para a discriminação dos grãos de café por espécie. Nos trabalhos de GONTHIER et al. (2006), ROESLER et al. (2007), BASTOS et al. (2007) e ROESLER e tal. (2008) o composto ionizado de m/z 191 foi identificado como o ácido quínico e BRAVO et al. (2007) identificou o composto de m/z 367 como o ácido ferruloilquínico, apresentando como resultado da fragmentação compostos de m/z 191 e 173. Considerando a ocorrência natural destes ácidos nos grãos de café cru (CLIFFORD, 1985b; BALZER, 2001; FARAH et al., 2006), pode inferir que os ácidos quínico e ferruloilquínico também contribuíram para a discriminação dos grãos de café por espécie.

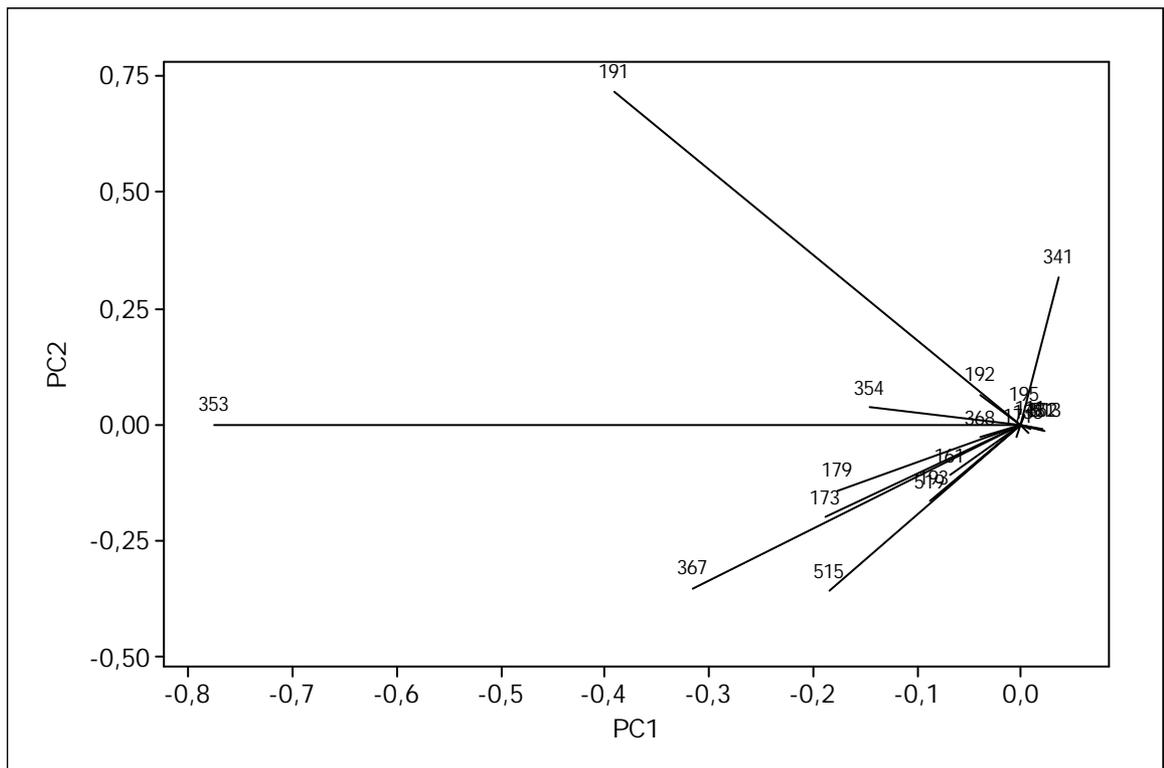
Considerando os grãos de café arábica, observa-se que os grãos sadios foram discriminados dos defeituosos principalmente em função da maior ocorrência do ácido quínico (m/z 191), como pode ser observado ao comparar as Figuras 38 (a) e (b), e que o

decréscimo gradativo deste ácido determinou a discriminação dos grãos defeituosos arábica, principalmente dos grãos defeituosos imaturos e pretos.

Destaca-se a maior ocorrência de ácido clorogênico (m/z 353) na amostra de grãos de café sadios quando comparada as amostras de grãos defeituosos, principalmente pretos. Este comportamento qualitativo esta de acordo com os apresentados por FRANCA et al. (2005b) e FARAH et al. (2006) que mostraram que amostras de café de melhor qualidade sensorial apresentaram maior teor de ácidos clorogênicos, provavelmente devido a maior proporção de grãos sadios. Observa-se também que o grão defeituoso preto possui menor teor de ácidos clorogênicos dentre todos os outros grãos de café, Figuras 35 (a) e (b), estando este resultado de acordo com os apresentados por MAZZAFERA (1999) e FRANCA et al. (2005a).



(a)



(b)

Figura 38 - Resultados da análise de componentes principais para os grãos de café arábica e robusta (a) score (b) loading a partir dos espectros obtidos por ESI(-)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

É interessante observar que o segundo componente principal (PC2) que contém somente 7% da variabilidade total das amostras, foi determinante na separação dos grãos de café arábica por tipo de defeito. Isto é, as diferenças nos atributos químicos entre os grãos sadio e defeituosos da espécie arábica são significativamente menores do que as diferenças entre os atributos químicos dos grãos de café entre as espécies arábica e robusta, que foram discriminados considerando 89% da variabilidade das amostras avaliadas.

A análise hierárquica de clusters também evidenciou a discriminação dos grãos de café em função de suas espécies, considerando os dados obtidos por ESI(-)-MS, como pode ser observado no dendograma apresentado na Figura 39. Observa-se também a separação dos grãos arábica por tipo de grão, conforme os resultados apresentados pela análise de componentes principais. Os grãos sadios foram discriminados dos defeituosos, e os grãos verde e preto apresentaram certa similaridade, como os resultados apresentados por MANCHA AGRESTI et al. (2008).

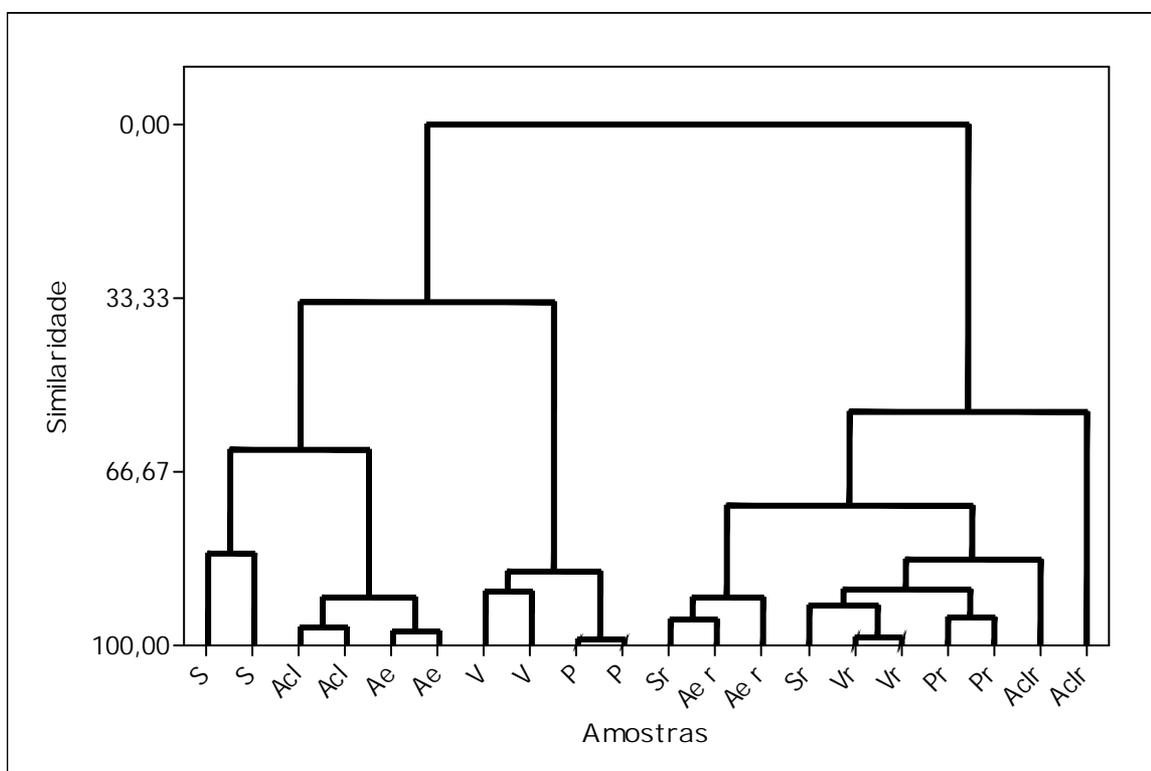


Figura 39 - Dendrograma para os grãos de café arábica e robusta obtidos a partir dos espectros gerados por ESI (-)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

Comparando os resultados obtidos considerando os modos positivo e negativo de ionização pode ser inferido que os grãos podem ser discriminados por espécie, em ambos os modos de ionização. Entretanto, os grãos sadios são discriminados dos defeituosos, independentemente da espécie avaliada, somente no modo positivo de ionização indicando que os compostos protonados determinaram a discriminação com maior eficiência do que os compostos iônicos desprotonados existentes nos extratos aquosos dos grãos de café. Possivelmente, este composto é o aduto da sacarose com o potássio que de acordo com a literatura (DE MARIA et al., 1994; DE MARIA ET AL., 1996, KY et al., 2001) está associada diretamente com a qualidade sensorial da bebida.

Os resultados apresentados para os grãos de café cru considerando os espectros de massa obtidos por ESI-MS foram compilados na forma de um artigo científico publicado na revista *Food Chemistry* apresentado no Anexo B.

5.4.2 – Grãos de cafés torrados

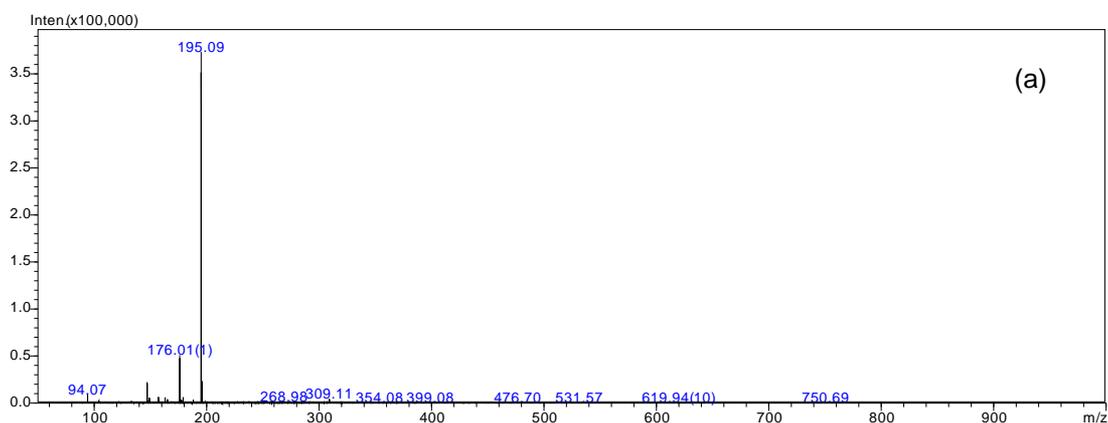
Os extratos aquosos, sem a fração etérea, dos grãos torrados sadio e defeituosos das espécies arábica e robusta foram injetados diretamente no ESI-MS, considerando os modos positivo e negativo de ionização. Assim, foram obtidos os espectros característicos de cada tipo de grão de café torrados, considerados “*fingerprinting*”, como amplamente utilizado na literatura (GOODACRE et al., 2003; GÓMEZ-ARIZA et al., 2006; MOLLER et al., 2006).

Na Figura 40 são apresentados os espectros característicos dos extratos aquosos dos grãos torrados da espécie arábica, obtidos considerando o modo positivo de ionização. Observa-se que os espectros são caracterizados pelo íon diagnóstico de m/z 195 e pelo pequeno número de compostos protonados detectados. Destaca-se principalmente a detecção de compostos protonados de $m/z < 300$.

Comparando os espectros dos grãos imaturos com o dos grãos sadios, pode ser observada principalmente a diminuição da detecção do composto molecular de m/z 176, 147 e 157, nesta ordem, com o amadurecimento do grão.

Dentre os grãos defeituosos ardido claro, ardido escuro e preto, observa-se a tendência de detecção de maior número de compostos protonados nas amostras dos grãos pretos, possivelmente associados à intensidade do processo fermentativo sofrido pelo grão preto.

É interessante observar que no extrato aquoso do grão preto, observa-se a menor intensidade de detecção do composto m/z 176 e as maiores dos prótons de m/z 94 e 147 em comparação aos espectros obtidos para os demais grãos defeituosos e para o grão sadio.



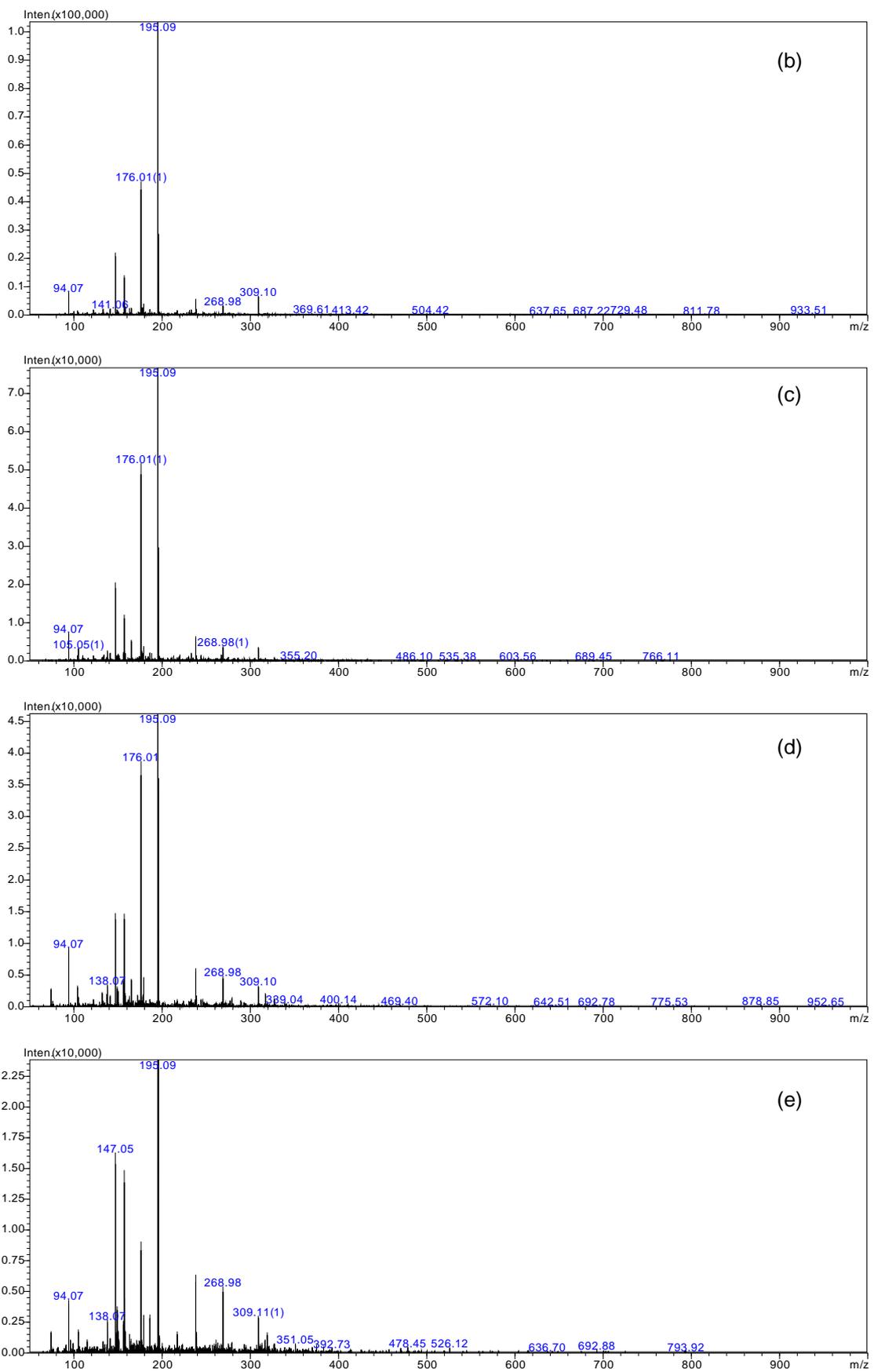


Figura 40 – Espectros dos grãos de café torrados arábica obtidos por ESI(+)-MS – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.

Destaca-se que os espectros apresentados na Figura 40 tiveram suas escalas alteradas para favorecer a visualização dos compostos protonados detectados em menores intensidades. Na Figura 41 são apresentadas as intensidades médias de detecção do pico m/z 195, que foi identificado como a cafeína nos trabalhos de ZHU et al. (2004) e ATOUI et al. (2005).

Notam-se as flutuações nas intensidades de detecção da cafeína para os tipos de grãos e espécies avaliadas, porém sem diferenças entre os tipos de grãos de café por espécie. Pode ser observado que o grão de café que fermentou mais intensamente apresentou diferenças na intensidade de detecção média da cafeína em função da espécie avaliada.

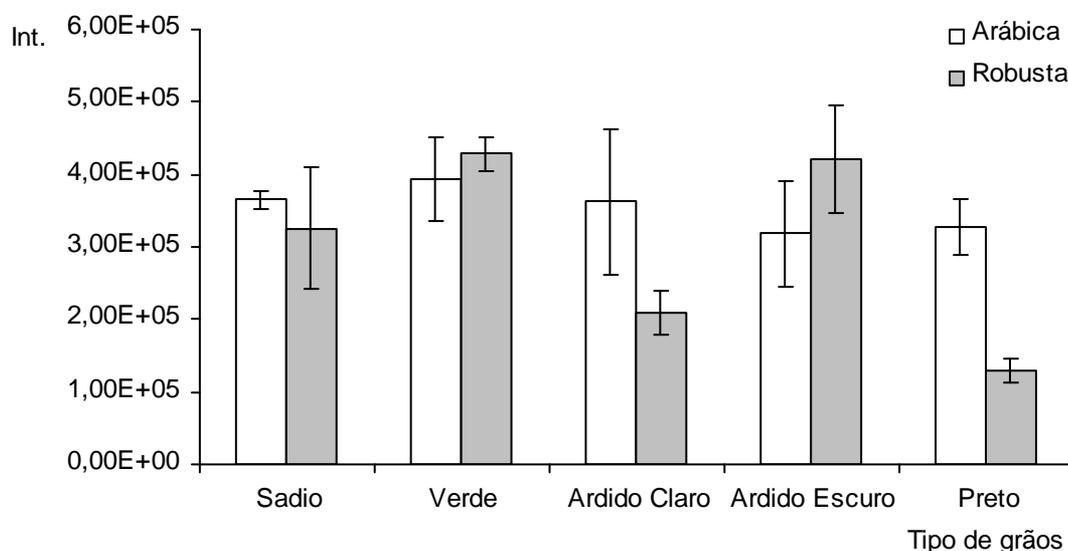


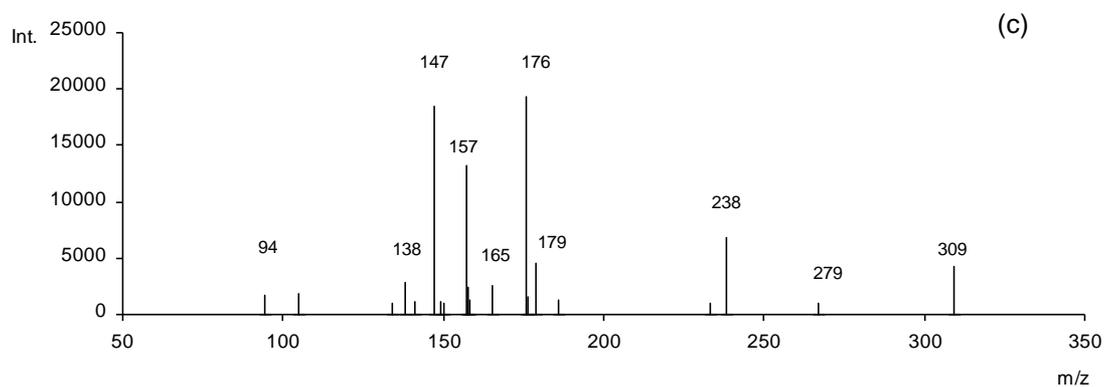
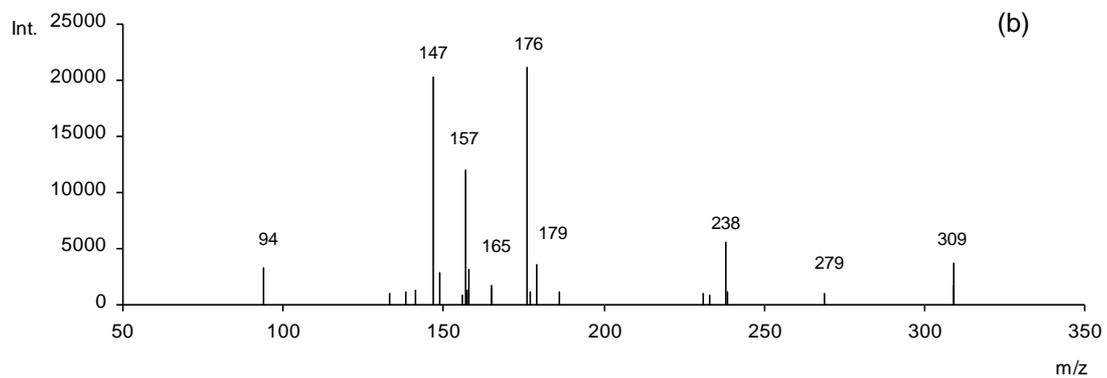
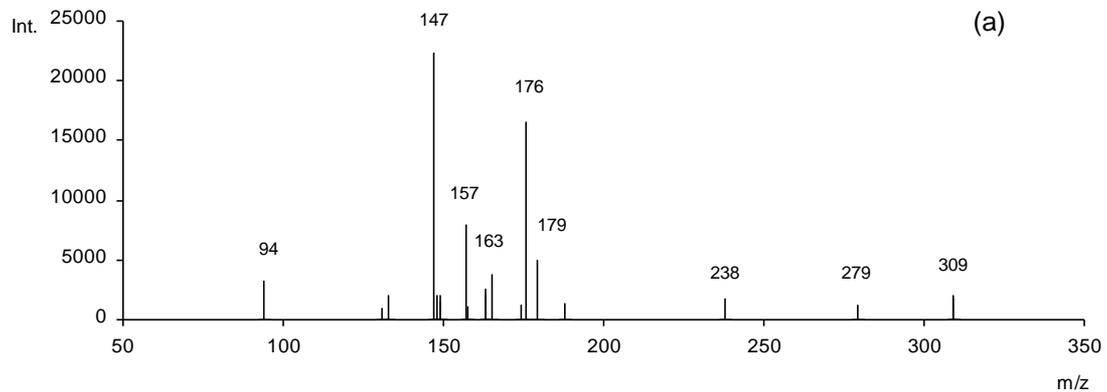
Figura 41 – Intensidades médias de detecção do pico de m/z 195 nos extratos aquosos analisados (n = 30)

Para melhor visualização dos compostos detectados em menores intensidades e suas flutuações entre as amostras avaliadas, o pico de m/z 195 foi retirado do conjunto de dados, sendo apresentados na Figura 42 os espectros considerando o corte do pico de m/z 195.

Observa-se que o íon diagnóstico do espectro do grão sadio é o de m/z 147, destacando-se visualmente, também, na Figura 42 (a), os de m/z 176 e 157, nesta ordem decrescente. Ao comparar as Figuras 42 (a) e (b), observa-se o decréscimo de detecção principalmente dos íons de m/z 157, 238 e 309, com o amadurecimento do grão de café. Ainda, destacam-se o decréscimo de detecção do composto de m/z 176 com o aumento

na detecção do íon de m/z 147, simultaneamente, com o amadurecimento do grão de café.

Dentre os grãos ardido claro, ardido escuro e preto, destacam-se visualmente os compostos moleculares de m/z 147, 157 e 176, sendo observadas flutuações nas intensidades de detecção destes íons em função dos tipos de grãos.



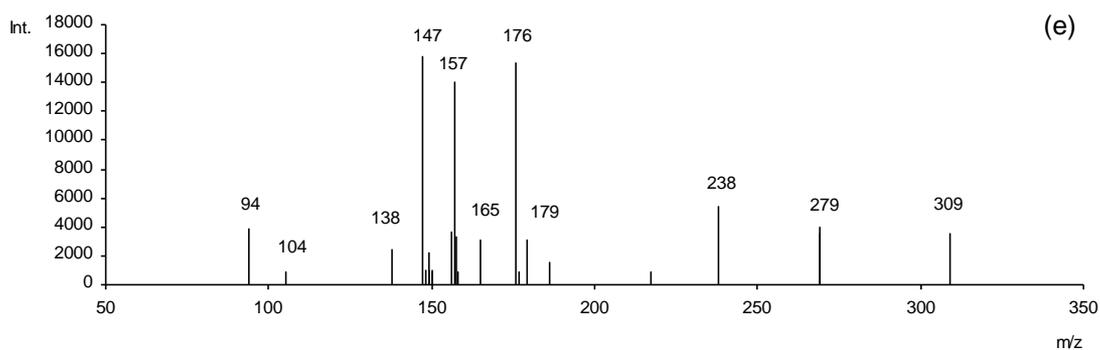
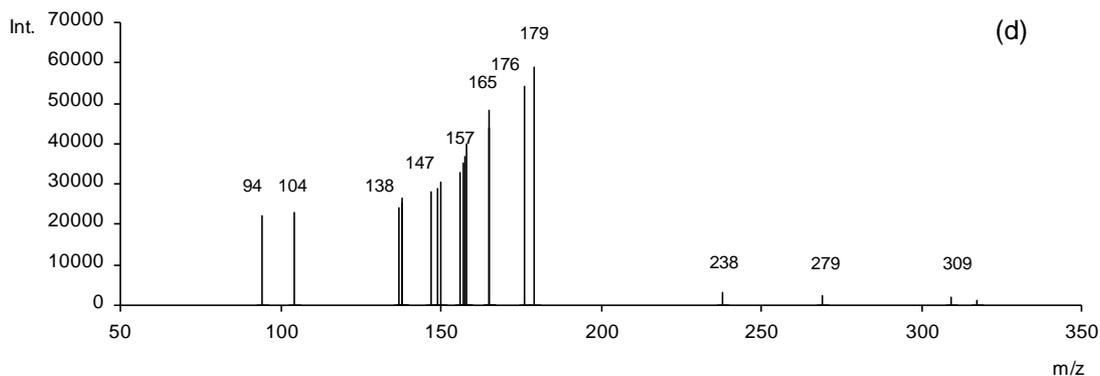
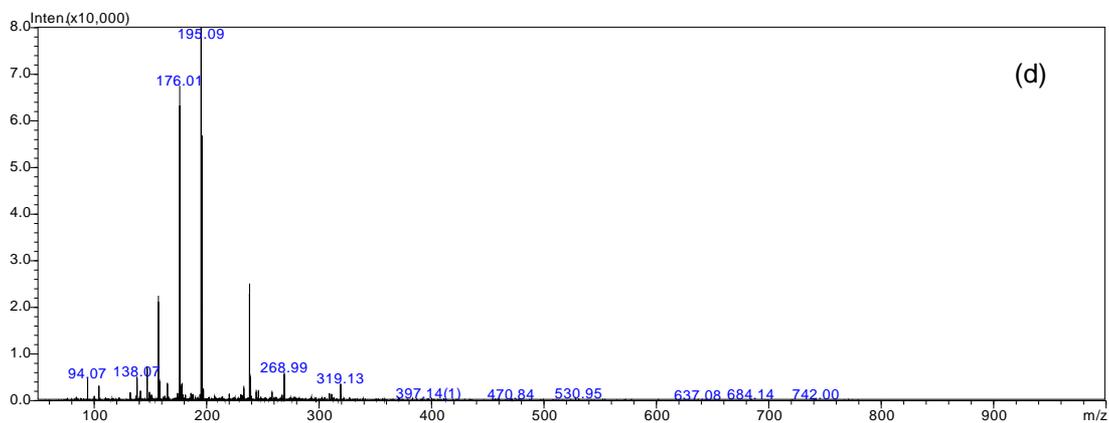
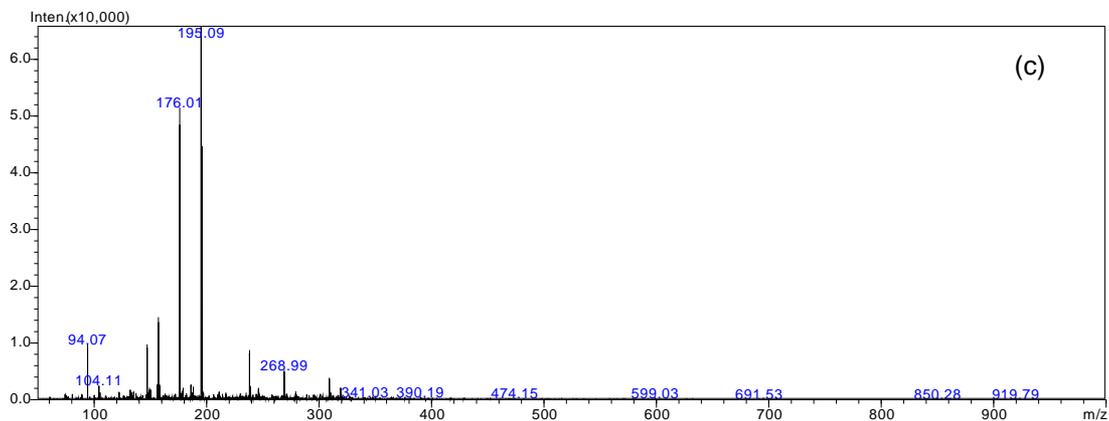
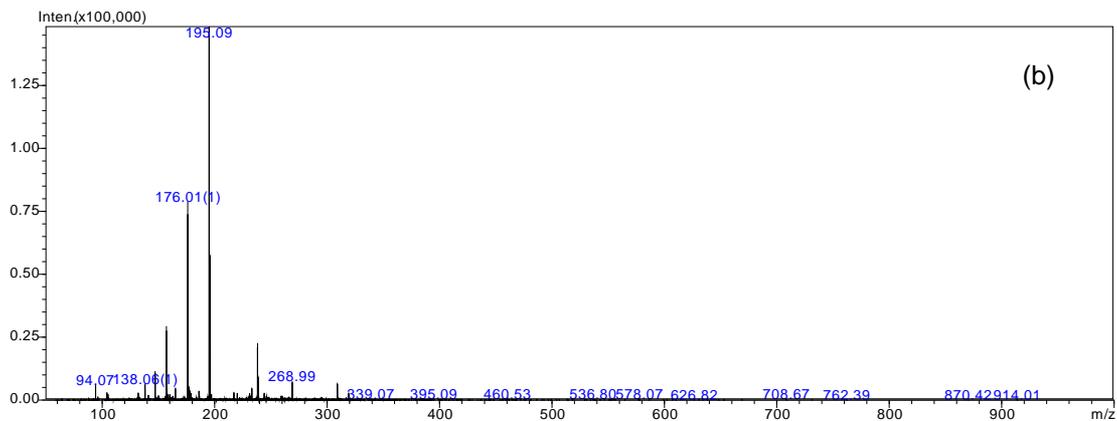
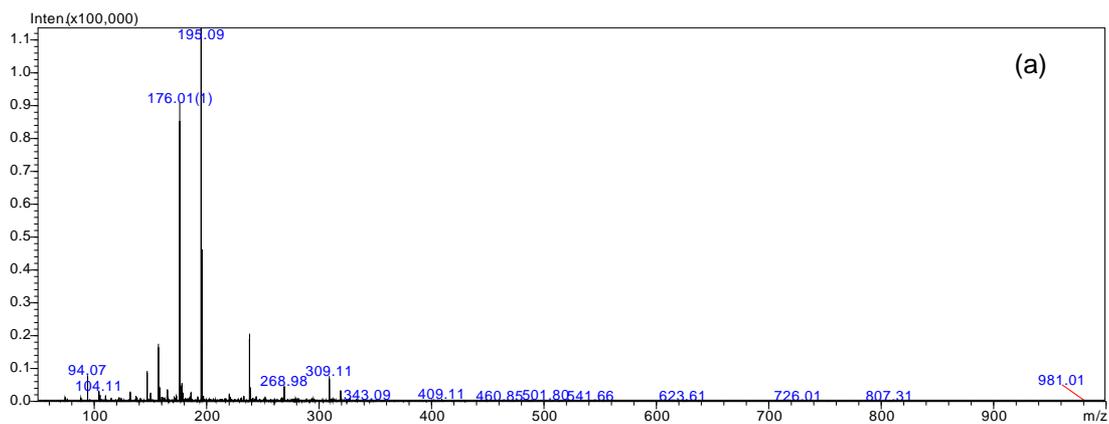


Figura 42 – Espectros dos grãos de café torrados arábica obtidos por ESI(+)-MS após a retirada do pico m/z 195 – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.

Os espectros dos grãos torrados da espécie robusta obtidos no modo positivo de ionização são apresentados na Figura 43. Observa-se que o principal íon diagnóstico também é o de m/z 195, com significativa intensidade de detecção, como observado para os espectros dos grãos torrados da espécie arábica. Destaca-se a ocorrência do composto de m/z 176 em todos os espectros apresentados na Figura 43.

Comparando os grãos verdes e sadios, observa-se um aumento da intensidade de detecção do composto de m/z 176 com o amadurecimento do grão de café. Dentre os grãos defeituosos ardido claro, ardido escuro e preto, destaca-se o maior número de prótons detectados no extrato dos grãos pretos, sendo maior no espectro do grão ardido escuro quando comparado aos detectados no grão ardido claro. Qualitativamente, este comportamento pode estar associado a intensidade do processo fermentativo ocorridos nos grãos de café defeituosos. Este comportamento qualitativo também foi observado para estes grãos defeituosos da espécie arábica.



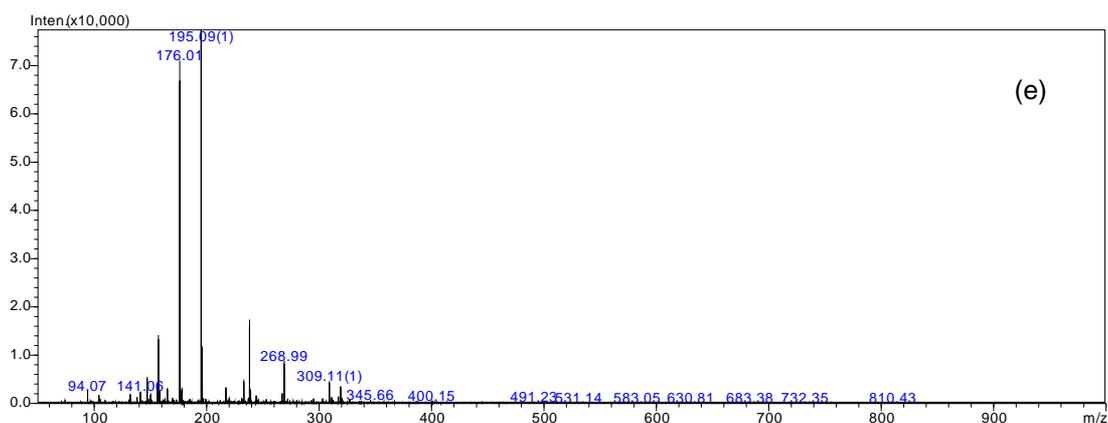
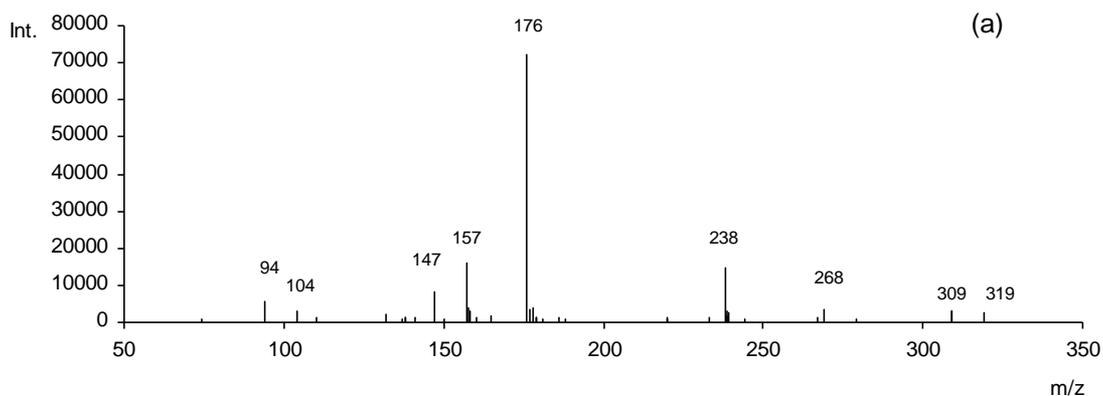


Figura 43 – Espectros dos grãos de café torrados robusta obtidos por ESI(+)-MS – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.

Para avaliar as variações mais sutis entre os compostos protonados detectados em menores intensidades, o íon m/z 195 foi retirado dos dados amostrais sendo os espectros de massa apresentados na Figura 44. Observa-se a similaridade dos espectros considerando aos grãos sadios, imaturos e ardido claro, nos quais se destacam visualmente os íons de m/z 176, 157, 238, 94 e 147.

Ao comparar as Figuras 44 (d) e (e) com as Figuras 44 (a), (b) e (c) é nítido o aumento significativo do número de compostos moleculares carregados positivamente detectados, sendo este aumento associado diretamente à intensidade da fermentação ocorrida no grão. Entretanto, é interessante observar que apesar de mais compostos moleculares serem detectados, estes são em intensidades menores, quando comparadas com os números de compostos e suas intensidades apresentadas nos outros espectros dos grãos de café torrado robusta.



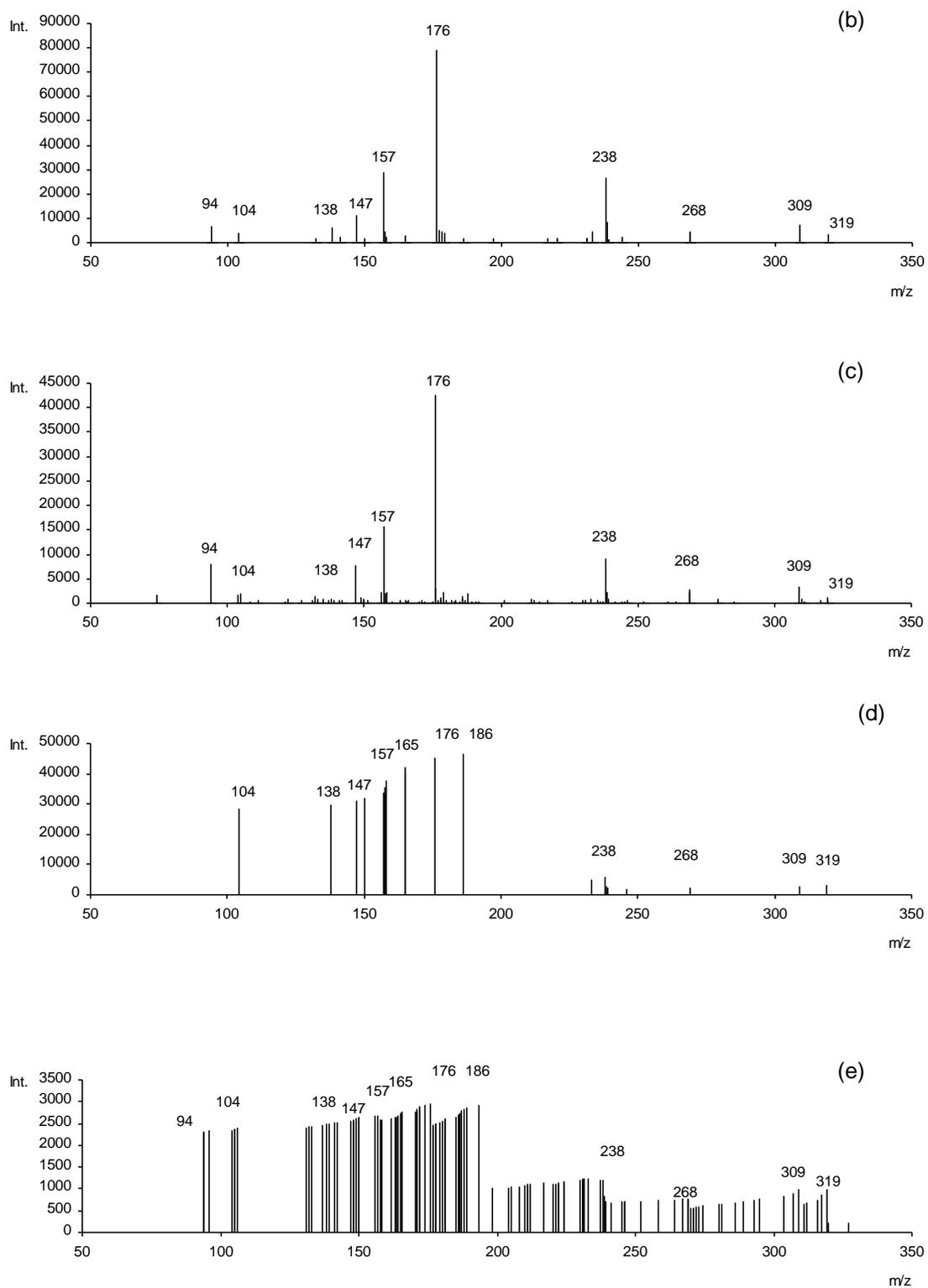
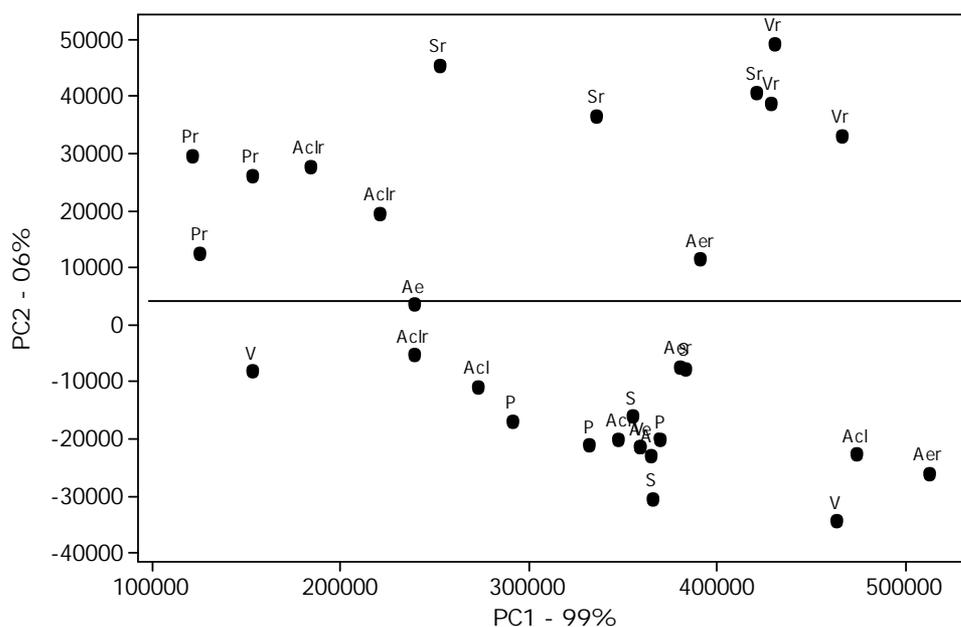


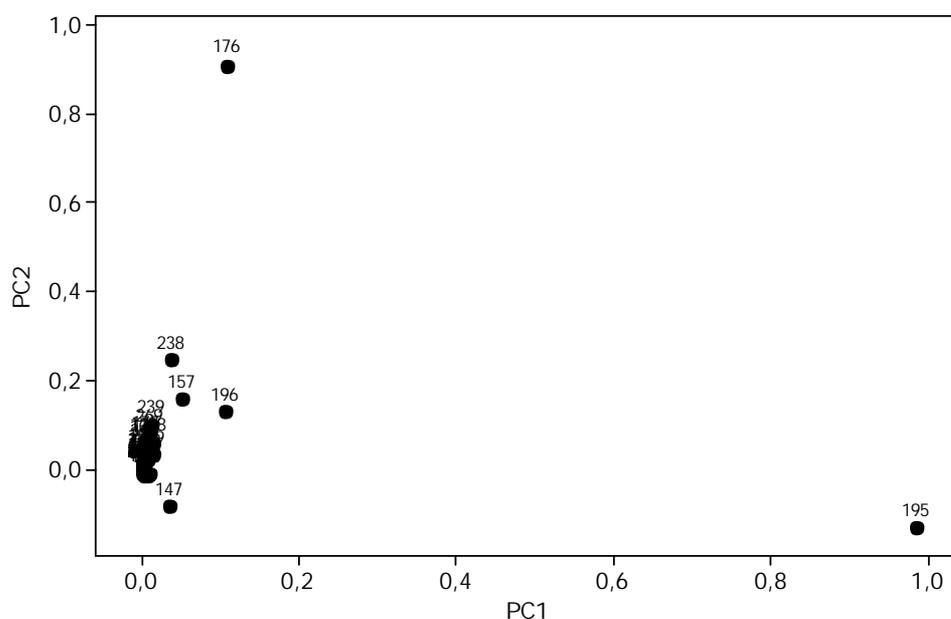
Figura 44 – Espectros dos grãos de café torrados arábica obtidos por ESI(+)-MS após a retirada do pico m/z 195 – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.

Nas Figuras 45 (a) e (b) apresentam-se os resultados da análise de componentes principais para os grãos torrados das espécies arábica e robusta considerando o modo positivo de ionização. Foram utilizadas 30 amostras e 282 variáveis. Observa-se, na Figura 45 (a), que o primeiro componente principal (PC1) contém 99% da variabilidade total dos dados amostrais e o segundo (PC2) contém 0,5%. Observa-se ainda que, os grãos torrados foram discriminados por espécie, considerando o comportamento anômalo de uma amostra do grão ardido claro e de duas amostras do grão ardido escuro, em PC2.

Comparando-se as Figuras 45 (a) e (b), pode ser inferido que o composto molecular de m/z 176 foi determinante na discriminação dos grãos torrados por espécie, e que o composto de m/z 195, que explica 99% da variabilidade total dos dados amostrais, determinou a discriminação dos grãos torrados robusta sadios e imaturos dos pretos e ardido claro.



(a)



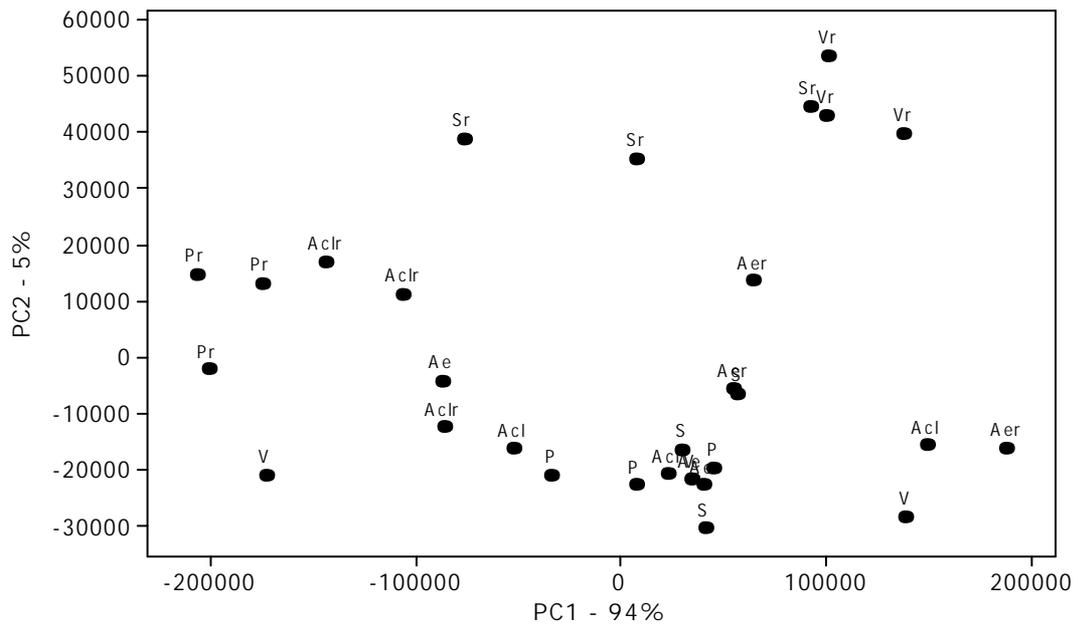
(b)

Figura 45 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(+)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

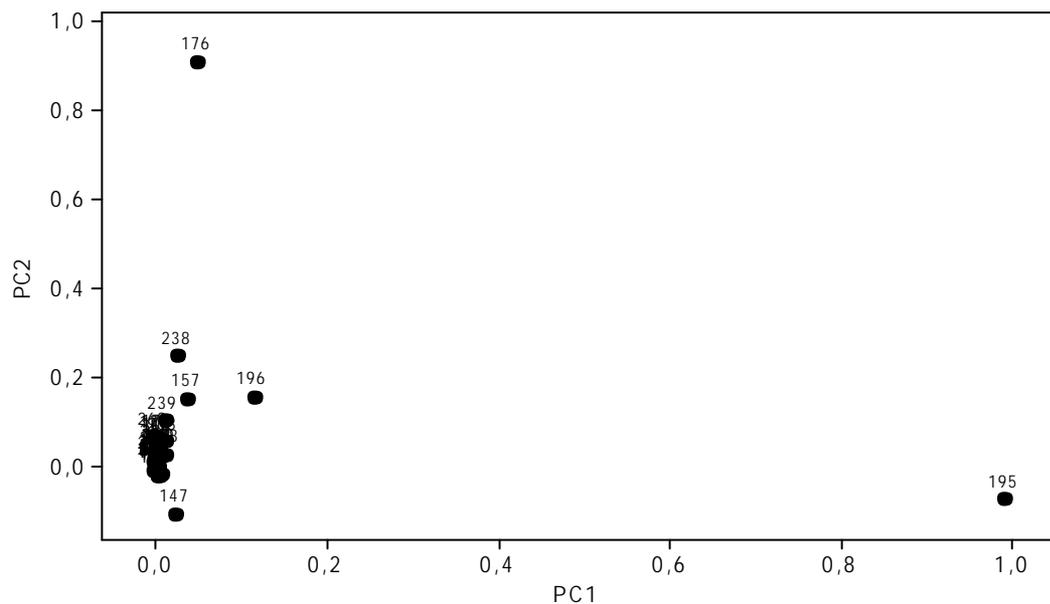
Destaca-se a grande variabilidade contida em PC1 que é caracterizado pelo composto molecular de m/z 195, que foi identificado como a cafeína por ZHU et al. (2004) e ATOUI et al. (2005). Qualitativamente este resultado está de acordo com os espectros apresentados que evidenciaram a intensa detecção deste composto molecular. Entretanto esta abundante detecção prejudicou avaliação do poder de discriminação de compostos iônicos detectados em quantidades inferiores.

Para avaliar a possível discriminação dos grãos torrados em função dos compostos moleculares detectados em menores intensidades, os dados foram tratados, centralizados na média, antes da análise de componentes principais. O resultado é apresentado na Figura 46. Observa-se que o primeiro componente principal contém 94% da variabilidade total dos dados amostrais centrados na média e é caracterizado principalmente pela cafeína, PC2 contém 5%, sendo associado ao composto de m/z 176. É nítida a semelhança entre as Figuras 45 e 46, indicando a diferença entre as intensidades de detecção da cafeína e os demais compostos é grande o suficiente para não provocar

alterações nos resultados entre os dados analíticos centralizados na média e os não tratados.



(a)

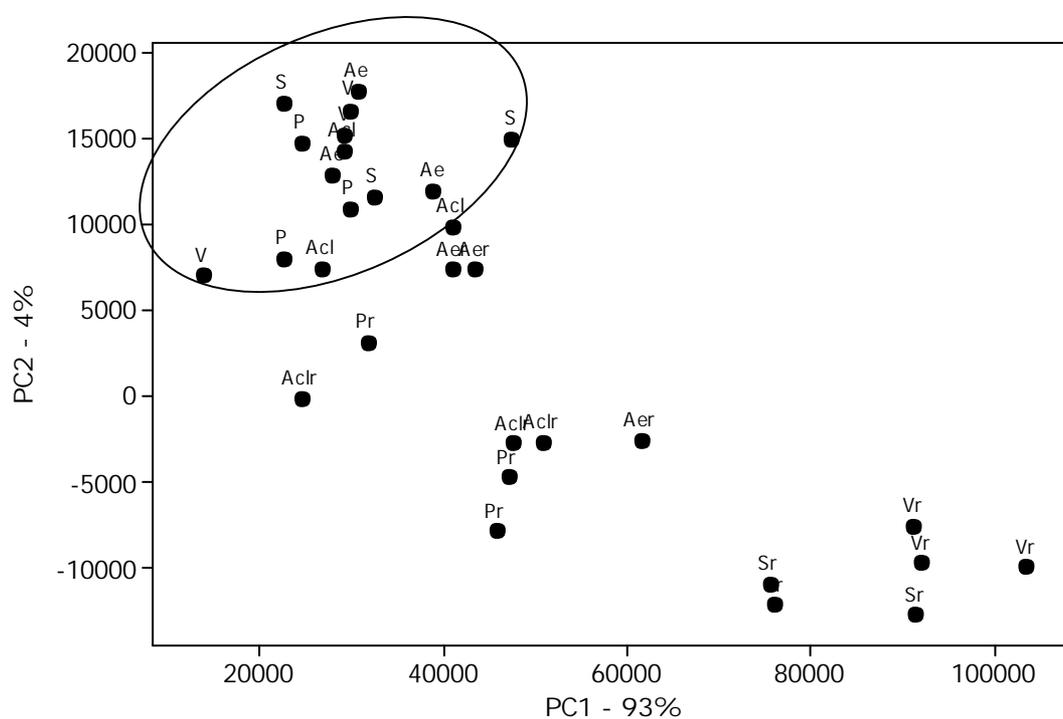


(b)

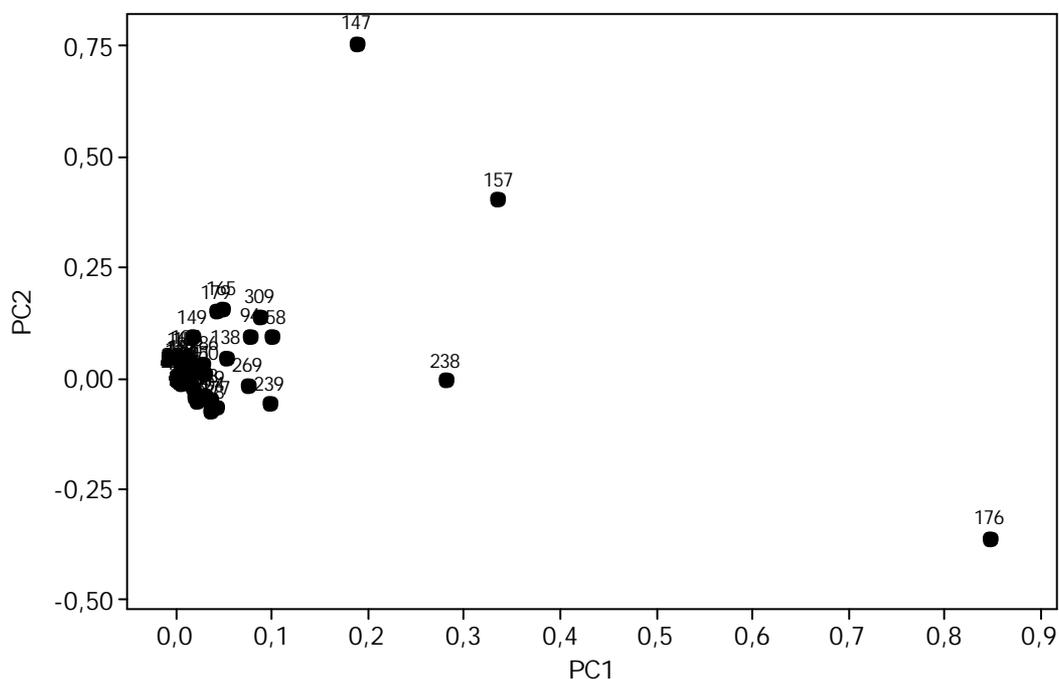
Figura 46 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café torrados saudáveis e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(+)-MS, centrados na média, (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

Para avaliar a possibilidade de discriminação dos grãos de café torrados considerando os compostos detectados em intensidades baixas, a cafeína foi retirada dos dados amostrais não tratados, permitindo a visualização dos compostos detectados em intensidades inferiores e suas flutuações entre as amostras. O resultado da análise de componentes principais é apresentado na Figura 47 (a) e (b).

Observa-se que os grãos torrados da espécie arábica foram discriminados em PC2, principalmente devido à ocorrência do composto molecular de m/z 147. Dentre os grãos torrados da espécie robusta, que estão dispersos ao longo de PC1, pode ser observada a discriminação dos grãos sadios e imaturos dos grãos ardidos e pretos, determinada pelo composto molecular de m/z 176, como podem ser observadas ao comparar as Figuras 47 (a) e (b). O decréscimo da ocorrência deste íon molecular nas amostras dos grãos robusta torrado e a ocorrência do composto molecular de m/z 238 determinaram a discriminação dos grãos ardido claro, ardido escuro e preto.



(a)



(b)

Figura 47 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(+)-MS, com a retirada do composto m/z 195, (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

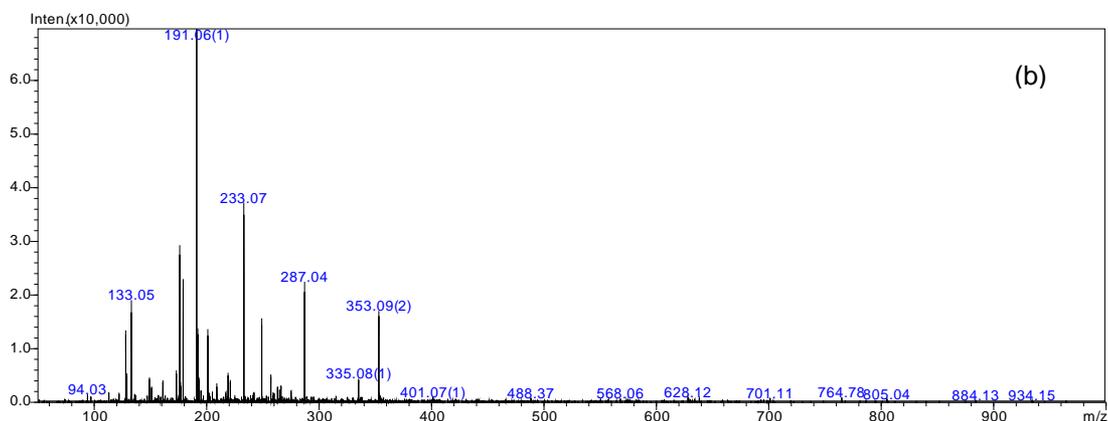
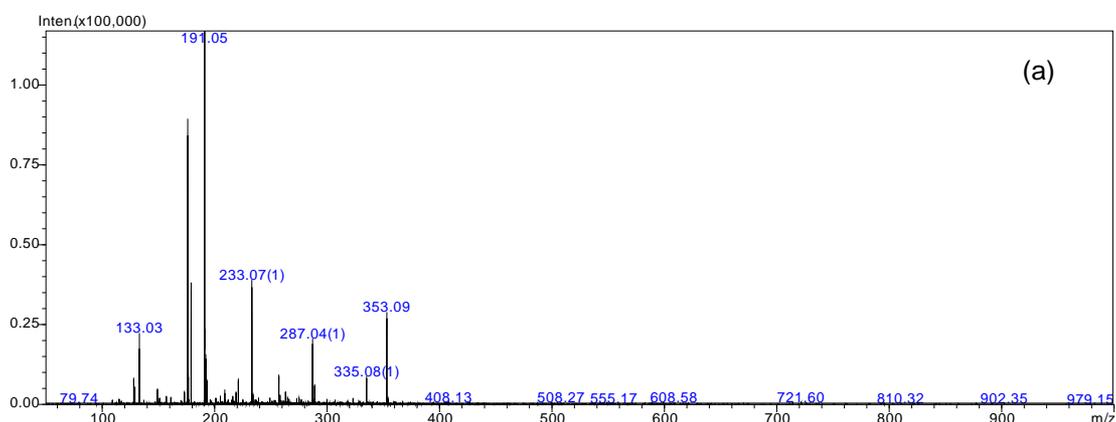
Os resultados apresentados indicam que a espectrometria de massas com ionização por electrospray no modo positivo (ESI(+)-MS) é potencialmente capaz de discriminar os grãos torrados por espécie, utilizando técnicas de análise multivariada, com a retirada do pico da cafeína, sem prévio tratamento dos dados. Estes resultados estão de acordo com o apresentado nos espectros dos extratos aquosos dos grãos torrados, que mostrou diferenças entre os perfis dos espectros considerando as espécies dos grãos torrados.

Destaca-se que os compostos moleculares de m/z 176 e 147 são potenciais marcadores dos grãos torrados das espécies robusta e arábica, respectivamente. É interessante observar ainda, que dentre os grãos torrados da espécie robusta, ESI(+)-MS possibilitou a separação dos grãos sadios e imaturos, dos grãos ardido e preto, como pode ser observado na Figura 47(a). Dentre os grãos torrados da espécie robusta, os íons m/z 176 e 238 são potencialmente identificadores dos grãos sadios e/ou imaturos e dos grãos ardidos e/ou preto, respectivamente (Figura 47(b)).

Na Figura 48 são apresentados os espectros característicos dos extratos aquosos dos grãos torrados da espécie arábica, obtidos considerando o modo negativo de ionização. Observa-se que os espectros são caracterizados pelo íon diagnóstico de m/z 191, pela detecção principalmente dos ânions de $m/z < 400$ e pelo aumento progressivo do número de compostos moleculares detectados considerando a intensidade do processo fermentativo sofrido pelo grão (vide Figuras 48 (a), (d) e (e)).

Observa-se o destaque visual dos ânions de m/z 133, 176, 191, 233, 287 e 353 nos espectros apresentados na Figura 48 e as variações das intensidades de detecções destes compostos moleculares nos diferentes extratos analisados.

É interessante observar a ocorrência dos ânions de m/z 201 e 248 nos espectros dos grãos de café torrados defeituosos, Figuras 48 (b), (c), (d) e (e). Observa-se ainda a associação direta entre o ânion de m/z 248 com a intensidade do processo fermentativo sofrido pelo grão defeituoso. Ressalta-se que, no espectro do grão preto, este ânion é tão abundante quanto o de m/z 191.



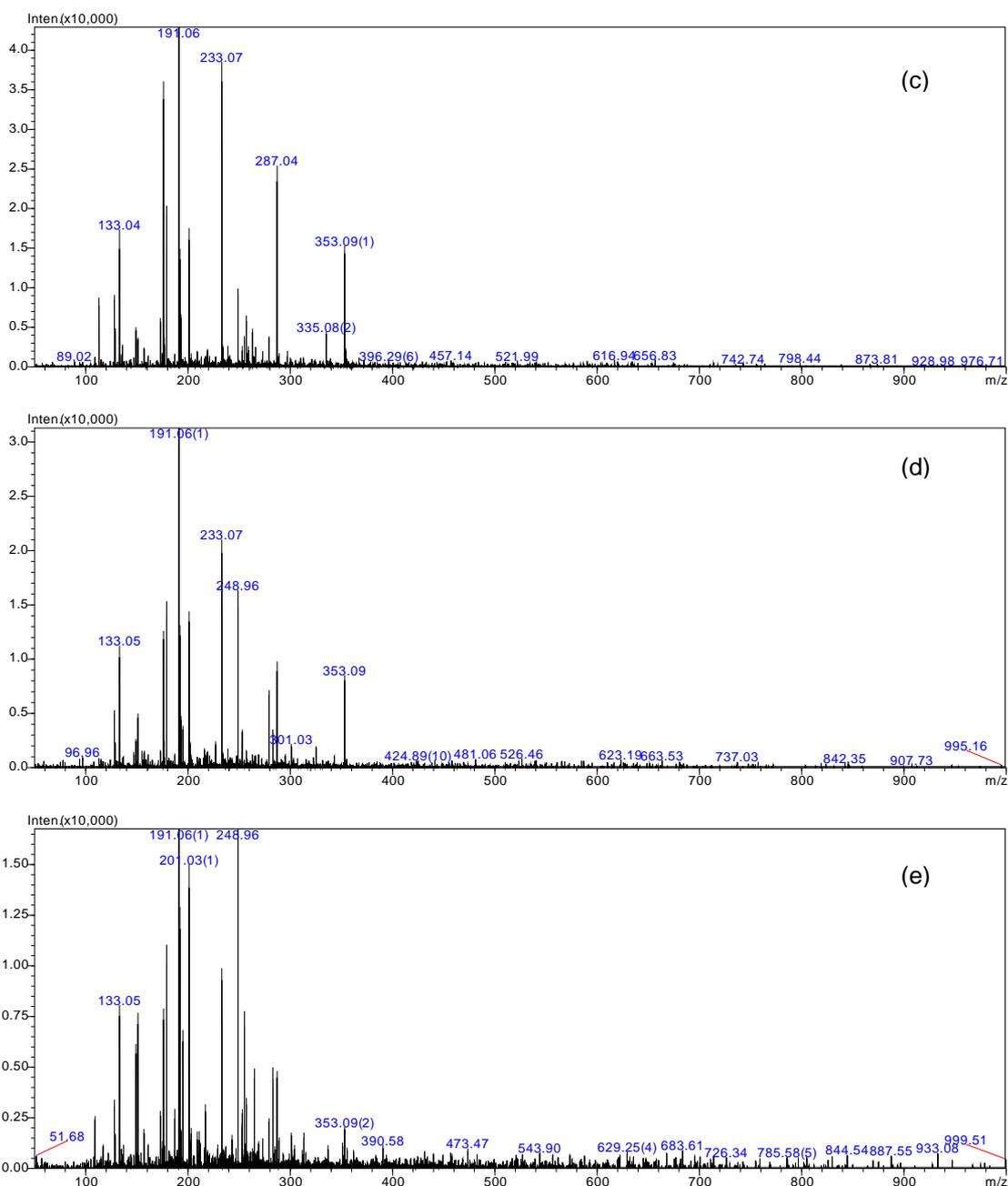
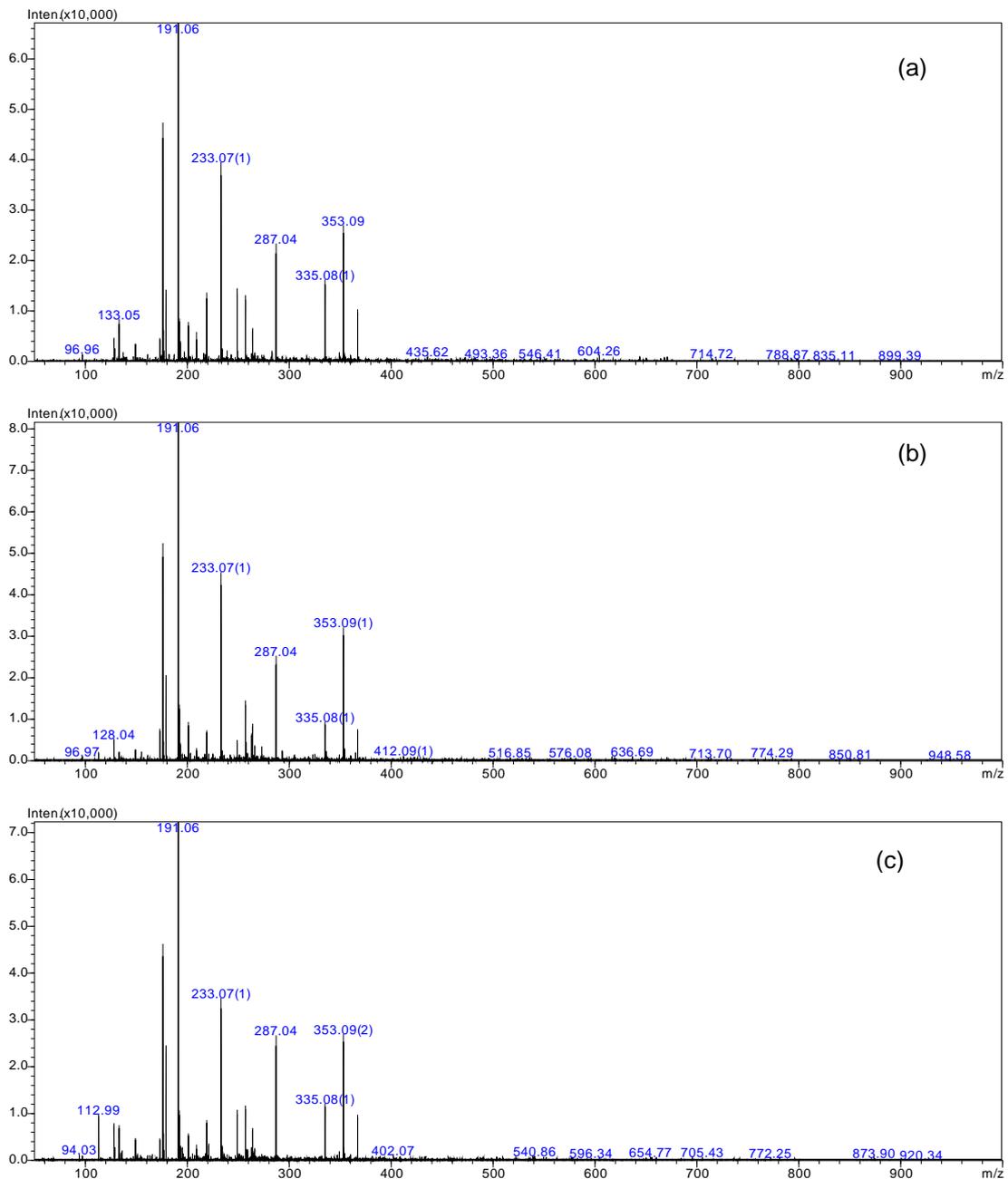


Figura 48 – Espectros dos grãos de café torrados arábica obtidos por ESI(-)-MS – (a) grãos sadios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.

Os espectros dos extratos aquosos dos grãos torrados da espécie robusta obtidos no modo negativo de ionização são apresentados na Figura 49. Novamente, observa-se que o íon diagnóstico de maior intensidade é o de m/z 191, como encontrado para os espectros dos grãos torrados da espécie arábica. Em todos os espectros apresentados na Figura 49, destacam-se visualmente os ânions de m/z 176, 191, 233, 287, 335 e 353, sendo observadas variações nas intensidades destes compostos de acordo com o tipo de

grão torrado. Entretanto, é possível observar a similaridade na composição dos espectros dos extratos aquosos dos grãos torrados da espécie robusta, apresentados na Figura 49. Destaca-se a detecção dos compostos desprotonados principalmente na faixa de $m/z < 400$. Qualitativamente, estes resultados estão de acordo com os obtidos para os extratos aquosos dos grãos torrados da espécie arábica.



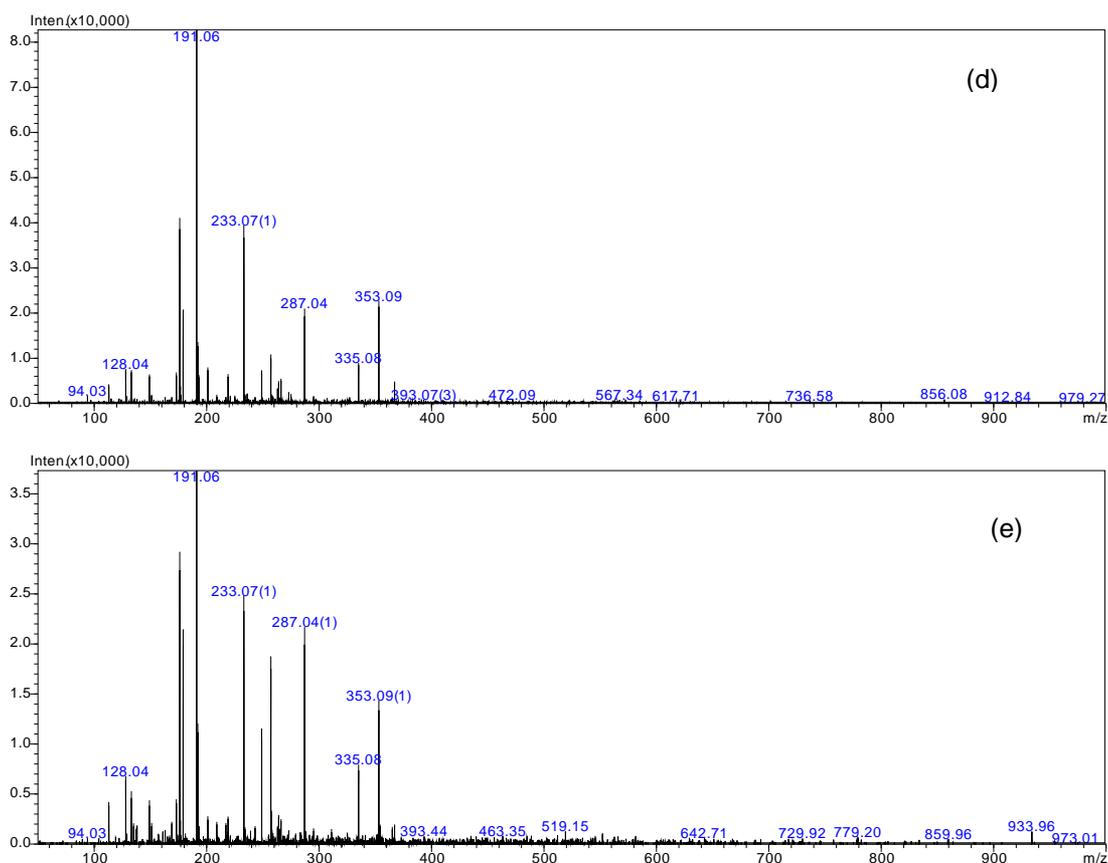


Figura 49 – Espectros dos grãos de café torrados arábica obtidos por ESI(-)-MS – (a) grãos saudios, (b) grãos verdes, (c) grãos ardido claro, (d) grãos ardido escuro e (e) grãos preto.

Uma avaliação comparativa das Figuras 48 e 49 indica que, qualitativamente, os espectros de cada tipo de grão torrado são similares entre as espécies, com exceção dos grãos defeituosos ardido escuro e preto da espécie arábica, que apresentaram espectros com maior número de compostos desprotonados detectados, mesmo que em intensidades muito baixas.

Considerando as destacadas intensidades de detecção do composto de m/z 191, apresentam-se na Figura 50 os valores médios destas intensidades em função de todos os extratos aquosos analisados. Este composto molecular foi identificado como o ácido quínico por SANTOS et al. (2005), GONTHIER et al. (2006), BASTOS et al. (2007) e ROESLER et al. (2007).

Observam-se as variações nas intensidades médias de detecção do ácido quínico entre os extratos analisados e a tendência dos grãos de café da espécie robusta apresentarem detecção média do ácido quínico ligeiramente superior do que a

apresentada pelos mesmos grãos da espécie arábica, a exceção do grão defeituoso preto. Este comportamento corrobora com a literatura, uma vez que, de acordo com KY et al. (2001) o ácido quínico é um dos produtos de degradação térmica dos ácidos clorogênicos, presentes no grão cru, e que nos grãos de café robusta o teor de ácidos clorogênicos é maior do que nos grãos de café arábica.

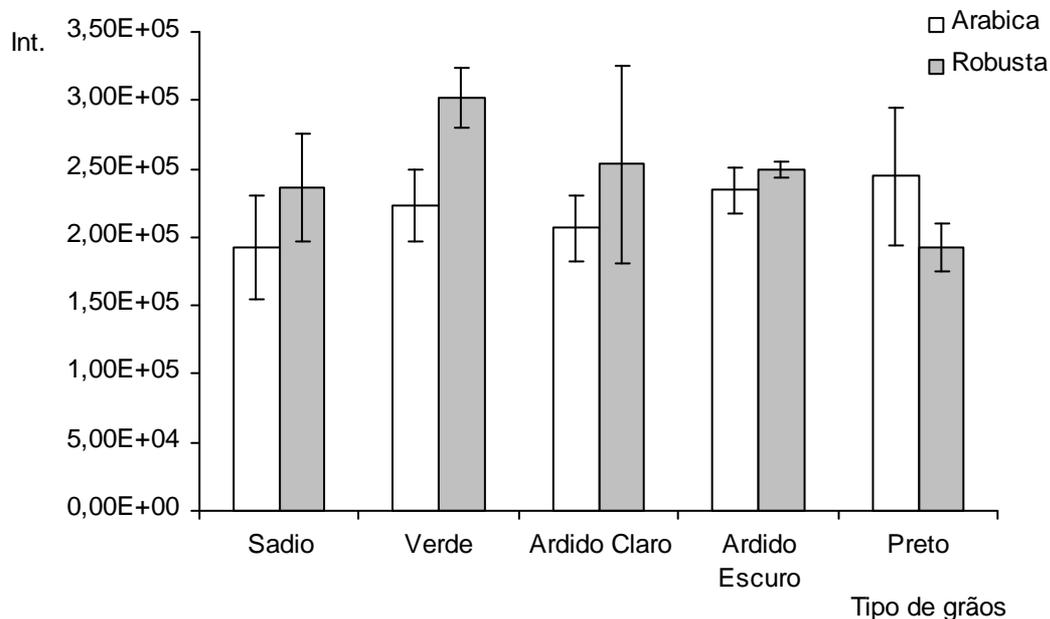
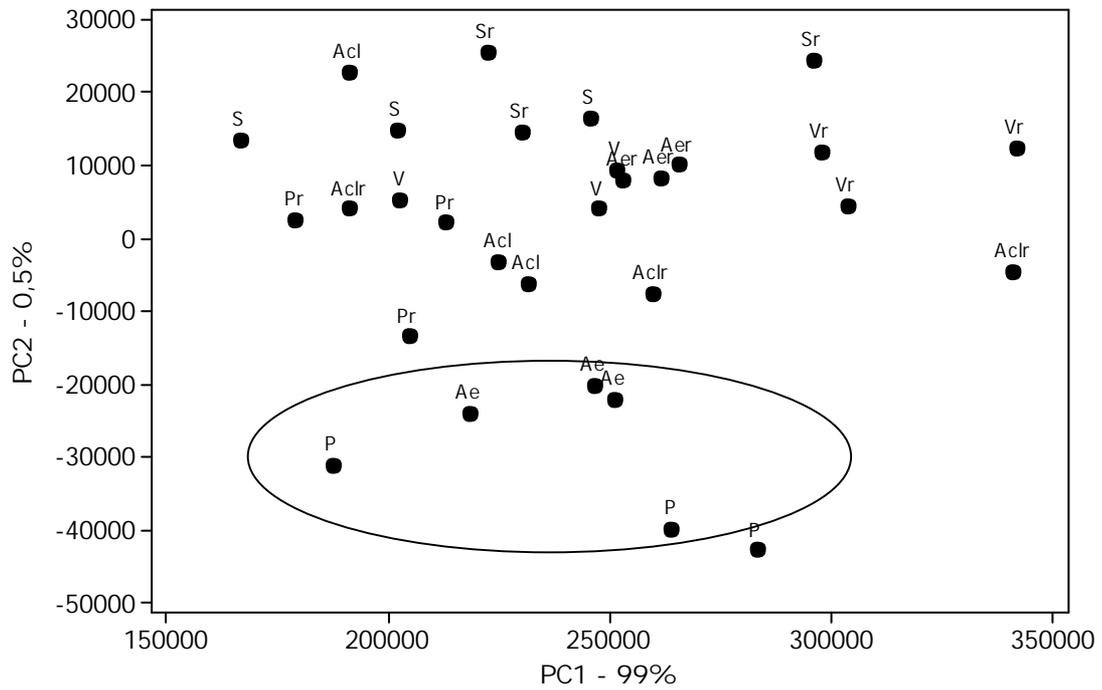


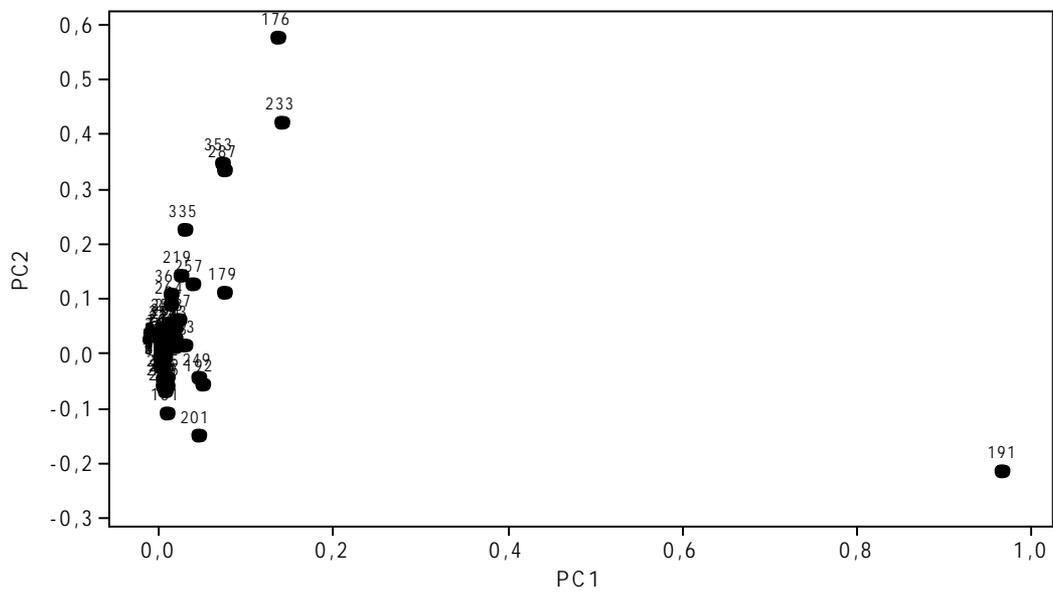
Figura 50 - **Intensidades médias de detecção do pico de m/z 191 nos extratos aquosos analisados (n=30)**

Para avaliar a possibilidade de discriminação dos grãos de café torrados por espécie e/ou por tipo, os dados (m/z, intensidade) obtidos a partir dos espectros ESI(-)-MS foram utilizados na análise de componente principais, considerando 30 amostras e 292 variáveis. O resultado desta análise multivariada é apresentado na Figura 51. Observa-se que o primeiro componente principal (PC1) contém 99% da variabilidade total dos dados, sendo caracterizado principalmente pelo ânion de m/z 191, como pode ser observado ao se comparar as Figuras 51 (a) e (b). O segundo componente principal está associado principalmente aos ânions de m/z 176, 233, 353 e 287, e contém somente 0,5% da variabilidade total dos dados amostrais.

Observa-se que os grãos arábica, ardido escuro e preto foram discriminados dos grãos arábica sadio, verde e ardido claro e os grãos de café robusta, em PC2. Este resultado está de acordo com as diferenças visuais observadas nos espectros já apresentados.



(a)

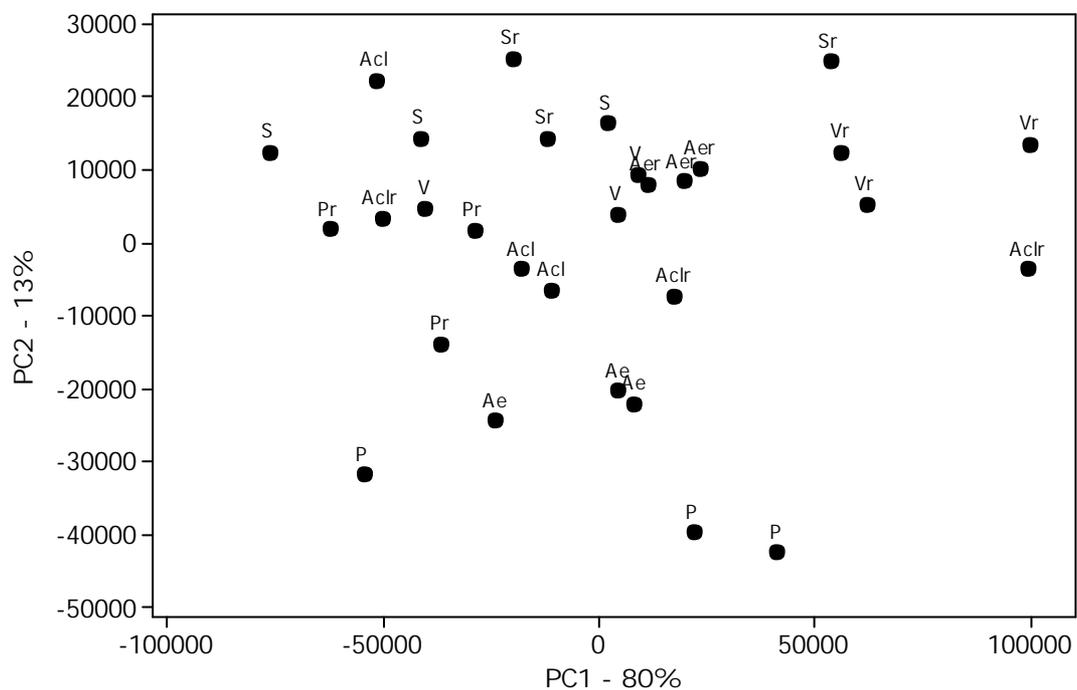


(b)

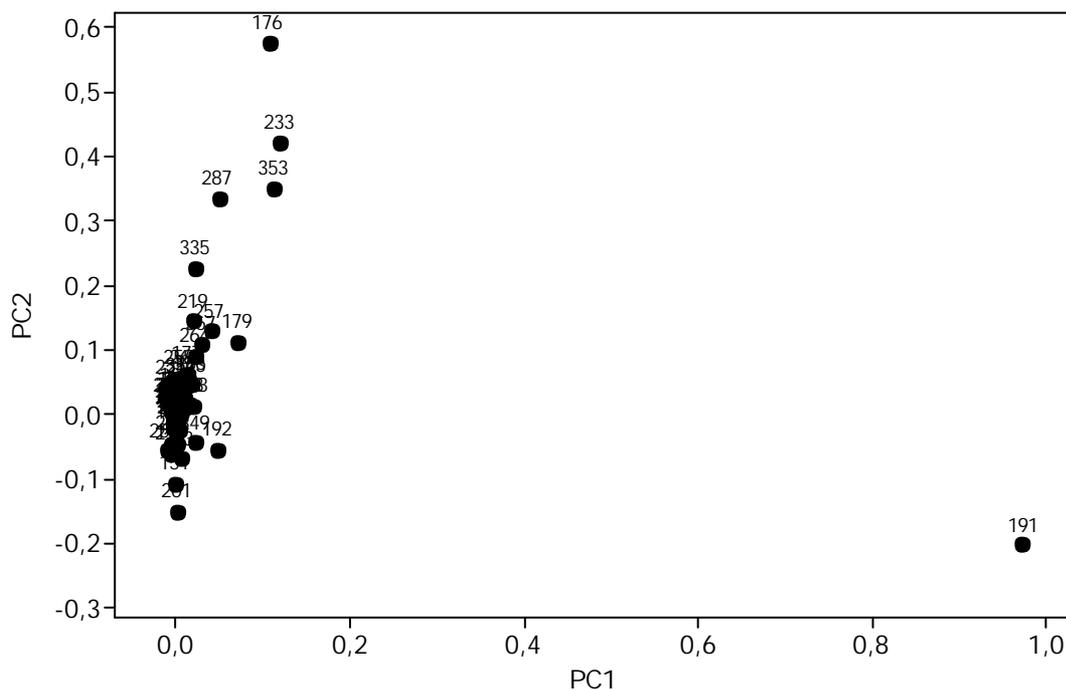
Figura 51 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(-)-MS (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

Alternativamente, os dados amostrais foram tratados (centrados na média) antes da análise de componentes principais, com o objetivo de tentar observar uma discriminação dos grãos torrados. O resultado da análise de componentes principais dos dados centrados na média é apresentado na Figura 52. O primeiro componente principal contém 80% da variabilidade total dos dados e PC2 contém 13%.

É nítida a similaridade entre os resultados apresentados nas Figuras 51 e 52, indicando a similaridade entre os espectros (composição e intensidade dos íons) dos grãos torrados avaliados, a exceção dos grãos ardido escuro e preto da espécie arábica, que constituíram um grupo em PC2.



(a)



(b)

Figura 52 - Gráfico de score (a) e loading (b) para as amostras de grãos de café torrados sadios e defeituosos da espécie arábica e robusta obtido a partir dos dados dos ESI(-)-MS – centrados na média, (S = Sadio; V = verde; Acl = ardido claro; Aes = ardido escuro; P = preto; r = robusta).

Considerando o destaque do ácido quínico, este foi retirado do conjunto de dados amostrais, sem tratamento, para avaliar a possibilidade de discriminação dos grãos de café torrados através de compostos detectados em intensidades baixas. O resultado da análise de componentes principais é apresentado na Figura 53 (a) e (b).

Observa-se a tendência dos grãos da espécie arábica serem discriminados dos grãos de café da espécie robusta, em PC2, destacando a ocorrência dos compostos moleculares de m/z 201 e 353. Dentre as espécies avaliadas, considerando a espécie robusta, os grãos sadios e verdes foram separados dos grãos pretos; e dentre os grãos arábica, os grãos preto e ardido escuro constituíram um subgrupo destacado. Sobrepondo as Figuras 53 (a) e (b) pode ser observado que o composto m/z 176 determinou a discriminação dos grãos sadios e verdes da espécie robusta.

Nota-se que a técnica de ESI(-)-MS não é conclusiva na discriminação dos grãos torrados por espécie e/ou por tipo de grão torrado, exceto para os grãos torrados arábica ardido escuro e preto. Este resultado pode ser associado à abundância de detecção do ânion de m/z 191, identificado como o ácido quínico por SANTOS et al. (2005), GONTHIER et al. (2006), BASTOS et al. (2007) e ROESLER et al. (2007). Justifica-se a abundante detecção deste ácido nos espectros dos grãos torrados como produto da degradação térmica dos ácidos clorogênicos, que são compostos característicos e abundantes nos grãos de café cru, aproximadamente entre 6 a 12% (FARAH et al., 2005).

Com a avaliação da possibilidade de discriminação dos grãos de café torrados, a partir de seus extratos aquosos, destaca-se que no modo negativo de ionização, não foi possível observar uma discriminação eficiente, provavelmente devido à alta detecção do ácido quínico (m/z 191), produto da degradação térmica dos ácidos clorogênicos presentes nos grãos de café cru.

Entretanto, o modo positivo de ionização possibilitou a discriminação dos grãos de café torrados por espécie a partir de seus extratos aquosos. Somente os grãos sadios da espécie robusta foram discriminados dos defeituosos a partir dos espectros ESI(+)-MS, indicando que a discriminação dos grãos de café torrados arábica por tipo não é eficiente nestas condições analíticas. A retirada da cafeína (m/z 195) dos dados amostrais, justificada pela sua desproporcional ocorrência nos espectros, permitiu a visualização de compostos menos intensos e não menos importantes para a discriminação dos grãos torrados. Os compostos de m/z 176 e 147 e 157 são potenciais marcadores químicos dos grãos sadios e imaturos da espécie robusta e dos grãos de café arábica, respectivamente.

6.CONCLUSÕES

A avaliação dos atributos físicos dos grãos de café crus mostrou que os grãos de café arábica são maiores que os robusta, e que os defeituosos são menores do que os sadios. Então, o tamanho pode ser um atributo discriminante dos grãos de café cru por tipo e/ou espécie. A diferença de cor entre as superfícies dos grãos foi capaz de discriminar os grãos sadios dos defeituosos da espécie robusta. Entretanto, para os grãos arábica, a diferença de cor entre as superfícies foi discriminante somente para os grãos sadios dos grãos defeituosos ardidos e pretos, não sendo capaz de discriminar os grãos de café imaturos e sadios.

A espectrometria de massas com ionização por electrospray foi considerada uma método analítica capaz de discriminar os grãos de café sadios dos defeituosos, independentemente da espécie, no modo positivo de ionização. O aducto da sacarose com o potássio possivelmente é o composto determinante nesta discriminação. Os grãos de café cru também foram discriminados por espécie, independentemente do modo de ionização do extrato aquoso.

A torração dos grãos de café provocou alterações nos atributos físicos dos grãos de café dependentes da qualidade do grão de café. O acréscimo no volume do grão e os decréscimos nas densidades da partícula e do leito são maiores nos grãos sadios, que também apresentaram a maior perda de massa. Quanto à discriminação, o tamanho dos grãos torrados foi determinante somente nos grãos da espécie arábica. A diferença de cor foi significativa entre os grãos sadios da espécie arábica e robusta.

A discriminação dos grãos torrados por espécies foi possível através da técnica ESI-(+)-MS, que também possibilitou a discriminação dos grãos sadios dos defeituosos, da espécie robusta, não sendo eficiente para a discriminação por tipo dos grãos arábica. O modo negativo de ionização dos extratos aquosos dos grãos torrados não apresentou resultados conclusivos na discriminação dos grãos torrados por espécie e/ou por tipo, exceto para os grãos ardido escuro e preto da espécie arábica. A ineficiência de discriminação dos grãos de café a partir dos espectros ESI-(-)-MS é devida provavelmente à alta detecção do ácido quínico (m/z 191), inerente ao extrato dos grãos torrado.

7.SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

-
Diante do desenvolvimento deste trabalho e dos resultados obtidos, sugere-se para futuros trabalhos:

- a identificação dos compostos discriminantes dos grupos apresentados para os grãos de café antes e após a torração;
- a avaliação de outros solventes e/ou soluções destes com a água para favorecer a extração de classes específicas de compostos potencialmente discriminantes;
- as análises ESI-MS do extrato etéreo retirado dos grãos de café antes da extração aquosa e do extrato alcoólico dos grãos de café;
- a análise ESI-MS do extrato aquoso dos grãos de café torrados com o objetivo de adequação de uma método analítica ao controle de qualidade;
- a análise dos extratos aquosos de misturas de grãos de café defeituosos in natura, para avaliar a possibilidade de quantificação de grãos defeituosos, ou pelo menos por agrupamentos, em blends;
- a análise de amostras em proporções diferenciadas de grãos sadios e defeituosos, para tentar correlacionar um marcador químico com proporções de grãos defeituosos em misturas;
- a análise de amostras em proporções diferenciadas de grãos de café por espécie, para avaliar o desempenho da técnica ESI-MS.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

www.astbury.leeds.ac.uk, acesso em janeiro de 2008.

ABIC- Associação Brasileira da Indústria do Café (2008)- Estatísticas Produção agrícola. Disponível em: <www.abic.com.br/estat.pagricola.html> acesso em: março de 2008.

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

ALCÁZAR, A., JURADO, J.M., MARTÍN, M. J., PABLOS, F., GONZÁLEZ, A.G. Enzymatic-spectrophotometric determination of sucrose in coffee beans. *Talanta*, 67, 760-766, 2005.

AMORIM, H.V.; BASSO, L.C.; CROCOMO, O.J.; TEIXEIRA, A.A. Polyamines in green and roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.*, v. 25, n. 4, p. 957-958, 1977.

ANDERSON, B.A., SHIMONI, E., LIARDON, R., LABUZA, T.P. The diffusion kinetics of carbon dioxide in fresh roasted and ground coffee. *Journal of Food Engineering*, 59, 71-78, 2003.

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

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis. 16 ed. Washington: AOAC, 1995.

ARAÚJO, A.S.. DA ROCHA, L.L., TOMAZELA, D.M., SAWAYA, A.C.H.F., ALMEIDA, R.R., CATHARINO, R.R., EBERLIN, M.N. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of beer. *Analyst*, 130, 884-889, 2005.

ATOUI, A.K., MANSOURI, A., BOSKOU, G., KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89, 1, 27-36, 2005.

BALZER, H.H. Acids in Coffee. In CLARKE, R.J; VITZTHUM, O.G.(Ed.):*Coffee Recent Developments*. London, p. 18-32, 2001.

BANKS, M., Mc FADDEN, C. e ATKINSON, C. *The world encyclopedia of coffee*. London: Anness Publishing Limited, 1999.

BARBOSA, R.M.; SILVA, P.H.A.; REGAZZI, A.J. Composição química de seis categorias da bebida café previamente classificada pelo teste da xícara. *Rev. Bras. Armazenamento*, v. Especial Café, n. 4, p. 45-51, 2002.

BÁRTHOLO, G.F.; FILHO, A.A.R.M.; GUIMARÃES, P.T.G.; CHALFOUN, S.M. Cuidados na colheita, no preparo e no armazenamento do café. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.14, n. 162, p. 33-44, 1989.

BÁRTHOLO, G.F., GUIMARÃES, P.T.G. Cuidados na colheita e preparo do café. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 18, 187, 33-42, 1997.

BASTOS, D.H.M., ISHIMOTO, E.Y., MARQUES, M.O.M., FERRI, A.F., TORRES, E.A.F.S. Essential oil and antioxidant activity of Green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 6-7, 538-543, 2006.

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

BERETON, R.G. Chemometrics – Data analysis for the laboratory and chemical plant. Wiley, 497p., 2003.

BERNADEZ, M.M., MIGUELEZ, J. De La M., QUEIJEIRO, J.G. HPLC determination of sugars in varieties of chestnut fruits from Galicia (Spain). *Journal of Food Composition and Analysis*, 17, 63-67, 2004.

BETENCOURT, L.E.; FRANK, H.K. Bedingungen des mikrobiellen verderbs von grunem kaffee. *Deustche Lebensmittel-Rundschau*, v. 79, p. 366-369. 1983.

BOBBIO, F.O., BOBBIO, P.A. *Química do processamento de alimentos*. 3ª edição, São Paulo, 2001.

BORGES, M.L.A.; FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S.; CORRÊA, P.C.; GLÓRIA, M.B.A. Estudo da variação da coloração de café arábica durante a torra em diferentes condições de aquecimento. *Rev. Bras. Armazenamento*, Viçosa - Especial de Café, MG, 5, 3-8, 2002.

BORGES, M.L.A., MENDONÇA, J.C.F., FRANÇA, A.S., OLIVEIRA, L.S. Perfis de Trigonelina, Ácido 5-Cafeiolquínico e cafeína em cafés de diferentes qualidades durante a torração. *R. Bras. Armazenamento*, Viçosa – Especial Café, MG, 8, 14-18, 2004b.

BORGES, M.L.A., MENDONÇA, J.C.F., FRANÇA, A.S., OLIVEIRA, L.S., CORRÊA, P.C.. Efeito da Torração em Parâmetros físicos de cafés de diferentes qualidades. *R. Bras. Armazenamento*, Viçosa – Especial Café, MG, 8, 6-13, 2004a.

BRADBURY, A.G.W. e HALLIDAY, D.J. Polysaccharides in green coffee beans. Proceedings of the 12th. ASIC colloquium (Montreux), 265-9, ASIC, Paris, França, 1987.

BRADBURY, A.G.W. e HALLIDAY, D.J. Chemical structures of green coffee bean polysaccharides. J. Agric. Food Chem., 38, 389-92, 1990.

BRADBURY, A.G.W. Carbohydrates – Chemistry I: Non-volatile compounds. In: CLARKE, R.J.; VITZTHUM, O.G. (Ed.) *Coffee-Recent Developments*, p.1-17, London, 2001.

BRAVO, L. GOYA, L., LECUMBERRI, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilexparaguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages, Food Research International, 40, 3, 393-405, 2007.

CAMPA, C., BALLESTER, J.F., DOULBEAU, S., DUSSERT, S., HAMON, S. E NOIROT, M. Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. Food Chemistry, 88, 39-43, 2004.

CAMPA, C., DOULBEAU, S., DUSSERT, S. HAMON, S., NOIROT, M. Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild *Coffea* species. Food Chemistry, 93, 135-139, 2005

CARDELLI, C., LABUZA, T.P. Application of weibull hazard analysis to the determination of the shelf life of roasted and ground coffee. Lebensm.-Wiss. U-Technol., 34, 273-278, 2001.

CARRERA, F., LEÓN-CAMACHO, M., PABLOS, F., GONZALÉZ, A.G. Authentication of green coffee varieties according to their sterolic profile. Analytica Chimica Acta, 370, 131-139, 1998.

CARVALHO JUNIOR, C., BORÉM, F.M., PEREIRA, R.G.F.A., SILVA, F.M. Influência de diferentes sistemas de colheita na qualidade do café (*Coffea arabica* L.) Ciênc. Agrotec., Lavras, n-5, 1089-1096, 2001

CARVALHO JUNIOR, C. Efeito de sistemas de colheita na qualidade do café (*Coffea arabica* L.), Dissertação de mestrado em Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 139p., 2002

CARVALHO, G.R. O mercado do café em perspectiva. Boletim de conjuntura agropecuária. Campinas. Disponível em: http://www.cnpm.embrapa.br/conjuntura/0601_cafe.pdf acesso em março de 2008

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

CASAL, S., ALVES, M.R., MENDES, E., OLIVEIRA, M.B.P.P., FERREIRA, M. Discrimination between Arabica and Robusta coffee species on the basis of their amino acids enantiomers. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6495-6501, 2003

CASAL, S.; MENDES, E.; ALVES, M.R.; ALVES, R.C.; BEATRIZ, M.; OLIVEIRA, P.P.; FERREIRA, M.A. Free and conjugated biogenic amines in green and roasted coffee beans. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, n. 20, p. 6188-6192, 2004.

CASAL, S. MENDES, E., OLIVEIRA, M.B.P.P., FERREIRA, M.A. Roasted effects on coffee amino acids enantiomers. *Food Chemistry*, 89, 333-340, 2005.

CATHARINO, R.R., HADDAD, R., CABRINI, L.G., CUNHA, I.B.S., SAWAYA, A.C.H.F., EBERLIN, M.N. Characterization of vegetables oils by electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting: classification quality, adulteration, and aging. *Anal. Chem.*, 77, 7429-7433, 2005.

CATHARINO, R.R., CUNHA, I.B.S., FOGACA, A.O., FACCO, E.M.P., GODOY, H.T., DAUDT, C.E., EBERLIN, M.N., SAWAYA, A.C.H.F. Characterization of must and wine of six varieties of grapes by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.*, 41, 185-190, 2006.

CHARLES-BERNARD, M., KRAEHENBUEHL, K., RYTZ, A., ROBERTS, D.D. Interactions between volatile and nonvolatile coffee components. 1. Screening of Nonvolatile Components. *J. Agric. Food Chem.* , 53, 4417-4425, 2005.

CHEUNG-BAKER, A. www.aprilnet.com/dental/application.htm. acesso em: 12 jan. 2005.

CIRILO, M.P.G., Coelho, A.F.S., Araujo, C.M., Goncalves, F.R.B., Nogueira, F.D. and Gloria, M.B.A. Profile and levels of bioactive amines in green and roasted coffee, *Food Chemistry*, 82, 397-402, 2003

CLARKE, R. J. and MACRAE, R. *Coffee Vol. 1: Chemistry*. London: Elsevier Applied Science, 1985.

CLARKE, R. J. Grading, Storage, Pre-treatments and Blending. In R.J. Clarke and R. Macrae (Eds.), *Coffee Vol. 2: Technology* (pp. 35-58.), London: Elsevier Applied Science., 1987a

CLARKE, R.J. Roasting and Grinding. In R.J. Clarke and R. Macrae (Eds.), *Coffee Vol. 2: Technology* (pp. 73- 107), London: Elsevier Applied Science, 1987b.

CLARKE, R.J., MACRAE, R. *Coffee Technology* (Eds. Clarke, R.J e Macrae , R.) Amsterdam: Elsevier Applied Science, 1987.

CLIFFORD, M.N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: CLIFFORD, M.N, WILLSON, K.C. Coffee, Botany, Biochemistry and production of beans and beverage . Croom Helm, Londres, 305-74., 1985a.

CLIFFORD, M.N. Chlorogenic Acids In: CLARKE, R.J., MACRAE, R. (Eds) Coffee Volume 1 : Chemistry, Elsevier Applied Science, 153-202, 1985b.

CLIFFORD, M.N. KASI, T. The influence of coffee bean maturity on the content of chlorogenic acids, caffeine and trigonelline. Food Chem., 26, 59-69, 1987.

CLIFFORD, M.N., Chlorogenic acids and other cinnamates – Nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. Journal of the science of food and agriculture, 80, 1033-1043, 2000.

CODY, R. B. Electrospray ionization Mass Spectrometry. In: Pramanik, B. N., Ganguly, A.K., Gross, M.L. (Ed.) Applied Electrospray Mass Spectrometry. New York: Marcel Dekker, 2002.

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

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (2006). Safra Café - Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em 13 de março de 2006.

CUSTÓDIO, B. M. O., MAGALHÃES, F. S., MANSUR, M. B., FRANCA, A. S. and OLIVEIRA, L.S. Elemental analysis of defective and non-defective beans in green and roasted coffee. In: 2005 ASAE Annual International Meeting, 2005, Tampa, FL. ASAE Paper no. 056085, 8p, 2005

DAGLIA, M., PAPETTI, A., GREGOTTI, C., BERTE, F., GAZZANI, G. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. J. Agric. Food Chem., 48, 1449-1454, 2000.

DART, S.K. e NURSTEN, H.E. Volatile components. In: Coffee Chemistry-Vol. 1 (ed. R.J. Clarke e R. Macrae), pp.223-65 Elsevier Applied Science, Londres, 1985

De CARO, C.A., AICHERT, A., WALTER, C.M. Efficient, precise and fast determination by the Karl Fisher titration. Food Control, 12, 431-436, 2001

De MARIA, C.A.B., TRUGO, L.C., MOREIRA, R.F.A., WERNECK, C.C. Composition of green coffee fractions and their contribution to the volatile profile formed during roasting. Food Chemistry, 50, 141-145, 1994.

De MARIA, C.A.B., TRUGO. L.C., NETO, F.R.A., MOREIRA, R.F.A. E ALVIANO, C.S. Composition of green coffee water-soluble fractions and identification of volatiles formed during roasting. Food Chem., 55, 203-7, 1996

DOWNEY, G., BRIANDET, R., WILSON, R.H., KEMSLEY, E.K. Near- and Mid-infrared spectroscopies in food authentication: coffee varietal identification. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 4357-4361, 1997.

DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., HEBERS, P.A., SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, 28 (3), 350-356, 1956.

DUTRA, E.R; OLIVEIRA. L.S.; FRANCA, A.S. FERRAZ, V.P.; AFONSO, R.J.C. A preliminary study on the feasibility of using the composition of coffee roasting exhaust gas for the determination of degree of roast. *J. Food Eng.*, 47 (3), 241-246, 2001

ESTEBAN-DIEZ, I., GONZALEZ-SAIZ, J.M., SAENZ-GONZALEZ, C., PIZARRO, C. Coffee varietal differentiation based on near infrared spectroscopy. *Talanta*, 71, 1, 221-229, 2007.

FARAH, A. Distribuição nos grãos, importância na qualidade da bebida e biodisponibilidade dos ácidos clorogênicos do café. (Distribution in coffee beans, importance in beverage quality and biodisponibility of chlorogenic acids in coffee) Ph.D. Thesis, UFRJ (in Portuguese), 2004.

FARAH, A. PAULIS, T. TRUGO, L.C., MARTIN, P.R. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1505-1513, 2005.

FARAH, A., DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiol.*, 18(1), 23-26, 2006.

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

FELDMAN, J.R.; RYDER, W.S.; KUNG, J.T. Importance of nonvolatile compounds to the flavor of coffee. *J. Agric. Food Chem.*, 17 (4), 733-739, 1969.

FISCHER, M., REIMANN, S., TROVATO, V. E REDGWELL, R.J. Polysaccharides of green Arabica and Robusta coffee beans. *Carbohydrate Research*, 330, 93-101, 2001.

FOLSTAR, P. Lipids. In R.J. Clarke and R. Macrae (Eds.), *Coffee Vol. 1: Chemistry* (pp. 203–222), London: Elsevier Applied Science, 1985.

FRANCA, A.S., OLIVEIRA, L.S., MENDONÇA, J.C.F., Silva, X.A Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. *Food Chemistry*, 90 (1-2), 89-94, 2005a

FRANCA, A.S., MENDONÇA, J.C.F., OLIVEIRA S.D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Tecnologie*, 38 (7), 709-715, 2005b.

FRANCA, A.S., OLIVEIRA, L.S. Chemistry of defective coffee beans. In: Koerffer, E.N. (Ed.) *Food Chemistry Research Developments*. Nova Science Publishers, Inc., 2008.

FREITAS, M.L.G. A última impressão é a que fica - Introdução à classificação e degustação de café (The last impression stays... Introduction to coffee classification and cupping) *Sindicafé MG*, 74 p. (in Portuguese), 2001.

GANUTTI, R.S. GOMES, A.G. Influência do estágio de maturação sobre a qualidade da bebida do café do Vale do Paraíba, *Bragantia* 20, 989-995, 1961.

GARRUTI, R.S., GOMES, A.G. Influência do estágio de maturação sobre a qualidade da bebida do café do Vale do Paraíba, *Bragantia*, 20, 989-995, 1961.

GIALLULY, M. Factors affecting the inherent quality of green coffee. In SACHS, B. e SYLVAIN, P.G. (Eds.), *Advances in coffee production technology*, 88-92, New York, The Spice Mill, 1959.

GINZ, M., BALZER, H.H., BRADBURY, A.G.W., MAIER, H.G. Formation of aliphatic acids by carbohydrate degradation during roasting of coffee. *Eur. Food Res. Technol.*, 211, 404-410, 2000.

GOMEZ-ARIZA, J.L., ARIAS-BORREGO, GARCIA-BARRERA, T., BELTRAN, R. Comparative study of electrospray and photospray ionization sources coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometer for olive oil authentication. *Talanta*, 70, 4, 859-869, 2006.

GONTHIER, M.P., REMESY, C., SCALBERT, A., CHEYNIER, V., SOUQUET, J.M., POUTANEN, K., AURA, A.M. Microbial metabolism of caffeic acid and its esters chlorogenic and caftaric acids by human faecal microbiota in vitro. *Biomedecine e Pharmacotherapy*, 60, 9, 536-540, 2006.

GONZALEZ, A.G., PABLOS, F., MARTIN, M.J., LEON-CAMACHO, M., VALDENEBRO, M.S. HPLC analysis of tocopherols and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters. *Food Chemistry*, 73, 93-101, 2001.

GONZALES –RIOS, O., SUAREZ-QUIROZ, M.L., BOULANGER, R., BAREL, M., GUYOT, B., GUIRAUD, J.P., SCHORR-GALINDO, S. Impact of “ecological” post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans; I Green coffee. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 289-296, 2007a.

GONZALES –RIOS, O., SUAREZ-QUIROZ, M.L., BOULANGER, R., BAREL, M., GUYOT, B., GUIRAUD, J.P., SCHORR-GALINDO, S. Impact of “ecological” post-harvest

processing on coffee aroma; II Roasted coffee. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 297-307, 2007b.

GOODACRE, R., YORK, E.V., HEALD, J.K., SCOTT, I.M. Chemometric discrimination of unfractionated plant extracts analyzed by electrospray mass spectrometry. *Phytochemistry*, 62, 6, 859-863, 2003.

GROSCH, W. Chemistry III: Volatile compounds. In: Clarke, R.J. and Vitzthum, O.Z. (Ed) *Coffee: Recent Developments*, pp. 68-89, Oxford: Blackwell Science, 2001.

HERNANDEZ, J.A., HEYD, B., IRLES, C., VALDOVINOS, B., RYSTRAM, G. Analysis of the heat and mass transfer during coffee batch roasting. *Journal of Food Engineering*, 78, 4, 1141-1148, 2007.

HERTOG, M.G.L., HOLLMAN, P.C.H., e VAN DE PUTTE, B. . Contento f potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit jueces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41 (8), 1242-1246, 1993

HOFFMANN, E. e STROOBANT, V. *Mass Spectrometry – Principles and Applications*, John Wiley e Sons, Ltd, 2002, 407p.

HOMMA, S. Chemistry II: Non-volatile compounds, Part II. In R.J.Clarke e O.G.Vitzthum (Eds.), *Coffee Recent Developments* (pp.50-67), London: Elsevier Applied Science, 2001.

HU. Q., ZHOU, T., ZHANG L., FANG, Y. Study of the separation and determination of monosaccharides in soluble coffee by capillary zone electrophoresis with electrochemical detection. *The analyst*, 126, 298-301, 2001.

ICO, International Coffee Organization, www.ico.org, acesso em julho de 2007.

ILLY, A.; VIANI, R. *Espresso Coffee: The Chemistry of Quality*. London: Academic Press Limited. 253 p, 1995.

ILLY, E. The complexity of coffee, *Scientific American*, June, 86-91, 2002.

ISENGARD, H. -D. Water content, one of the most important properties of food. *Food Control* 12, 395-400, 2001.

ISENGARD, H. -D., FARBER, J.-M. ' Hidden parameters' of infrared drying for determining low water contents in instant powders. *Talanta*, 50, 239-246, 1999.

ISENGARD. H.D.e STRIGGLER, U Karl Fisher titration in boiling methanol. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 342, 287-291, 1992.

KAFKAS, E., KOSAR, M., TUREMIS, N., BASER, K.H.C. Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from Turkey. *Food Chemistry* 97, 732-736, 2006.

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

KIYOHARA, C., KONO, S., HONJO, S., TODOROKI, I., SAKURAI, Y., NISHIWAKI, M., HAMADA, H., NISHIKAWA, H., KOGA, H., OGAWA, S., NAKAGAWA, K. Inverse association between coffee drinking and serum uric acid concentrations in middle-aged Japanese males. British Journal of Nutrition, 82, 125-130, 1999.

KUÇUKISLAMOĞLU, M., YAYLI, N., SENTURK, H. B., & GENÇ, H. Flavonol glycosides from *Consolida armeniaca*. Turkish Journal of Chemistry, 24, 191–197, 2000.

KY, C.L., DOULBEAU, S., GUYOT, B., AKAFFOU, S., CHARRIER, A., HAMON, S., LOUARN, J., NOIROT, M. Inheritance of coffee bean sucrose content in the interspecific cross *Coffea pseudozanguebariae* X *Coffea liberica* 'dewevrei'. Plant Breeding, 119, 165 – 168, 2000.

KY, C.L.; LOUARN, J., DUSSERT, S., GUYOT, B., HAMON, S., NOIROT, M. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea Arabica* L. and *C. canephora* P. Accessions. Food Chemistry, 75, 223-230, 2001.

LELOUP, V. E LIARDON, R. Analytical characterization of coffee carbohydrates. Proceedings of the 15th ASIC ,863-5. ASIC, Paris, França, 1993.

LELOUP, V. E LIARDON, R. Degradations mechanisms of chlorogenic acids during roasting. In: Proc. 16th Int. Sci. Coll. Coffee (Kyoto) ASIC, 192-198, Paris, 1995.

LENTNER, C. e DEATHERAGE, F.E. Organic acids in coffee in relation to the degree of roast. Food res., 24, 483-92, 1959.

LUGER, A., STEINHART, H. Carbohydrates in steam treated coffee. In: Proceedings of the 16th ASIC colloquium (Kyoto), 366-71, ASIC, Paris, França, 1995.

MAGA, J.A. Thermal decomposition of carbohydrates. Thermal Generation of Aromas (editores: T.H.Parliament, R.J. McGorin e C.T. Ho), 32-9. ACS Symposium Series. ACS, Washington, 1989.

MANCHA AGRESTI, M. P.D.C., FRANCA, A.S., OLIVIERA, L.S. and AUGUSTI, R. Discrimination between defective and non-defective Brazilian coffee beans by their volatile profile, Food Chemistry, 106, 787-796, 2008.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO-. Disponível em www.agricultura.gov.br . acesso em: março de 2006.

MARTIN, M.J., PABLOS, F., GONZALÉS, A.G. Characterization of green coffee varieties according to their metal content. Analytica Chimica Acta, 358, 177- 183, 1998a.

MARTIN, M.J., PABLOS, F., GONZALÉS, A.G. Discrimination between Arabica and robusta green coffee varieties according to their chemical composition. *Talanta*, 46, 1259-1264, 1998b.

MARTIN, M.J., PABLOS, F. and GONZALEZ, A.G. Characterization of Arabica and Robusta varieties and mixture resolution according to their metal content. *Food Chemistry*, 66, 365-370, 1999

MARTÍN, M.J., PABLOS, F. GONZÁLEZ, A.G., VALDENEBRO, M.S., LÉON-CAMACHO, M. Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffee varieties differentiation. *Talanta*, 54, 291-297, 2001.

MASSINI, R., NICOLI, M.C., CASSARA, A. e LERICI, C.R. Study of physical and physicochemical changes of coffee beans during roasting. Note 1. *Italian Journal of Food Science*, 123-130, 1999.

MATHLOUTHI, M. Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs. *Food Control* 12, 409-417, 2001

MATIELLO, J.B. *Quentes como o café: Indicações de uso de equipamentos, produtos e serviços para a cafeicultura*. Rio de Janeiro: MAA/PROCAFÉ 185 p, 1999.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. *Food Chem.*, 64, 547-54, 1999

MECOZZI, M., AMICI, M., PIETRANTONIO, E., ACQUISTUCCI, R. Ultrasound-assisted analysis of total carbohydrates in environmental and food samples. *Ultrasonic Sonochemistry*, 6, 133-139, 1999.

MECOZZI, M., ACQUISTUCCI, R., AMICI, M., CARDARILLI, D. Improvement of ultrasound assisted method for the analysis of total carbohydrate in environmental and food samples. *Ultrasonics sonochemistry*, 9, 219-223, 2002.

MENDONÇA. J.C.F., FRANCA, A.S., OLIVEIRA, L.S., CORRÊA, P.C. Estudo preliminar da caracterização física e química de grãos defeituosos de café (PVA) antes e após a torra. *Revista Brasileira de Armazenamento, V. Especial Café*, 7, 44-49, 2003.

MENDONÇA, J.C.F., FRANCA, A.S., OLIVEIRA, L.S. A comparative evaluation of methodologies for water content determination in green coffee. *LWT*, 40, 1300-1303, 2007.

MOLLER, J.K.S., CATHARINO, R.R., EBERLIN, M.N. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of whisky: Immediate proof of origin and authenticity, *Analyst*, 130, 890-897, 2005.

MOLLER, J.K.S., CATHARINO, R.R., EBERLIN, M.N. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of essential oils: Spices from the Labiatae family, *Food Chemistry*, 100, 1283-1288, 2006

MONTAVON, P., DURUZ, E., RUMO, G., PRATZ, G. Evolution of green coffee protein profiles with maturation and relationship to coffee cup quality, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 2328-2334, 2003

MONTILLA, A., MATUTE, A.I.R., SANZ, M.L., MARTINEZ-CASTRO, I., CASTILLO, M.D.del (2006) Difrutose anhydrides as quality markers of honey and coffee. *Food Research International*, 39, 801-806, 2006.

MORAES . M. C. B., LAGO, C. L. Espectrometria de Massas com ionização por “electrospray” aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas, *Química Nova*, 26, 4, 556-563, 2003.

MOREIRA, R.F.A., TRUGO, L.C., De MARIA, C.A.B., Componentes voláteis do café torrado. Parte II. Compostos alifáticos, acíclicos e aromáticos. *Química Nova*, 23, 195, 2000

MURKOVIC, M., DERLER, K. (2006) Analysis of amino acids and carbohydrates in green coffee. *J. Biochem. Biophys Methods*, 69, 1-2, 25-32, 2006.

NAGARAJU, V.D., MURTHY, C.T., RAMALAKSHMI, K., SRINIVASA, R.P.N. Studies on roasting of coffee beans in a spouted bed. *Journal of Food Engineering* 31, 263-270, 1997.

NARDINI, M., CIRILLO, E., NATELLA, F., SCACCINI, C. Absorption of phenolic acids in humans alter coffee consumption. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 5735-5741, 2002.

NOYES, R.M. e CHU, C.M. Material balance on free sugars in the production of instant coffee. *Proceedings of the 15th ASIC Colloquium (Montpellier)*, 577-82. ASIC, Paris, França, 1993.

NUNES, F.M., COIMBRA, M.A., DUARTE, A.C., DELGADILLO, I. Foamability , foam stability, and chemical composition of espresso coffee as affected by the degree of roasted. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 3238-3243, 1997.

NUNES, F.M., COIMBRA, M.A. Chemical characterization of the high molecular weight material extracted with hot water from green and roasted arabica coffee. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 1773-1782, 2001a.

NUNES, F. M., COIMBRA, M.A. Chemical characterization of galactomannans and arabinogalactans from two arabica coffee infusions as affected by the degree of roasted. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1773-1782, 2001b.

NUNES, F.M. E COIMBRA, M.A., Chemical characterization of galactomannans and arabinogalactans from two arabica coffee infusions as affected by the degree of roast. *J. Agric. Food Chemistry*, 50, 1429-1434, 2002.

NUNES, F.A., DOMINGUES, M.R., COIMBRA, M.A. Arabinosyl and glucosyl residues as structural features of acetylated galactomannans from green and roasted coffee infusions. *Carbohydrate Research*, 340, 1689-1698, 2005

NUNES, F. e COIMBRA, M. Melanoidins from coffee infusions. Fractionation, chemical characterization, and effect of the degree of roast. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 3967-3977, 2007

O CAFEZAL. Lavagem: eliminação de sujeiras e de grãos inferiores. 2004. Disponível em: <http://www.coffeekbreak.com.br/Acesso> em: 28 dez. 2004.

OLIVEIRA, S.D.; FRANCA, A.S.; GLÓRIA, M.B.A.; BORGES, M.L.A. The effect of roasting on the presence of bioactive amines in coffees of different qualities. *Food Chem.*, 90, 287-291, 2005.

OLIVEIRA, L.S.; FRANCA, A.S.; MENDONÇA, J.C.F.; BARROS-JÚNIOR, M.C. Proximate composition and fatty acids profile of green and roasted defective coffee beans. *LWT – Food Science e Technology*, 39 (3), 235-239, 2006.

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

OOSTERVELD, A., VORAGEN, A.G.J. E SCHOLS, H.A. Extraction and characterization of polysaccharides from green and roasted *Coffea arabica* beans. *Carbohydrate Polymers*, 52, 285-296, 2003b.

OOSTERVELD, A., COENEN, G.J., VERMEULEN, A.G.J., SCHOLS, H.A. Structural features of acetylated galactomannans from green *Coffea arabica* beans. *Carbohydrate Polymers*, 58 (4), 427-434, 2004

PARRAS, P., MARTÍNEZ-TOMÉ, M., JIMÉNEZ, A.M., MURCIA, M.A. Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. *Food Chemistry*, 102,3, 582-592, 2007.

PEREIRA, R.G.F.A. Efeito da inclusão de grãos defeituosos na composição química e qualidade do café (*arabica L.*) “estritamente mole”. Lavras: Escola Superior de Agricultura da UFLA. 96 p. (Tese, Doutorado em Ciência dos Alimentos), 1997.

PERRONE, D., FARAH, A., DONANGELO, C.M., TOMAS De PAULIS, T. and MARTIN, P.R. Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars, *Food Chemistry*, 106, 859-867, 2008

PIMENTA, C, J. Qualidade do café (*Coffea Arabica* L.) originados de frutos colhidos em quarto estádios de maturação. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 94 p., (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos), 1995.

PITTIA, P., DALLA ROSA, M., LERICI, C.R. Textural changes of coffee beans as affected by roasting conditions. *Lebensm.-Wiss.U-Technol.*, 34, 168-175, 2001.

PRAXEDES, S.C., DAMATTA, F.M., LOUREIRO, M.E., FERRÃO, M.A.G., CORDEIRO, A.T. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. *Environmental and Experimental Botany*, 53, 3, 263-273, 2006.

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

PRODOLLIET, J e HISCENHUBER, C. Food authentication by carbohydrate chromatography. *Z. Lebensm Unters Forsh A*, 207, 1-12, 1998.

PUERTA-QUINTERO, G.I., Influencia del proceso de beneficio en la calidad del café. *Cenicafé*, 50, 708-88, 1999.

RAEMY, A. Differential thermal analysis and heat flow calorimetry of coffee and chicory products. *Thermochimica Acta*, 43, 229-236, 1981.

RAEMY, A., LAMBELET, P. A calorimetric study of shelf-heating in coffee and chicory. *Journal of Food Technology*, 17, 451-460, 1982.

RAMALAKSHMI, K., KUBRA, I.R. and RAO, L.J.M. Physicochemical Characteristics of Green Coffee: Comparison of Graded and Defective Beans, *Journal of Food Science*, 72, S333-S337, 2007.

REDGWELL, R.J., TROVATO, V., CURTI, D. E FISCHER, M. Effect of roasting on degradation and structural features of polysaccharides in Arabica coffee beans, *Carbohydrate Research*, 337, 421-431, 2002a.

REDGWELL, R.J., CURTI, D., FISCHER, M., NICOLAS,P., FAY, L.B. Coffee bean arabinogalactans: acidic polymers covalently linked to protein. *Carbohydrate Research*, 337, 239-253, 2002b.

REH, C.T., GERBER, A., PRODOLLIET, J., VUATAZ, G. Water content determination in green coffee-Method comparison to study specificity and accuracy. *Food chemistry*, 96, 423-430, 2006.

RICHELLE, M., TAVAZZI, I., OFFORD, E. Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 3438-3442, 2001.

RODRIGUES, M.A.A.; BORGES, M.L.A.,FRANCA, A.S., OLIVEIRA, L.S., CORREA, P.C. Evaluation of Physical Properties of Coffee During Roasting. *Agricultural Engineering International The CIGR Journal Of Scientific Research And Development*, Manuscript FP 03004, v. V, p. 1-12, 2003.

ROESLER, R., CATHARINO, R.R., MALTA, L.G., EBERLIN, M.N., PASTORE, G. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: Characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry, *Food Chemistry*, 104, 1048-1054, 2007.

ROESLER, R., CATHARINO, R.R., MALTA, L.G., EBERLIN, M.N., PASTORE, G. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry, *Food Chemistry*, 110, 711-717, 2008.

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

RUSAK, G., KOMES, D., LIKIC, S., HORZIC, D., KOVAC, M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry*, 10, 4, 852-858, 2008.

SABBAGH, M.K., YOKOMIZO, Y. The effect of roasting on some chemical properties of Arabian and Robusta coffee. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, 7 (1), 147-161, 1976.

SACHSLEHNER, A., FOIDL, G., FOIDL, N., GUBITZ, G., HALTRICH, D. Hydrolysis of isolated coffee mannan and coffee extract by mannanases of *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Biotechnology*, 80, 127-134, 2000.

SANTOS, E.J. e OLIVIERA, E. Determination of mineral nutrients and toxic elements in brazilian soluble coffee by ICP-AES, *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, 523-531, 2001

SANTOS, M.D. DOS, MARTINS, P.R., SANTOS, P.A. DOS, BORTOCAN, R., IAMAMOTO, Y. LOPES, N.p. Oxidative metabolism of 5-o0caffeoylquinic acid (chlorogenic acid), a bioactive natural product, by metalloporphyrin and rat liver mitochondria. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26, 1, 62-70, 2005.

SCHENKER, S., HANDSCHINI, S., FREY, B., PERREN, R., ESCHER, F. Pore structure of coffee beans affected by roasting conditions. *Journal of Food Science*, 65, 3, 452-457, 2000.

SEBRAE – SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS (2006). Disponível em: <www.sebrae.com.br/revistasebrae/09>. Acesso em 13 de março de 2006.

SILVA, J.S. Colheita, secagem e armazenamento do café. In: I ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE CAFÉ COM QUALIDADE, Viçosa, MG. Anais Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 39-80, 1999.

SILVA, F.M. Colheita de café mecanizada e semi-mecanizada. Lavras: UFLA – Boletim de Extensão, p.88, 2001.

SILWAR, R. e LULLMAN, C. The determination of mono- and disaccharides in green Arabica and Robusta coffees using high performance liquid chromatography. *Café Cacao The*, 32,319-22, 1988.

SINDICAFÉ – Sindicato da Indústria do Café – MG (2003). Noções práticas de classificação e degustação de café. Apostila do curso. Belo Horizonte, MG. 27p.

SIUZDAK, G. *Mass Spectrometry for biotechnology*. San Diego, Califórnia, Academic press, 161 p., 1996

SIVETZ, M., DESROSIER, N.W. In: *Coffee Technology*. Westport, Connecticut: AVI Publishing Company, 716p, 1979.

SMITH, A.W. Introduction. In: *Coffee chemistry*. CLARKE, R.J.; MACRAE, R (Eds.), London: Elsevier applied Science. v. 1, 1-41, 1986.

SOUZA, P.P.DE, SIEBALD, H.G.L., AUGUSTI, D.V., NETO, W.B., AMORIM, V.M., CATHARINO, R.R., EBERLIN, M.N., AUGUSTI, R. Elestrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of brazilian artisan cachaça aged in different woods casks. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 2094-2102, 2007.

SPEER & KÖLLING-SPEER . Non-volatile compounds – lipids. In: CLARKE, R.J., VITZTHUM, O.G. (Eds.) *Coffee: Recent developments*, 33-49, Oxford: Blackwell Science, 2001.

STROSHINE, R.L., *Physical properties of agricultural materials and food products*, ABE305 Class Notes, Purdue University, 1997.

SUMMA, C.A., De la CALLE, B., BROHEE, M., STADLER, R.H. and ANKLAM, E. Impact of the roasting degree of coffee on the in vitro radical scavenging capacity and content of acrylamide, *LWT - Food Science and Technology*, 40, 1849-1854, 2007.

SVILAAS, A., SAKHI, A. K., ANDERSEN, L.F. SVILAAS, T., STROM, E.C., JACOBS, D.R. Intakes of antioxidants in coffee, wine, and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans. *Journal of Nutrition*, 134, 562-567, 2004.

TANIWAKI, M.H.; PITT, J.I.; URBANO, G.R., TEIXEIRA, A.A., LEITÃO, M.F.F. Influence of water activity on mould growth and ochratoxin A production in coffee. In: ASIC Coffee Conference Trieste, 19, Italy. p. 14-18, 2001.

TOCCI, A. T. e FARAH A. Volatile compounds as potencial defective beans' markers, *Food Chemistry*, 108, 1133-1141, 2008.

TRUGO, L.C. Carbohydrates. *Coffee volume 1 - Chemistry-*. (editores R.J.Clarke e R.Macrae), 83-114, Elsevier Applied Science, Londres, 1985.

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

TRUGO, L.C. e MACRAE, R. Application of high performance liquid chromatography to the analysis or some non-volatile coffee components, *Archivos Latinoamericanos de Nutrition* 39 (1), 96-107, 1989.

VASCONCELOS, A.L.S. Caracterização de grãos defeituosos de café quanto a aspectos físico-químicos e teores de amins, para diversos graus de torração. Faculdade de Farmácia – UFMG, 88p (Dissertação, Mestrado em Ciência de Alimentos), 2005.

VASCONCELOS, A.L.S., FRANCA, A.S., GLÓRIA, M.B.A., MENDONÇA, J.C.F. A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. *Food chemistry*, 101, 1, 26-32, 2007.

VEGA-CARRILLO, H.R., ISKANDER, F.Y. and MANZANARES-ACUÑA, E. Elemental content in ground and soluble/instant coffee, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 252,75-80, 2002.

VIANI. R. *Ulmann' s Encyclopedia of Industrial Chemistry*. V.A7, 315-39, 1986.

VILELA, E. R. e PEREIRA, R.G.F.A. Armazenamento e processamento de produtos agrícolas: pós-colheita e qualidade do café. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 27, Poços de Caldas, Anais, 219-274, 1998.

VINCENT, J.C. Green coffee processing. In: CLARKE, R.J.; MACRAE, R. (eds.). *Coffee technology*. London: Elsevier Applied Science, v. 2, p. 1-33, 1987.

WILSON, A.J., PETRACCO, M. E ILLY, E. Some preliminary investigations of oil biosynthesis in the coffee fruit and its subsequent re-distribution within green and roasted beans. *Proceedings of the 17th ASIC Colloquium*, 92-9, ASIC, Paris, França, 1997.

WOODROOF, J.G. E PHILLIPS, G.F. *Beverages: Carbonated and noncarbonated*, Avi Pub. Company, Westport, Connecticut, 383-390, 1974.

YANAGIMOTO, K., OCHI, H., LEE, K.-G. SHIBAMOTO, T. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 592-596, 2004.

ZHU, X., CHEN, B., MA, M., LUO, X., ZHANG, F., YAO, S., WAN, Z., YANG, D. and HANG, H. Simultaneous analysis of theanine, chlorogenic acid, purine alkaloids and catechins in tea samples with the help of multi-dimension information of on-line high performance liquid chromatography/electrospray-mass spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34, 695-704, 2004.

9. APÊNDICES

A – A Comparative evaluation of methodologies for water content determination in green coffee.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)