



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

**Compostos Bioativos e Atividade Sequestrante de
Radicais Livres de quatro cultivares do *Coffea arabica*
L. em diferentes estádios de maturação dos frutos.**

Aluna: Mariana de Campos da Costa

Orientadora: Profa. Dra. Célia Maria de Sylos

Araraquara - SP

2015

Mariana de Campos da Costa

**Compostos Bioativos e Atividade Sequestrante de
Radicais Livres de quatro cultivares do *Coffea arabica*
L. em diferentes estádios de maturação dos frutos.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” para obtenção do título de
Mestre em Ciências dos Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Célia Maria de
Sylos

Araraquara, SP

2015

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

- C837c** Costa, Mariana de Campos da
Compostos bioativos e atividade sequestrante de radicais livres de quatro cultivares do *Coffea arabica* L. em diferentes estádios de maturação dos frutos / Mariana de Campos da Costa. – Araraquara, 2015
90 f.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição
- Orientador: Célia Maria de Sylos
1. Café. 2. Fenólicos totais. 3. Flavonóides totais. 4. Atividade antioxidante. 5. *Coffea arabica*. 6. Estádios de maturação. 7. Ácido clorogênico. I. Sylos, Célia Maria de, orient. II. Título.

CAPES: 50700006

Dedico esse trabalho aos meus pais, Paulo Inácio da Costa, Raquel Borges de Campos, aos meus irmãos, Ana Carolina, Gabriel e João Paulo e esposo Tiago Del Grande que com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida, e não somente nestes anos como pós-graduanda, mas que em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer. A minha orientadora Célia Maria de Sylos, pela orientação, apoio e confiança. Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Agradeço a minha mãe Raquel Borges de Campos, heroína que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Ao meu pai Paulo Inácio da Costa que sempre me auxiliou e me incentivou aos estudos e apesar de todas as dificuldades me fortaleceu e que para mim foi muito importante. Agradeço ao meu esposo Tiago Del Grande que sempre esteve presente em todos os momentos me incentivando e apoiando. Obrigada aos meus irmãos Ana Carolina, Gabriel e João Paulo, que são muito importantes para mim. As minhas amigas Flávia Marcussi e Lara Tschopoko Pedroso Pereira que sempre estiveram por perto me auxiliando nas dificuldades e me fazendo companhia durante todo o trabalho. Agradeço ao Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – PADC, pelo auxílio financeiro e a CAPES pela bolsa. A D. Maria Helena (Fazenda Monte Alto) pelas amostras, a professora Daniela Cardoso Umbelino Cavallini pelo uso do HPLC e a banca pelas correções. E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

RESUMO

Entre as bebidas mais consumidas no Brasil destaca-se o café, um grão pertencente à família Rubiaceae, gênero *Coffea*. O Brasil produziu em 2014, 45,3 milhões de sacas de café. As exportações brasileiras chegaram a aproximadamente 33,36 milhões de sacas, com o faturamento de US 5,98 bilhões. Vários fatores podem influenciar na qualidade da bebida, como a variedade, condições de cultivo, maturação dos frutos, fatores pré e pós-colheita, secagem, torração dos grãos entre outras. Além disso, o café apresenta na sua composição compostos bioativos como ácidos fenólicos, cafeína e trigonelina, que podem auxiliar na prevenção de algumas doenças. O objetivo deste estudo foi quantificar os teores de fenólicos e flavonóides totais, a atividade antioxidante, cafeína e composição de ácidos fenólicos de quatro cultivares de *Coffea arabica* (Acaiá, Obatã, Catuaí Amarelo, Catuaí Vermelho) durante os estádios de maturação dos frutos (verde, verde-cana, cereja e passa) e do cereja descascado. A atividade antioxidante foi medida pelo método de redução dos radicais DPPH e ABTS; os fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu; e os flavonóides totais pela reação colorimétrica com cloreto de alumínio. Os ácidos fenólicos (ácido clorogênico, ácido ferúlico e trigonelina) foram separados e quantificados por HPLC com detector por arranjo de diodos e em coluna de C₁₈. Os cultivares Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais. Os cultivares Acaiá e Obatã apresentaram maior teor de cafeína. Em relação ao ácido clorogênico, maiores concentrações foram observadas nos cultivares Acaiá e Catuaí Vermelho e maior teor de ácido ferúlico no cultivar Catuaí Amarelo. Maior atividade antioxidante foi encontrada no cultivar Acaiá e menor, no Obatã. Com a maturação dos frutos há uma diminuição na concentração de cafeína. Maior atividade antioxidante dos frutos de café se deve ao conteúdo de ácido clorogênico.

Palavras-chave: café, fenólicos totais, flavonóides totais, atividade antioxidante, *Coffea arabica*, estádios de maturação, ácido clorogênico.

ABSTRACT

Among the most consumed bebidas in Brazil stands out for coffee, a grain belonging to the Rubiaceae family, genus *Coffea*. Brazil produced in 2014, 45,3milhões bags of coffee. Brazilian exports reached approximately 33.36 million bags, with the US 5.98 billion revenue. Several factors may influence the quality of the beverage, as the variety, growing conditions, ripening of fruits, factors pre and post-harvest, drying, roasting of the beans among others, also the coffee has in its bioactive composition as phenolic acids, caffeine and trigonelline, which may help prevent some diseases. The objective of this study was to quantify the phenolic content and total flavonoids, antioxidant activity, caffeine and phenolic acids composition of four cultivars of *Coffea arabica* (Acaiá, Obatã, Catuaí Yellow Catuaí Red) during fruit maturation stages (green, green-cane, cherry and passes) and pulped. Antioxidant activity was measured by the reduction method of DPPH and ABTS radicals; total phenolics by the Folin-Ciocalteu method; and the total flavonoids by colorimetric reaction with aluminum chloride. Phenolic acids (chlorogenic acid, trigonelline and ferulic acid) were separated and quantified by HPLC with diode array detector and a C₁₈ column. The cultivars Catuaí Yellow and Catuaí Red showed the highest levels of total phenolic compounds and total flavonoids. The Acaiá and Obatã cultivars had higher caffeine content. Regarding the chlorogenic acid, higher concentrations were observed in Acaiá and Catuaí Red cultivars and most ácido ferulic content in Catuaí Yellow. Higher antioxidant activity was found in Acaiá and lower in Obatã. With the ripening of fruits there is a decrease in caffeine concentration. Highest antioxidant activity of coffee fruit is due to the content of chlorogenic acid.

Keywords: coffee, total phenolics, total flavonoids, antioxidant activity, *Coffea arabica*, maturity stages, chlorogenic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do fruto do cafeeiro Fonte: Borém et al. (2008).....	7
---	---

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Teor de água dos frutos de quatro cultivares do <i>Coffea arabica</i> L. durante os estádios de maturação... ..	37
Tabela 2. Determinação do teor de água das amostras de café cereja descascado de quatro cultivares do <i>Coffea arabica</i> L.....	38
Tabela 3. Medida de cor de quatro cultivares do <i>Coffea arabica</i> L. durante os estádios de maturação.....	40
Tabela 4. Teor de compostos bioativos dos principais estádios de maturação de cultivares do <i>Coffea arabica</i> L.....	42
Tabela 5. Determinação de compostos bioativos ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ b.s) do café cereja descascado de quatro cultivares do <i>Coffea arabica</i> L.....	43
Tabela 6. Capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS de quatro cultivares do café arábica em seus principais estádios de maturação.....	49
Tabela 7. Atividade antioxidante do café cereja descascado de quatro cultivares do <i>Coffea arabica</i>	50
Tabela 8. Conteúdo de compostos bioativos e atividade sequestrante do radical DPPH e ABTS de frutos de quatro cultivares do <i>Coffea arabica</i> em seus principais estádios de maturação.....	68
Tabela 9. Médias do teor de compostos bioativos e atividade sequestrante do radical DPPH e ABTS do café cereja descascado de cultivares do <i>Coffea</i>	

arabica.....70

Tabela 10. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre compostos bioativos e atividade antioxidante de cultivares do *Coffea arabica* durante a maturação dos frutos e cereja descascado.....71

SUMÁRIO

Introdução.....	1
Objetivos.....	2
Objetivo Geral.....	2
Objetivos Específicos.....	2

Capítulo 1 – Revisão da Literatura

Café.....	5
Classificação Botânica do cafeeiro.....	6
Estádios de Maturação dos frutos do cafeeiro.....	6
Qualidade do café.....	7
Colheita e processamento.....	8
Composição química e benefícios do café.....	10
Compostos Bioativos.....	11
Ácido clorogênico.....	11
Flavonóides.....	12
Cafeína.....	13
Trigonelina.....	14

Capacidade Antioxidante.....	14
Referências.....	15

Capítulo 2

<i>Efeitos da maturação dos frutos de cultivares do Coffea arabica no conteúdo de compostos bioativos e capacidade antioxidante.....</i>	28
Resumo.....	29
Introdução.....	29
Material e Métodos.....	31
Resultados e Discussão.....	36
Conclusão.....	50
Referências.....	51

Capítulo 3

<i>Atividade antioxidante e conteúdo de trigonelina, cafeína, ácido clorogênico e ácido ferúlico em frutos do Coffea arábica em diferentes estádios de maturação.....</i>	59
Resumo.....	60
Introdução.....	60
Material e Métodos.....	62
Resultados e Discussão.....	65

Conclusão.....	72
Referências.....	73

1. Introdução

Nos últimos anos, um aumento no uso de compostos com capacidade antioxidante tanto em cosméticos, medicamentos e principalmente em alimentos e produtos naturais, tem sido associado a benefícios à saúde humana. Isto se deve aos estudos que demonstram que o aumento do consumo de frutas e vegetais têm elevado os benefícios à saúde por apresentar compostos polifenólicos com atividade antioxidante, que interagem com radicais livres, prevenindo a ativação do oxigênio. Esses compostos auxiliam na prevenção de doenças crônico-degenerativas, incluindo as cardiovasculares e certos tipos de câncer (ALVES et al., 2009; RUHL e EVERHART, 2005; SALAZAR-MARTINEZ et al., 2004).

Os compostos bioativos como antioxidantes naturais, combatem ou previnem a ação de espécies reativas, radicais livres e o estresse oxidativo que conduzem a diversas formas de dano celular, como a peroxidação de lipídeos de membrana, agressão às proteínas dos tecidos e membranas, às enzimas e DNA, desencadeando inúmeras doenças (MARTINS et al., 2011; HUSAIN et al., 1987).

No Brasil, uma maior atenção tem se voltado ao estudo de frutas com alto teor de antioxidantes, onde se destacam a acerola, o caju, a laranja, o limão, a uva, entre outras (DUZZIONI et al., 2010; SOARES et al., 2008; BROINIZI et al., 2007; DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Neste sentido, o café, um alimento de maior consumo e de grande importância econômica, vem sendo estudado, atualmente, por apresentar inúmeros benefícios à saúde, devido à presença de elevado teor de compostos bioativos (CAMMERER e KROH, 2006; DUARTE et al., 2005).

Muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas no sentido de se estabelecer a melhor composição de grãos do café, tanto para alcançar os melhores paladares quanto a busca por variações na concentração de compostos bioativos, principalmente entre os

diferentes estádios de maturação dos frutos e diferentes cultivares. Com o propósito de contribuir com esses estudos, procuramos desenvolver um projeto visando avaliar natureza dos compostos bioativos produzidos durante o estadiamento de maturação do fruto do café, como também avaliar a composição do grão cereja descascado comparando-a entre quatro cultivares do *Coffea arabica* L.: Obatã, Acaiá, Catuaí Amarelo e Vermelho. Estas análises tornam-se importantes para melhorar a qualidade das formulações e aplicações farmacêuticas dos compostos antioxidantes provenientes do café, como por exemplo, os fitocosméticos, fitoterápicos e nutracêuticos. Também, por apresentar muitos compostos polifenólicos, poderemos por meio deste estudo, propor novas estratégias na obtenção destes compostos e, com isso, oferecer condições para melhorar a qualidade de subprodutos do grão do café *in natura* e sua aplicação na indústria de alimentos.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi verificar o conteúdo de compostos bioativos e atividade sequestrante de radicais livres durante os principais estádios de maturação dos frutos (verde, verde-cana, cereja e passa/seco), e também avaliar a composição do grão cereja descascado de quatro cultivares (Acaiá, Catuaí Amarelo, Catuaí Vermelho e Obatã) do *Coffea arabica* L.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar o teor de Compostos Fenólicos Totais e de Flavonóides Totais, nas diferentes fases de maturação dos frutos e cereja descascado;

- Determinar a atividade sequestrante de radicais livres dos frutos do cafeeiro e cereja descascado pelo método ABTS e DPPH;
- Determinar os parâmetros colorimétricos (L^* , a^* e b^*) dos frutos;
- Quantificar o conteúdo de trigonelina, cafeína, ácido clorogênico e ácido ferúlico por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) em amostras de frutos do cafeeiro e cereja descascado.

Capítulo I

Revisão da Literatura

3. Café

O cafeeiro foi introduzido no Brasil em 1727. As primeiras mudas foram plantadas no Pará, entretanto não foi essa região que o cultivo e a importância econômica se desenvolveram. Com o aumento do interesse pelo café, em 1781 passou a ser cultivado no Rio de Janeiro, o que contribuiu para o progresso econômico do Brasil. As lavouras espalharam-se para São Paulo, Espírito Santo, Paraná e Minas Gerais. A exportação do café brasileiro começou a crescer a partir de 1816 e em 1840 o país tornou-se o maior produtor mundial (ZUANAZZI e MAYORGA, 2010; ABIC, 2014).

Os principais produtores mundiais seguidos do Brasil se destacam o Vietnã, Indonésia, Colômbia e Etiópia. Atualmente o café é a segunda maior “commodity” do mundo, perdendo apenas para o petróleo, movimentando anualmente 91 bilhões de dólares. Emprega direta ou indiretamente meio bilhão de pessoas ao redor do globo, o que representa 8% da população mundial (ABIC, 2014; CONAB, 2013).

Em 2014 o Brasil produziu 45,3 milhões de sacas de 60 kg de café beneficiado, sendo 32,31 milhões da espécie *C. arabica* e 13,03 milhões da espécie *C. canephora*. As exportações brasileiras chegaram a aproximadamente 33,36 milhões de sacas, com o faturamento de US 5,98 bilhões. A primeira estimativa para produção de café em 2015 indica que o país deverá colher entre 44,11 e 46,61 milhões de sacas de 60 kg, com uma redução de 2,7% a um crescimento de 2,8% da safra de 2014 com 73,7% da produção total de café arábica, representando 32,5 e 34,4 milhões de sacas (MAPA, 2015; CONAB, 2015; CONAB, 2014).

3.1 Classificação botânica do cafeeiro

O cafeeiro pertence à família Rubiaceae, gênero *Coffea*, com mais de 90 espécies descritas. Cerca de 25 são exploradas comercialmente, sendo que 4 apresentam grande importância no mercado mundial como, o *Coffea arabica* L. (café arábica), o *Coffea canephora* (café robusta), *Coffea liberica* (café libérica) e *Coffea dewevrei* (café excelsa) (OLIVEIRA et al., 2012; SOUZA et al., 2004).

O café arábica é cultivado geralmente em regiões com altitude entre 400 e 1000 m. É o café mais valorizado economicamente por seu aroma e sabor característico com variações de corpo e acidez. Originário das regiões montanhosas da Etiópia, na África, é a principal espécie cultivada no Brasil e no mundo.

As cultivares Mundo Novo e Catuaí (*Coffea arabica*) são atualmente as mais cultivadas no Brasil. O Mundo Novo foi originado em 1940, no município paulista de Urupês. Essa variedade foi resultante do cruzamento natural entre as cultivares “Sumatra” e “Bourbon Vermelho”. O Catuaí, que significa “muito bom”, tem dois grupos: o Catuaí Vermelho e o Catuaí Amarelo, ambas desenvolvidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Essa cultivar é resultante do cruzamento artificial de “Caturra Amarelo”, de porte baixo com Mundo Novo, de porte alto. A maturação coincide com a época chuvosa, sendo, porém mais tardia que a cultivar “Mundo Novo”. Muitas outras cultivares foram surgindo ao longo dos anos (BRASIL, 2005; SOUZA et al., 2004; EMBRAPA, 2004).

3.2 Estádios de Maturação dos frutos do cafeeiro

No cafeeiro, o desenvolvimento reprodutivo começa com a iniciação floral e termina com a queda dos frutos. O tempo necessário para a maturação dos frutos depende das condições climáticas e da constituição genética do cafeeiro. A espécie

Coffea arabica requer de 6-8 meses para amadurecer com desenvolvimento de vários frutos em proporções e tamanhos diferentes em uma mesma planta (DE CASTRO e MARRACCINI, 2006; PEZZOPANE et al., 2003).

Durante as fases de maturação ocorrem alterações de cor, de verde (sem alterações de cor), verde-cana (início da maturação), vermelho ou amarelo (cereja e maduros) a vermelho-escuro (passa/seco e início de desidratação), com diversos processos metabólicos e composições químicas, permitindo com que os frutos alcancem o ponto ideal de colheita (MORAIS et al., 2008; CAMARGO e CAMARGO, 2001).

O fruto do café é composto por exocarpo (casca), mesocarpo (polpa ou mucilagem), endocarpo (pergaminho), película prateada (película que reveste a semente) e endosperma (sementes ou grãos). O pergaminho é uma estrutura fibrosa que envolve a semente ou o grão. Em cada fruto há a presença de duas sementes ou grãos (Figura 1). (EIRA et al., 2006; PEZZOPANE et al., 2003).

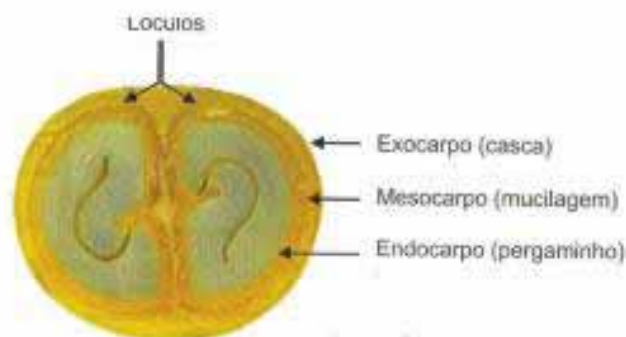


Figura1. Estrutura do fruto do café. Fonte: Borém et al. (2008).

3.3 Qualidade do café.

A qualidade da bebida pode ser influenciada por fatores advindos da pré-colheita, as espécies e cultivares, clima e altitude, maturação dos frutos, incidência de micro-organismos e efeito de adubações. Enquanto que os fatores da pós-colheita que

podem afetar a qualidade da bebida, são os estádios de maturação, as fermentações enzimáticas e microbianas, a secagem inadequada, armazenamento do café beneficiado, mistura ("blend") e a torração do café (FARAH et al., 2006; LEROY et al., 2006; MARTINS, 2003).

A colheita é recomendada quando há no máximo 20% de grãos verdes, pois causam prejuízo na qualidade da bebida e no valor do produto, caso contrário, há uma redução da qualidade, pois a colheita tardia pode dar origem aos grãos ardidos e pretos, proporcionando a ação de micro-organismos sobre os grãos (BORÉM, 2008; MATIELLO et al., 2005).

As melhores qualidades de bebida de café são obtidas quando se processa o café cereja, por ser este estágio considerado a fase ideal de maturação dos frutos, em que a casca, polpa e semente encontram-se com a composição química equilibrada para proporcionar ao fruto sua máxima qualidade. Os frutos colhidos secos estão além do ponto ideal de maturação, ou seja, entrando em fase de senescência, responsável pela baixa qualidade da bebida (LEROY et al., 2006; MARTINS, 2003).

A cor dos grãos de café tem grande importância econômica e interfere decisivamente no processo de comercialização do produto, podendo ser aceito ou não pelo comprador, uma vez que a variação da cor pode ser um indicativo de problemas ocorridos durante o processo de preparo, secagem, condições de armazenagem, envelhecimento dos grãos, nutrição mineral da planta, temperatura, influência da luz, entre outros (RIGUEIRA, 2005).

3.4 Colheita e processamento

Os estádios de maturação apresentam teores variáveis de água (25 – 70%) e qualidade distintas. A colheita seletiva visa reduzir essa diferença, uma vez que os grãos

verdes, cerejas e bóias necessitam de tempos de secagem diferentes (BORÉM, 2008; MATIELLO et al., 2005).

A colheita do café pode ser de forma manual, semi-mecanizada ou mecanizada que compreende na utilização de máquinas colhedeiras. Após a colheita, ocorre a separação dos frutos por meio de vibração ou por imersão em água (NUNES et al., 2005).

O preparo do café pode ocorrer por via seca ou úmida. Na via seca os frutos são secos inteiros em terreiros ou em secadores mecânicos, obtendo-se o café natural conhecido também como café em coco. Os frutos são separados das impurezas e também por estágio de maturação em lavadores-separadores (NUNES et al., 2005).

O preparo do café pode ocorrer também por via úmida, onde a casca do fruto é removida mecanicamente. O café é encaminhado ao lavador-separador, e os frutos mais leves (bóia), constituída de frutos secos, são separados seguindo direto para o terreiro. Os frutos pesados (verde e maduros) seguem para o descascador-separador, ocorrendo à separação mecânica dos frutos verdes, que por possuírem casca mais resistente são encaminhados para fora do descascador. Enquanto que o cereja e passa, a casca se rompe e passam em uma peneira e seguem para o descascador, ocorrendo à separação da casca (GIOMO, 2012).

Café descascado: Consiste na remoção da casca do fruto e os grãos são submetidos à secagem com a mucilagem aderida ao pergaminho.

Café Desmucilado: O café com mucilagem pode constituir-se em um excelente substrato para o crescimento microbiano. Esse procedimento corresponde à etapa em que a mucilagem, após o descascamento é removida por atrito.

Café Despolpado: A mucilagem é removida por ação microbiana. O café permanece em tanques por 16 a 36 horas para que ocorra a fermentação e degradação da mucilagem (SILVA et al., 2013; GIOMO, 2012).

3.5 Composição química e benefícios do café

O café cru é composto por sais minerais, carboidratos, lipídeos, aminoácidos, alcalóides e polifenóis, responsáveis por diversos benefícios a saúde (ALVES et al., 2009).

Estudos demonstram que o café pode prevenir a depressão, tabagismo, alcoolismo, diabetes tipo II e infarto do miocárdio (JITPUKDEEBODINTRA e JANGWANG, 2009; LIEBERMAN et al., 2002). O café apresenta um papel neuroprotetor em relação ao desenvolvimento de Alzheimer. Existem evidências de que o consumo moderado de café também pode prevenir a doença de Parkinson, causada por uma degeneração severa dos neurônios dopaminérgicos do cérebro, levando à incapacidade do controle voluntário dos movimentos e consequentemente tremor, rigidez e instabilidade postural (WIRDEFELDT et al., 2011; ROSS et al., 2000).

Outros compostos do café como os ácidos clorogênicos tem sido muito estudado devido a sua ação antioxidante, que apresenta um papel essencial na proteção contra a doença de Alzheimer (ARENDASH e CAO, 2010; LINDSAY et al., 2002). O café é um dos únicos produtos que, mediante ao processo de torrefação, produz uma vitamina importante para o metabolismo humano, a niacina (vitamina B3). Durante a torrefação a trigonelina sofre desmetilação, sendo convertida em ácido nicotínico (niacina- vitamina do complexo B) em quantidades que podem chegar próximo a 20mg. 100g⁻¹ de café torrado (SANTOS e LIMA, 2007; MARIA et al., 2005; DE MARIA et al., 1999; MAZZAFERA, 1991).

3.5.1 Compostos Bioativos

Estudos mostram que o aumento do consumo de frutas e vegetais elevam os benefícios à saúde por apresentarem compostos polifenólicos com atividade antioxidante, os quais interagem com os radicais livres, prevenindo a ativação do oxigênio e geração de espécies reativas. Esses compostos auxiliam na prevenção de algumas doenças crônico-degenerativas, incluindo as doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer. (FRAGA et al., 2010; ALVES et al., 2009, RUHL e EVERHART, 2005, SALAZAR-MARTINEZ et al., 2004).

Os ácidos fenólicos constituem uma das principais classes de metabólitos secundários com uma grande variedade de funções e estruturas e apresentam apenas um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos (FARAH e DONANGELO, 2006). Dentre os compostos identificados destacam-se, os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis. (ANGELO e JORGE, 2007; ZERN e FERNANDEZ, 2005).

Detectados no café, alguns ácidos orgânicos como o ácido acético, fórmico, ferúlico, quínico, pirúvico, succínico, málico, cítrico, tartárico e láctico, são resultantes do metabolismo celular e contribuem para a qualidade do café, que por sua vez pode ser prejudicada pelo tipo de tecnologia empregada no campo ou mau armazenamento (RODRIGUEZ et al., 2007; JHAM et al., 2002).

3.5.2 Ácidos clorogênicos

Os ácidos clorogênicos (ACG) têm chamado à atenção devido à atividade anticarcinogênica, comprovada para alguns tipos de câncer e também na prevenção de doenças cardiovasculares por sua ação atividade antioxidante (MATTILA e KUMPULAINEN, 2002; CASTILLO et al., 2002).

O ácido 5-cafeolquínico é o mais comum dos ACG e um importante grupo dos compostos fenólicos biologicamente ativos da dieta (JOHNSTON et al., 2003). Pode ser encontrado em alguns vegetais (maçãs, peras, morangos, alcachofra e berinjelas). O café é uma das principais fontes de ACG na dieta humana e uma xícara da bebida (200 mL) pode conter cerca de 20-675 mg dependendo da espécie e processamento. O grão de café verde pode conter cerca de 6-10% de ACG com base na matéria seca (MARIA e MOREIRA, 2004).

Durante a torrefação há uma destruição e transformação progressiva do ACG com cerca de 8-10% de perda comparada a 1% de perda do extrato seco, gerando uma série de compostos voláteis importantes para o “flavor” da bebida. No processo de torrefação os ACG apresentam atividade antioxidante e produzem derivados com diferentes atividades biológicas (NOGUEIRA e TRUGO, 2003; CLIFFORD, 1999).

3.5.3 Flavonóides

Os flavonoides são os pigmentos responsáveis pela coloração amarelo, laranja e vermelho de muitos alimentos e pertencem a um vasto grupo de compostos polifenólicos. (MIDDLETON et al., 2000). Esses pigmentos têm sido estudados durante muitos anos pelos cientistas, devido a sua importância na pigmentação e no sabor dos vegetais e principalmente nas propriedades antioxidantes observadas *in vitro* (ROSS e KASUM, 2002). Além disso, alguns compostos fenólicos como os flavonoides também tem sido utilizados como antibióticos e antiúlcera, anti-inflamatórios, e em tratamentos como a hipertensão, alergias, hipercolesterolemia, entre outros (DAM et al., 2013; BRAVO, 1998).

Os flavonoides assim como outros compostos do café variam segundo as condições de processamento. Os flavonoides têm a função de pigmentação e originam

sabores e aromas no café. Estudos demonstram que o café (*C. canephora*) apresenta elevados teores de compostos fenólicos como os taninos, catequinas e proanticianidinas (HECIMOVIC et al, 2011).

A cianidina é a antocianina mais encontrada nos alimentos, e contribui para a coloração vermelha de alguns vegetais. Na polpa e na casca do café foram identificados teores expressivos de cianidina 3-rutinosídeo seguido por uma pequena quantidade de cianidina 3-glicosídeo (MURTHY et al., 2012; PRATA e OLIVEIRA, 2007; KONG et al., 2003). Um aumento pelo interesse desse pigmento se deve aos seus benefícios à saúde como agente antioxidante, anticarcinogênico, anti-inflamatório, e ação anti-hipoglicemiante (STINTZING e CARLE, 2004).

3.5.4 Cafeína

A cafeína é uma xantina (pseudoalcalóide) pertencente a compostos de ocorrência natural chamada xantina, identificado como 1,3,7 trimetilxantina, cuja estrutura contém nitrogênio.

A cafeína é substância psicoativa mais consumida no mundo. Essa xantina é encontrada em fontes alimentares, tais como o chá verde e mate, bebidas a base de cola, chocolate e principalmente em grãos de café. (MARIA e MOREIRA, 2007; BRENELLI, 2003).

Os efeitos notáveis de seu consumo podem ocorrer logo após a ingestão de doses baixas a moderadas (50-300 mg) da bebida, auxiliando na capacidade de concentração e atenção. Em doses diárias e elevadas de cafeína especialmente em indivíduos sensíveis, pode provocar efeitos negativos, tais como a dependência, ansiedade, agitação, insônia e taquicardia (NEHLIG, 1999). Por outro lado, a retirada da cafeína por indivíduos

dependentes, pode causar fadiga, dor de cabeça, sonolência, ansiedade e sintomas depressivos de um a dois dias após cessar o consumo (DEWS et al., 2002).

A cafeína antagoniza os efeitos da adenosina, que se encontra distribuída por todo o cérebro com níveis elevados no hipocampo, cerebelo, córtex cerebral e tálamo, agindo na redução do sono com uma melhora do fluxo sanguíneo (LARA, 2010).

3.5.5 Trigonelina

A trigonelina é uma base nitrogenada (N-metil betaína) fortemente polar encontrada em alguns frutos e sementes, contribui para o sabor e aroma do café através do processo de torrefação com a formação de produtos de sua degradação como as piridinas e o N-metilpirrol. Além disso, durante a torrefação a trigonelina sofre desmetilação, sendo convertida em ácido nicotínico (niacina- vitamina do complexo B) em quantidades que podem chegar próximo a 20mg 100g⁻¹ de café torrado (DE MARIA et al., 1999; MAZZAFERA, 1991).

A trigonelina tem recebido maior atenção, tanto do ponto de vista sensorial quanto nutricional, devido a sua ação sobre o sistema nervoso central, sobre a secreção da bile e motilidade intestinal (ABRAHÃO et al., 2008).

3.5.6 Atividade antioxidante

Produzidos como metabólitos secundários de plantas, os antioxidantes naturais possuem uma ampla aplicação nos setores farmacêutico, cosmético e nutricional, além de serem utilizados atualmente como aditivos naturais em alimentos que tem ganhado uma importância crescente na indústria de alimentos, pois os antioxidantes sintéticos como BHA (butil-hidroxianisol), o BHT (butil-hidroxitolueno) e o TBHQ (terc-

butilhidroquinona) tem despertado preocupações quanto as suas doses de segurança e toxicidade (BALASUNDRAM et al., 2006).

A atividade antioxidante de alguns alimentos está atribuída ao seu conteúdo de compostos fenólicos que podem atuar como sequestrantes de radicais livres no organismo reduzindo ou prevenindo algumas doenças crônico-degenerativas (GUERRA e LAJOLO, 2005).

Segundo pesquisas que analisam a atividade antioxidante em frutas, os métodos mais utilizados são o DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), e ABTS (3-etilbenzoatiazolina-6-ácido sulfônico) devido a sua relativa simplicidade (WU et al., 2006). O DPPH é um radical de hidrogênio de cor violeta, a redução desse radical, visa avaliar a habilidade que uma substância tem de sequestrar o radical livre estável DPPH, sendo os resultados da atividade sequestrante obtidos através da redução da absorbância a 515 nm (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

O ABTS mede a atividade antioxidante através da captura do radical 2,2-azinobis, pela inibição do cátion ABTS na presença de antioxidantes no meio (KUSKOSKI et al., 2006). O radical ABTS é gerado diretamente por uma reação de persulfato de potássio, formando um cromóforo verde azulado. (FREITAS et al., 2006). A mistura do antioxidante com o radical faz com que ocorra a redução do $ABTS^{*+}$ a um comprimento de onda de 734 nm a ABTS com a perda da coloração gerada na reação (HUANG et al., 2005).

4. Referências

ABIC – Associação Brasileira da Indústria de Café. Produção mundial. História. <<http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=38>>, 2014 (Acesso em 29 de set.).

ABIC – Associação Brasileira da Indústria de Café. Produção mundial. Principais países produtores. <<http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=48>>, 2014 (Acesso em 29 de set.).

ABIC – Associação Brasileira da Indústria de Café. Indicadores da Indústria de café no Brasil.<<http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?inford=3252&sid=61&tpl=printerview#consf2013.2>>, 2014 (Acesso em 15 de out.).

ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p. 1799-1804, 2008.

ALVES, R. C.; CASAL, S.; OLIVEIRA, B. Benefícios do café na saúde: mito ou realidade. **Quim. Nova**, v. 32, n. 8, p. 2169-2180, 2009.

ANGELO, P., M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ARENDASH, G., W.; CAO, C. Caffeine and Coffee as Therapeutics Against Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 20, p. 117–126, 2010.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BORÉM, F. M. Pós colheita do café. Lavras: UFLA, 2008.

BORÉM, F. M.; SALVA, T. de J. G.; SILVA, E. A. A. Anatomia e composição química do fruto e da semente do cafeeiro: In: BOREM, F. M., Pós-colheita do Café. Lavras: Ed. UFLA, p.21-35, 2008.

BRASIL. Ministério da Educação. Café, 2005.
<http://portal.mec.gov.br/setec/arquivos/pdf/publica_setec_cafe.pdf>, 2015 (Acesso em 14 de fev.)

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M., E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss Technol.**, v. 22, p. 25-30, 1995.

BRAVO, L. Ph. D. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 11, p.317–333, 1998.

BRENELLI, E.C.S. A extração de cafeína em bebidas estimulantes – uma nova abordagem para um experimento clássico em química orgânica. **Quim. Nova**, v. 26, n. 1, p.136-138, 2003.

BROINIZI, P., R., B. et al. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 902-908, 2007.

CAMMERER, B.; KROH, L., W. Antioxidant activity of coffee brews. **Eur Food Res Technol**, v. 223, p. 469–474, 2006.

CAMARGO, A.P.; CAMARGO, M.B.P. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. **Bragantia**, Campinas, v.60, n.1, p.65-68, 2001.

CASTILLO, M., D., D.; AMES, J., M.; GORDON, M., H. Effect of Roasting on the Antioxidant Activity of Coffee Brews. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 3698-3703, 2002.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Café, safra 2007/2008, 19 p. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/Boletim.pdf>>, 2013 (Acesso em 18 jan.).

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Café, safra 2014. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_12_22_09_53_55_boletim_dezembro_2014.pdf>, 2015 (Acesso em 14 de fev.).

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 362-372, 1999.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Café, safra 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_01_14_11_57_33_boletim_cafe_janeiro_2015.pdf>, 2015 (Acesso em 14 de fev.).

DAM, R., M.; NAIDOO, N.; LANDBERG, R. Dietary flavonoids and the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases: review of recent findings. **Nutrition and metabolism**, 2013.

DE CASTRO, R.D.; MARRACCINI, P. Cytology, biochemistry and molecular changes during coffee fruit development. **Braz. J. Plant Physiol.**, v.18, n.1, p.175-199, 2006.

DEWS, P.B.; O'BRIEN, C.P.; BERGMAN, J. Caffeine: behavioral effects of withdrawal and related issues. **Food and Chemical Toxicology**, v.40, p.1257–1261, 2002.

DOBRINAS, S. et al. Optimisation of a UV-Vis spectrometric method for caffeine analysis in tea, coffee and other beverages. **St. Cerc. St. CICBIA**, v. 14, n. 2, 2013.

DUARTE, S., M., S. et al. Effect of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee brews. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 387-393, 2005.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

DUZZIONI et al. Determinação da atividade antioxidante e de constituintes bioativos em frutas cítricas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 21, n. 4, p. 643-649, 2010.

EIRA, M., T., S et al. Review: Coffee seed physiology. **Braz. J. Plant Physiol**, v.18, n.1, p. 149 – 163, 2006.

EMBRAPA. Características das principais variedades de café cultivadas em Rondônia, 2004. < <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/54346/1/Doc93-cafe.pdf>>, 2015 (Acesso em 14 de fev.).

FARAH, A.; DONANGELO, C., M. Phenolic compounds in coffee. **Braz. J. Plant Physiol.**, v. 18, n. 1, p. 23-36, 2006. **Food Chemistry**, v.98, p. 373–380, 2006.

FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, v. 98, n. 2, p. 373-380, 2006.

FRAGA, C., G. et al. Review: Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. **Molecular Aspects of Medicine**, v.31, p. 435–445, 2010.

FREITAS, G., L. et al. Avaliação da atividade antioxidante de diferentes cervejas aplicando os métodos ABTS e DPPH. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.17, n.3, p.303-307, 2006.

GIOMO, S., G. Uma boa pós-colheita é segredo da qualidade. A Lavoura, 2012. <http://sna.agr.br/wp-content/uploads/alav688_cafe.pdf>, 2014 (Acesso em 01 de ago.) 2014.

GUERRA, N., B.; LAJOLO, F., M. Ação antioxidante de especiariasface diferentes atividades de água. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 45-50, 2005.

HECIMOVIC, I. et al. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. **Food Chemistry**, v. 129, p. 991–1000, 2011.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

HUSAIN, S., R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochemistry**, v. 26, n. 9, p. 2489-2491, 1987.

JHAM, G., N. et al. Comparison of GC and HPLC for the Quantification of Organic Acids in Coffee, **Phytochem. Anal.**, v. 13, p. 99–104, 2002.

JOHNSTON, K., L.; CLIFFORD, M., N.; MORGAN, L., M. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. **Am J Clin Nutr.**, v. 78, p. 728–33, 2003.

JITPUKDEEBODINTRA, S.; JANGWANG, A. Coffee for smoking cessation. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.7, p. 130-133, 2009.

KONG, J., M. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923–933, 2003.

KUSKOSKI, E. M. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LARA, D.R. Caffeine, Mental Health, and Psychiatric Disorders. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.20, p.239–248, 2010.

LEROY, T. et al. Genetics of coffee quality. **Braz. J. Plant Physiol.**, v.18, n.1, p. 229-242, 2006.

LIEBERMAN, H., R. et al. Effects of caffeine, sleep loss, and stress on cognitive performance and mood during U.S. Navy SEAL training. **Psychopharmacology**, v. 164, p. 250–261, 2002.

LINDSAY, J. et al. Risk Factors for Alzheimer's Disease: A Prospective Analysis from the Canadian Study of Health and Aging. **American Journal of Epidemiology**, v. 156, n. 5, 2002.

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

MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Quim. Nova**, v. 30, n. 1, p.99-105, 2007.

MAPA. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2014/12/producao-de-cafe-em-2014-foi-de-45-milhoes-de-sacas-de-60-quilos>>, 2015 (Acesso em 14 fev.).

MATIELLO, J. B. et al. Cultura de Café no Brasil: novo manual de recomendações. **Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFÉ**, 2005. 434p.

MATTILA, P.; KUMPULAINEN, J. Determination of Free and Total Phenolic Acids in Plant-Derived Foods by HPLC with Diode-Array Detection. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 3660-3667, 2002.

DE MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A.; TRUGO, L.C. Revisão: Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. **Quím. Nova**, v.22, n.2 São Paulo, 1999.

MARTINS, S. et al. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, p.365-373, 2011.

MARTINS, A., L. História do café. São Paulo: Contexto,2003.

MAZZAFERA, P. Trigonelline in coffee. **Phytochemistry**, v. 30, n. 7, p. 2309 -2310, 1991.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T., C. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. **Pharmacol Rev**, v. 52, p.673–751, 2000.

MORAIS, H. et al. Escala fenológica detalhada da fase reprodutiva de coffea arábica. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.1, p.257-260, 2008.

MURTHY, P., S. et al. Extraction, Characterization and Bioactivity of Coffee Anthocyanins, **European Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 1, p. 13-19, 2012.

NEHLIG, A. Are we dependent upon coffee and caffeine? A review on human and animal data. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.23, p.563–576, 1999.

NOGUEIRA, M.; TRUGO, L., C. Distribuição de isômeros de ácido clorogênico e teores de cafeína e trigonelina em cafés solúveis brasileiros, **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 296-299, 2003.

NUNES et al. Cultivo do Café Robusta em Rondônia: Colheita e pós-colheita. Embrapa, 2005.<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cafe/CultivodoCafeRobustaRO/colheita.htm>>, 2014 (Acesso em 01 de ago.).

OLIVEIRA, I.P.; OLIVEIRA, L.C.; MOURA, C.S.F.T. Cultura de café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 5, n. 4, Agosto 2012.

PEZZOPANE, J., R., M. et al. Escala para avaliação de estádios fenológicos do cafeeiro arábica. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.3, p.499-505, 2003.

PRATA, E., R., B., A.; OLIVEIRA, L., S. Fresh coffee husks as potential sources of anthocyanins, **Society of Food Science and Technology**, v. 40, p. 1555–1560, 2007.

RIGUEIRA, R., J. A. Avaliação da qualidade do café processado por via úmida, durante as operações de secagem e armazenagem. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola)-Universidade Federal de Viçosa, MG, 2005.

RODRIGUES, C. I. et al. Application of solid-phase extraction to brewed coffee caffeine and organic acid determination by UV/HPLC. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 5, p. 440-448, 2007.

ROSS, G., W. et al. Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson disease. **The Journal of the American Medical Association**, v. 283, n. 20, 2000.

ROSS, J., A.; KASUM, C., M. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety, **Annu. Rev. Nutr**, v. 22, p. 19–34, 2002.

RUFINO, M., S. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

RUHL, C., E.; EVERHART, J., E. Coffee and Tea Consumption Are Associated With a Lower Incidence of Chronic Liver Disease in the United States. **Gastroenterology**, v. 129, p. 1928–1936, 2005.

SALAZAR-MARTINEZ, E. et al. Coffee Consumption and Risk for Type 2 Diabetes Mellitus. **Annals of Internal Medicine**, v. 140, n. 1, p. 1-8, 2004.

SANTOS, R. M.; LIMA, D. R.; Coffee: The revolutionary drink for pleasure and health. **Xlibris Corporation**, USA, 2007.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p: 144-158, 1965.

SILVA et al. Comunicado Técnico: Produção de café cereja descascado – Equipamentos e custo de processamento. Brasília, **Embrapa**, 2013.

SOARES, M. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 059-064, 2008.

SOUZA, F., F. et al. Características das principais variedades de café cultivadas em Rondônia. **Embrapa**, 26 p., 2004.

STINTZING, F., C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v.15, p. 19–38, 2004.

WIRDEFELDT, K. et al. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. **Eur. J. Epidemiol**, p. 1-58, 2011.

WU, L., C. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95, p. 319–327, 2006.

ZERN, T., L.; FERNANDEZ, M., L. Cardioprotective Effects of Dietary Polyphenols. **American Society for Nutrition**, 2005.

ZUANAZZI, J. A.; MAYORGA, P. Fitoprodutos e desenvolvimento econômico. **Quim. Nova**, v. 33, n. 6, p. 1421-1428, 2010.

Capítulo II

Efeitos da maturação dos frutos de cultivares do Coffea arabica no conteúdo de compostos bioativos e capacidade antioxidante

Resumo

A cafeicultura é considerada uma cultura de grande expressão econômica para o Brasil. Os compostos bioativos identificados no café são reconhecidos por suas propriedades benéficas a saúde humana. O objetivo do trabalho foi avaliar diferentes estádios de maturação (verde, verde-cana, cereja e passa) e do café cereja descascado de quatro cultivares de frutos do *Coffea arabica* no conteúdo de compostos bioativos, capacidade antioxidante, medida de cor e umidade. O teor de fenólicos totais variaram de 2,44 – 3,46 g EAG.100g⁻¹ b.s e 3,72 – 5,24 g ACG.100g⁻¹ b.s, para flavonoides totais de 1,76 – 3,43 g epicatequina.100g⁻¹ b.s e cafeína de 0,65 – 1,25 g.100g⁻¹ b.s. A atividade antioxidante sequestrante de radicais DPPH foi superior para a variedade Acaiá e inferior para Obatã e maior atividade sequestrante do radical ABTS foi obtida para os cultivares Acaiá e Catuaí Amarelo seguido do Catuaí Vermelho e Obatã. Os resultados mostraram que o cultivar Catuaí Amarelo continha maior teor de compostos bioativos enquanto que o cultivar Obatã o menor. O cultivar Acaiá apresentou maior capacidade antioxidante.

Palavras-chave: compostos bioativos, capacidade antioxidante, cultivares do café arábica, estágio de maturação.

1. Introdução

A cafeicultura é considerada uma cultura de grande expressão econômica para o Brasil como produtor, exportador e consumidor (ICO, 2014; ABIC, 2015). Alguns estudos tem associado a qualidade da bebida a maturação do café. O café deve ser colhido em seu ponto ótimo de maturação (cereja), um dos fatores de pré-colheita de maior importância, pois a qualidade do café está diretamente relacionada aos constituintes físico-químicos que são responsáveis pelo sabor e aroma característicos da

bebida (FAGAN et al., 2011; PIMENTA, 1995; FREIRE e MIGUEL, 1985; GARUTTI e GOMES, 1961).

Os frutos apresentam compostos voláteis e não voláteis formados por aldeídos, cetonas, açúcares, compostos fenólicos, proteínas, ácidos graxos, entre outros (MOREIRA e TRUGO, 2000; SARRAZIN et al., 2000; TOCI e FARAH, 2008). O sabor amargo característico da cafeína contribui para o sabor e aroma da bebida (TRUGO e MACRAE, 1984). Os ácidos fenólicos são responsáveis pela pigmentação, aroma e adstringência da bebida (DE MARIA et al., 1995; TRUGO e MACRAE, 1984).

Estudos têm demonstrado a importância de dietas ricas em frutas e vegetais que comprovam a presença de substâncias antioxidantes pela ação de compostos bioativos que auxiliam no combate aos radicais livres. Os compostos bioativos identificados no café são reconhecidos por suas propriedades benéficas à saúde podendo reduzir o risco de incidência de diversas doenças crônicas como câncer, alterações do sistema nervoso central, diabetes, entre outras (ZHANG et al., 2009; SHEARER et al., 2007; RODRIGUEZ DE SOTILLO et al., 2002; VAN DAM et al., 2002; JOHNSTON et al., 2003).

Além da bebida, durante o processamento do café são gerados subprodutos provenientes da casca, polpa do fruto, grãos de baixa qualidade ou defeituosos e borra do café (ESQUIVEL e JIMÉNEZ, 2012). Torna-se importante a valorização desses subprodutos, uma vez que apresentam baixo custo e são ricos em compostos bioativos, proteínas, pectinas, entre outros (MURTHY e NAIDU, 2010; MUSSATO et al., 2011).

Dessa forma, objetivou-se investigar as relações entre os diferentes estádios de maturação dos frutos (verde, verde-cana, cereja, passa e café cereja descascado) de quatro cultivares do *Coffea arabica* no conteúdo de compostos bioativos, capacidade antioxidante, e medida dos parâmetros de cor.

2. Material e Métodos

2.1 Características das amostras

Os frutos dos cultivares *Acaiá*, *Obatã*, *Catuaí Amarelo* e *Catuaí Vermelho* (*Coffea arabica* L.) da safra de 2013/2014 foram adquiridos através dos produtores da Fazenda Monte Alto (Café Helena), localizado na região de Dourado/SP. Cerca de 500g dos frutos para cada estágio de maturação (verde, cereja, passa/seco e grão cereja descascado) entre os cultivares foram colhidos na época de colheita realizada pela fazenda. Os estágios de maturação dos frutos foram determinados segundo a escala fenológica por Pezzopane et al. (2003). As análises do teor de água, medida de cor, compostos bioativos e capacidade antioxidante, foram realizadas em triplicata.

Após a colheita 20g dos frutos de cada estágio e cultivar foram embalados em embalagens de polietileno, selados e armazenados a -80° C. Os frutos foram triturados com auxílio de nitrogênio líquido e posteriormente liofilizados (LABCONGO) e tamizados a 30 mesh.

Esse estudo utilizando amostras de frutos do cafeeiro e cereja submetido ao processo de descascamento foi realizado no Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas- UNESP de Araraquara.

2.2 Teor de água

. O teor de água dos frutos (3g) e amostras liofilizadas (1g) foi determinado em triplicata por secagem em balança de infravermelho (MA35, Sartorius) à 105°C.

2.3 Medida de cor

Os parâmetros de cor nos frutos foram realizados nos diferentes estádios de maturação verde, verde-cana, cereja e passa e as características obtidas através de um colorímetro triestímulo (Color Quest XE, Hunterlab), operando no sistema CIELab, em que L* (próximo de 0 = escuro; próximo de 100 = claro) corresponde à luminosidade e a* e b* são as coordenadas de cromaticidade (-a = verde e +a = vermelho; -b = azul e +b = amarelo). As amostras foram colocadas na abertura de passagem da luz com fundo branco. As leituras dos parâmetros L*, a* e b* foram realizadas em triplicata, sob iluminante D65 e ângulo de 10°.

2.4 Obtenção dos extratos das amostras de café

Nos ensaios de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante (DPPH e ABTS), utilizou-se a metodologia descrita por Hecimovic et al. (2011), com algumas modificações.

Para as análises de compostos fenólicos totais e flavonóides totais pesou-se 0,3g e para Atividade Sequestrante de Radicais Livres 0,5 g da amostra, foram extraídas com 50 ml de água deionizada em banho-maria (Quimis) à 90°C por 10 min. Após extração, as amostras foram resfriadas em água fria e centrifugadas durante 10 min. a 8.000 rpm. Utilizou-se o sobrenadante para os procedimentos de fenólicos totais, flavonóides totais e atividade antioxidante.

2.5 Determinação dos Compostos Bioativos

2.5.1 Determinação do teor de cafeína

Os extratos para o ensaio de cafeína foram determinados através do método descrito por Dobrinas et al. (2013), com modificações.

Pesou-se cerca de 0,5 g da amostra liofilizada, adicionado de 70 mL de água destilada e 25 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,2N. Após 30 min em ebulição, a mistura foi filtrada em balão volumétrico de 100 mL. Posteriormente, uma alíquota de 20 mL foi clarificada com 5 mL de ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) 0,25M e 5 mL de acetato de zinco ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) 1M, filtrado em balão volumétrico de 100 mL seguido de separação das fases em funil de separação com o auxílio do diclorometano (CH_2Cl_2), repetindo-se a separação 3 vezes. A absorbância foi mensurada em 275 nm.

Para quantificar o teor de cafeína, utilizou-se a curva de calibração nas concentrações de 4 – 16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($y=0,0545x-0,044$; $r^2=0,9933$). Os resultados foram expressos em $\text{mg de cafeína} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de b.s.

2.5.2 Determinação de Compostos Fenólicos Totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado através do método colorimétrico Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965), modificado. Em balão volumétrico de 5 mL, adicionou-se 0,5 mL do extrato e 2,5 mL do reativo Folin-Ciocalteu (10%). Após 5 minutos, 2 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) à 7,5%, foram adicionados a reação e mantida em banho (Quimis) à 50°C por 5min. Em seguida realizou-se a leitura da absorbância a 760 nm. O teor de fenólicos totais foi expresso em gramas de equivalente de ácido gálico (EAG) e ácido clorogênico (ACG) por 100g de base seca (BS) e quantificado de acordo com uma curva de calibração de EAG nas

concentrações de 2 – 8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($y=0,0969x+0,0304$; $r^2=0,9997$) e ACG de 3 – 12 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($y=0,065x+0,0202$; $r^2=0,9997$).

2.5.3 Determinação de Flavonóides Totais

O teor de flavonóides totais foi determinado através do método colorimétrico baseado na formação do composto flavonóide-alumínio (BARROSO et al., 2011). Em balão volumétrico de 10 mL adicionou-se 1 mL do extrato, em 4 mL de água deionizada e uma solução de 0,3 mL de nitrito de sódio (NaNO_2 - 5%). Depois de 5 min, 0,6 mL de solução de cloreto de alumínio (AlCl_3), foram adicionados a solução, aguardou-se 6 min. Posteriormente, 2 mL da solução de hidróxido de sódio (NaOH 1M) e 2,1 mL de água deionizada foram adicionados à reação. A mistura foi agitada manualmente obtendo uma cor vermelha e absorbância medida em espectrofotômetro (DU 640, Beckman) a 510 nm. Realizou-se uma curva de calibração de epicatequina com concentrações entre 9 – 30 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O teor de flavonoides totais foi expresso em g de epicatequina.100g⁻¹ de base seca (b.s) ($y=0,026x+0,0073$; $r^2=0,9957$).

2.6 Determinação da atividade sequestrante de radicais livres

2.6.1 Método DPPH

A atividade sequestrante de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi determinada de acordo com o método de Brand-Williams, Cuverlier e Berset (1995) com modificações. Os extratos (0.1mL) reagiram com 3,9 mL de uma solução metanólica do radical DPPH (0,06 mM). E utilizando como branco álcool metílico, controle a solução extratora (água deionizada) e a solução metanólica do radical DPPH na mesma proporção da amostra. Após 30 min de reação sem contato de luz, fez-se a

leitura da absorbância da solução resultante em espectrofotômetro (DU 640, Beckman) a 515 nm. Preparou-se uma curva de calibração de ácido clorogênico (ACG) 0,5 - 3 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($y=0,1258x+0,0414$; $r^2=0,993$) e TEAC (0,5 - 4,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) ($y=0,1025x-0,0099$; $r^2=0,9929$) como referência e os valores obtidos foram expressos em g de ACG, g de trolox (TEAC).100g⁻¹ de base seca (b.s) e atividade sequestrante de radicais livres necessária para reduzir a concentração inicial do radical DPPH em 50% (EC₅₀). Para EC₅₀ realizou-se diluições dos extratos nas concentrações de 25,7 – 258 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

2.6.2 Método ABTS

As análises da atividade sequestrante de radicais livres ABTS foi determinada segundo o método descrito por Rufino et al. (2010). O radical ABTS foi preparado a partir da reação de 5 mL da solução de estoque de ABTS com 88 μL de persulfato de potássio, que permaneceu no escuro em temperatura ambiente por 16 horas. Diluiu-se 1mL da mistura em álcool etílico até obter absorbância de 0,70 a 734nm, utilizado apenas no dia da análise. Em ambiente escuro 30 μL do extrato foram adicionados em 3 mL do radical ABTS. Após 6 min fez-se a leitura em espectrofotômetro (DU 640, Beckman) a 734 nm. Como branco foi utilizado o álcool etílico para calibração do equipamento. O mesmo procedimento foi adotado para as soluções padrão de ACG (0,6 – 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) ($y=0,0792x+0,0144$; $r^2=0,9977$) e TEAC (0,5 - 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) ($y=0,1097x+0,004$; $r^2=0,9998$). Os resultados foram expressos em g de ACG, g de TEAC.100g⁻¹ de base seca (b.s) e atividade sequestrante de radicais livres necessária para reduzir a concentração inicial do radical ABTS em 50% (EC₅₀). Para EC₅₀ realizou-se diluições dos extratos nas concentrações de 20 – 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

3. Análise dos Resultados

Os resultados foram analisados pelo programa ORIGIN[®] 8.0 através análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey. Os níveis de probabilidade menores que 5% ($p < 0,05$) foram considerados estatisticamente significativas.

4. Resultados e Discussão

Determinou-se o teor de água, compostos fenólicos totais, flavonóides totais, atividade sequestrante de radicais livres pelo métodos DPPH e ABTS e medida de cor dos cultivares Acaiá, Catuaí Amarelo, Catuaí Vermelho e Obatã nos principais estádios de maturação dos frutos do cafeeiro (verde, verde-cana, cereja e passa) e cereja descascado do *Coffea arabica* L. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.1 Teor de água

Os resultados do teor de água apresentados na tabela 1 para os frutos, o cultivar Acaiá não mostrou diferença estatística ($p > 0,05$) para os estádios de maturação verde-cana>verde>cereja, com teor inferior de umidade para o grão passa (50,3%). O Catuaí Amarelo em todos os estádios de maturação analisados apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), sendo que o fruto verde (68,9%) obteve maior teor seguido do cereja e com menor teor para o fruto passa (28,9%). Assim como o Acaiá, o Catuaí Vermelho não foi diferente significativamente ($p > 0,05$) para os estádios de maturação cereja>verde>verde-cana, entretanto apresentou um teor maior de água para o fruto cereja (67,8%) e menor para o fruto passa (43,2%). Relativamente para o cultivar Obatã, os estádios de maturação verde>verde-cana>cereja não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$), com níveis elevados para o fruto verde (66,0%) e inferior para o

passa (41,0 %). Constatou-se, que bem como ocorre na maioria dos frutos o teor de água é influenciado pela maturação do fruto do café.

Pode-se observar que o teor de água do estágio de maturação verde (68,9%) foi elevado e diferente a um nível de significância de $p < 0,05$ para o cultivar Catuaí Amarelo. Para o verde-cana não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os cultivares, entretanto o fruto cereja dos cultivares Acaiaí, Catuaí Amarelo e Obatã apresentaram teores inferiores ao Catuaí Vermelho com 67,8 % de água. O fruto passa foi o estágio que obteve menor teor de água, sendo que para o Catuaí Amarelo foi ainda inferior (28,9%) que os demais cultivares.

Tabela 1. Teor de água dos frutos de quatro cultivares do *Coffea arabica* L. durante os estádios de maturação.

Cultivares	Estádio de Maturação do fruto			
	Verde (%)	Verde-cana (%)	Cereja (%)	Passa (%)
Acaiaí	60,65 ± 1,20 ^{Aa}	63,22 ± 1,45 ^{Aa}	58,32 ± 3,40 ^{Aab}	50,31 ± 2,15 ^{Ba}
Catuaí Amarelo	68,96 ± 1,02 ^{Aa}	n.d	64,79 ± 0,58 ^{Bb}	28,91 ± 0,47 ^{Cc}
Catuaí Vermelho	65,79 ± 1,74 ^{Aa}	65,52 ± 0,45 ^{Aa}	67,88 ± 1,14 ^{Aa}	43,16 ± 0,87 ^{Bb}
Obatã	66,05 ± 5,68 ^{Aa}	64,03 ± 0,97 ^{Aa}	61,87 ± 1,58 ^{Aab}	41,04 ± 1,17 ^{Bb}

*Médias ± Desvio padrão, n.d – não determinado.

Médias seguidas de letras iguais e maiúsculas na linha diferem significativamente e médias seguidas de letras minúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Após liofilização as amostras apresentaram um teor de água de 6%, com um decaimento de 22,9 – 61,8% da umidade inicial, o que permitiu melhor aproveitamento e durabilidade até o momento das análises.

O teor de água do cereja descascado conforme mostra a tabela 2 variou de 45,8 - 51,2% entre as variedades analisadas. Após liofilização houve uma decréscimo do teor

de água de 41,3 - 46,7% do valor inicial, necessária para que não houvesse a perda dos compostos até o momento das análises.

Tabela 2. Determinação do teor de água das amostras de café cereja descascado de quatro cultivares do *Coffea arabica* L.

Cultivares	Cereja descascado (%)
Acaiá	45,80 ± 1,07 ^a
Catuaí Amarelo	51,07 ± 0,86 ^a
Catuaí Vermelho	51,21 ± 1,67 ^a
Obatã	49,82 ± 2,63 ^a

*Médias ± Desvio padrão.

Médias seguidas de letras iguais na coluna diferiram entre si estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

4.2 Medida de Cor

Avaliando as coordenadas cromáticas do sistema CIELab presente na tabela 3, o valor de L* foi significativamente (p<0,05) inferior para o fruto passa dos cultivares, que possui cor mais escura em relação os demais frutos, podendo-se observar que o cereja do Obatã apresentou valor próximo ao passa. Entretanto os valores de L* para o fruto passa são seguidos pelos cultivares Catuaí Amarelo>Acaiá>Obatã>Catuaí Vermelho. Maior valor de L* foi encontrado para o cereja do Catuaí Amarelo, que obteve cor clara, apresentando diferença estatística (p<0,05) entre as demais variedades. Avaliando a cultivar Acaiá e seus estádios de maturação, não apresentaram diferença estatística (p>0,05), portanto pode-se dizer que os frutos estavam mais escuros quando comparado entre as médias dos cultivares estudados.

O valor da coordenada a^* representa a variação entre verde (-a) e vermelho (+a) dos frutos, entre os estádios de maturação dos cultivares. Os frutos verdes (-a) foram diferentes significativamente ($p < 0,05$) dos frutos verde-cana, cereja e passa. Dos valores encontrados para o verde-cana (+a) não houve diferença entre os frutos cereja dos cultivares Acaiá e Catuaí Vermelho, indicando uma cor vermelha próxima do cereja. Os frutos cereja (+a) seguido do Acaiá > Catuaí Vermelho > Obatã apresentaram valores elevados quando comparado ao Catuaí Amarelo, pois nesta variedade o estágio cereja apresenta uma cor amarela e não vermelho o que pode ser confirmado no valor encontrado para b^* (amarelo) superior aos demais cultivares. Baixos valores de b^* podem ser observados para o fruto passa dos cultivares por serem frutos escuros.

Tabela 3. Medida de cor de quatro cultivares do *Coffea arabica* L. durante os estádios de maturação.

Cultivares	Parâmetros Colorimétricos	Verde	Verde-cana	Cereja	Passa
Acaiaí	L*	35,92 ± 0,97 ^{Ab}	34,35 ± 4,19 ^{Ab}	36,63 ± 0,80 ^{Aab}	23,88 ± 0,50 ^{Bab}
	a*	-5,25 ± 1,29 ^{Ca}	16,37 ± 4,01 ^{ABa}	23,81 ± 2,59 ^{Aa}	7,21 ± 2,09 ^{Ba}
	b*	19,09 ± 0,48 ^{Ab}	18,81 ± 5,65 ^{Ab}	20,15 ± 0,84 ^{Aab}	1,80 ± 0,60 ^{Ba}
Catuaí Amarelo	L*	50,19 ± 6,38 ^{Aa}	n.d	62,57 ± 2,93 ^{Ac}	25,68 ± 1,27 ^{Ba}
	a*	-8,63 ± 2,74 ^{Ba}	n.d	6,02 ± 0,59 ^{Ab}	6,43 ± 1,41 ^{Aab}
	b*	36,06 ± 4,14 ^{Ba}	n.d	54,32 ± 3,01 ^{Aa}	3,21 ± 0,48 ^{Ca}
Catuaí Vermelho	L*	44,73 ± 1,09 ^{Bab}	59,44 ± 1,01 ^{Aa}	40,01 ± 4,52 ^{Ba}	17,91 ± 0,12 ^{Cc}
	a*	-4,16 ± 1,45 ^{Aa}	8,26 ± 1,60 ^{ABab}	20,75 ± 7,18 ^{Bab}	1,28 ± 0,41 ^{Ac}
	b*	32,36 ± 1,23 ^{Ba}	47,63 ± 1,78 ^{Aa}	22,89 ± 6,62 ^{Ba}	1,40 ± 0,32 ^{Ca}
Obatã	L*	51,84 ± 0,76 ^{Aa}	54,10 ± 0,49 ^{Aa}	28,37 ± 0,82 ^{Bb}	20,77 ± 1,30 ^{Cbc}
	a*	-8,95 ± 1,04 ^{Ca}	2,04 ± 1,21 ^{Bb}	19,46 ± 4,61 ^{Aab}	2,19 ± 0,64 ^{Bbc}
	b*	36,76 ± 0,57 ^{Aa}	40,02 ± 0,52 ^{Aa}	7,39 ± 1,66 ^{Bb}	2,22 ± 0,57 ^{Ca}

*Médias ± Desvio padrão, n.d – não determinado.

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha ou mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey (p>0,05).

A cor do fruto do café tem sido pouco estudada de maneira objetiva e com métodos quantitativos em relação a outros produtos agrícolas. A utilização do colorímetro além de ser um método físico e não destrutivo no caso de um produto vegetal, permite descrever a coloração da epiderme de uma maneira quantitativa (LANA et al., 2006; MENDONZA et al., 2006; HERRERA et al., 2011).

4.3 Determinação dos teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e cafeína do café arábica

Os resultados das determinações de fenólicos totais, flavonoides totais e cafeína nos diferentes estádios de maturação estão dispostos na Tabela 4 e para o café cereja descascado, na Tabela 5.

Tabela 4. Teor de compostos bioativos dos principais estádios de maturação de cultivares do *Coffea arabica* L.

Variáveis	Cultivares	Estádios de maturação			
		Verde	Verde-cana	Cereja	Passa
Fenólicos Totais (g CGA/100g b.s)	Acaiá	4,15 ± 0,04 ^{Cc}	4,76 ± 0,04 ^{Aa}	4,66 ± 0,02 ^{Ab}	4,32 ± 0,06 ^{Bb}
	Catuaí Amarelo	5,01 ± 0,02 ^{Ba}	n.d	5,24 ± 0,08 ^{Aa}	4,98 ± 0,01 ^{Ba}
	Catuaí Vermelho	4,97 ± 0,04 ^{Aa}	4,44 ± 0,04 ^{Bb}	4,98 ± 0,02 ^{Aa}	4,48 ± 0,04 ^{Bb}
	Obatã	4,33 ± 0,08 ^{Bb}	3,76 ± 0,05 ^{Cc}	3,72 ± 0,16 ^{Cc}	5,09 ± 0,07 ^{Aa}
Fenólicos Totais (g EAG/100g b.s)	Acaiá	2,73 ± 0,01 ^{Cb}	3,14 ± 0,04 ^{Aa}	3,08 ± 0,01 ^{Ab}	2,85 ± 0,02 ^{Bb}
	Catuaí Amarelo	3,32 ± 0,02 ^{Ba}	n.d	3,46 ± 0,06 ^{Aa}	3,28 ± 0,02 ^{Ba}
	Catuaí Vermelho	3,29 ± 0,02 ^{Aa}	2,95 ± 0,04 ^{Bb}	3,28 ± 0,00 ^{Aab}	2,99 ± 0,06 ^{Bb}
	Obatã	2,90 ± 0,11 ^{Bb}	2,48 ± 0,03 ^{Cc}	2,44 ± 0,12 ^{Cc}	3,37 ± 0,05 ^{Aa}
Flavonóides Totais (g epicatequina/100g b.s)	Acaiá	2,50 ± 0,07 ^{Bb}	3,12 ± 0,04 ^{Aa}	3,12 ± 0,06 ^{Aa}	2,54 ± 0,05 ^{Bc}
	Catuaí Amarelo	3,41 ± 0,03 ^{Aa}	n.d	3,43 ± 0,14 ^{Aa}	3,38 ± 0,03 ^{Aab}
	Catuaí Vermelho	3,28 ± 0,05 ^{Aa}	3,01 ± 0,13 ^{Ba}	3,31 ± 0,03 ^{Aa}	3,22 ± 0,05 ^{ABb}
	Obatã	2,10 ± 0,05 ^{Bc}	1,76 ± 0,03 ^{Cb}	1,98 ± 0,12 ^{BCb}	3,46 ± 0,05 ^{Aa}
Cafeína (g de cafeína/100g b.s)	Acaiá	1,25 ± 0,06 ^{Aa}	0,97 ± 0,01 ^{Ba}	0,82 ± 0,01 ^{Cc}	0,65 ± 0,01 ^{Dc}
	Catuaí Amarelo	0,88 ± 0,05 ^{Ac}	n.d	0,85 ± 0,05 ^{ABb}	0,74 ± 0,00 ^{Bb}
	Catuaí Vermelho	0,75 ± 0,02 ^{Ac}	0,81 ± 0,00 ^{Ab}	0,78 ± 0,02 ^{Abc}	0,69 ± 0,02 ^{Bbc}
	Obatã	1,00 ± 0,02 ^{Ab}	1,05 ± 0,04 ^{Aa}	0,95 ± 0,03 ^{Aa}	0,82 ± 0,02 ^{Ba}

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha ou mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey (p>0,05).

Tabela 5. Determinação de compostos bioativos (g.100g^{-1} b.s) do café cereja descascado de quatro cultivares do *Coffea arabica* L.

Cultivares	Fenólicos Totais	Flavonóides Totais	Cafeína
Acaiá	$4,82 \pm 0,09^{\text{ab}}$	$3,28 \pm 0,06^{\text{b}}$	$0,86 \pm 0,04^{\text{a}}$
Catuaí Amarelo	$4,61 \pm 0,05^{\text{b}}$	$3,35 \pm 0,00^{\text{b}}$	$0,94 \pm 0,01^{\text{a}}$
Catuaí Vermelho	$5,19 \pm 0,08^{\text{a}}$	$3,82 \pm 0,04^{\text{a}}$	$0,86 \pm 0,03^{\text{a}}$
Obatã	$4,11 \pm 0,24^{\text{c}}$	$2,36 \pm 0,24^{\text{c}}$	$0,89 \pm 0,03^{\text{a}}$

*Médias seguidas da letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p > 0,05$).

4.3.1 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais dos cultivares de café em seus principais estádios de maturação e café cereja descascado foram expressos em EAG e ACG por ser o composto majoritário do café (CLIFFORD, 2000).

O teor destes compostos variou de 2,44 – 3,46 g EAG/100g b.s e 3,72 – 5,24 g ACG.100g⁻¹ b.s, com maiores valores para os cultivares Catuaí Amarelo no estágio cereja ($3,46 - 5,24 \pm 0,08 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$) com semelhança significativa ($p > 0,05$) ao Catuaí vermelho ($3,28 - 4,98 \pm 0,02 \text{ g ACG.100g}^{-1} \text{ b.s}$). Menores valores foram encontrados para o Obatã nos estádios verde-cana com $2,48 - 3,76 \pm 0,05$ e cereja $2,44 - 3,72 \pm 0,16 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$ ($p > 0,05$).

Quanto aos estádios de maturação dos cultivares, os frutos verde do Acaiá ($2,73 - 4,15 \pm 0,04 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$) e Obatã ($2,90 - 4,33 \pm 0,08 \text{ g ACG.100g}^{-1} \text{ b.s}$) foram diferentes significativamente ($p < 0,05$). Maior teor de compostos fenólicos foi encontrado para os cultivares Catuaí Amarelo com $5,01 \pm 0,02$ e Vermelho com $4,97 \pm 0,04 \text{ g ACG.100g}^{-1} \text{ b.s}$, que por sua vez foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$). Para os frutos verde-cana, o Acaiá apresentou valores superiores e diferentes ($p < 0,05$) dos demais cultivares analisados. Assim como os frutos verdes, para o cereja, o Acaiá ($4,66$

$\pm 0,02 \text{ g ACG.100g}^{-1} \text{ b.s}$) e Obatã ($3,72 \pm 0,16 \text{ g ACG.100g}^{-1} \text{ b.s}$) foram diferentes ($p<0,05$) entre os cultivares Catuaí Amarelo ($5,24 \pm 0,08 \text{ g ACG.100g}^{-1} \text{ b.s}$) e Vermelho ($4,98 \pm 0,02 \text{ g ACG.100g}^{-1} \text{ b.s}$) com menor teor, não diferindo entre si ($p>0,05$). Maiores teores de fenólicos totais foram observados para o Obatã no estágio passa com $5,09 \pm 0,07$ seguido do cultivar Catuaí Amarelo com $4,98 \pm 0,01 \text{ g ACG.100g}^{-1} \text{ b.s}$ ($p>0,05$).

Assim como nos estádios de maturação, o cereja descascado do cultivar Obatã foi inferior significativamente ($p<0,05$) em relação aos outros cultivares. A maior concentração deste composto foi encontrada no Catuaí Vermelho>Acaiá>Catuaí Amarelo não diferenciando ($p>0,05$) entre os mesmos (Tabela 5).

Os valores de fenólicos totais encontrados no presente estudo foram inferiores ou próximos aos da literatura $5,70 - 6,33 \text{ g ACG.100g}^{-1} \text{ b.s}$ para os estádios de maturação dos frutos de café. O teor de fenólicos totais não apresentou redução elevada durante as fases de maturação, embora estudos demonstrem um decréscimo dos compostos com maior teor para os frutos verde e verde-cana (PIMENTA, 1995; ANGÉLICO, 2008).

Os valores encontrados podem estar atribuídos ao fato dos frutos serem colhidos e liofilizados e não secos em terreiro como a maioria dos estudos, reduzindo assim a ação de enzimas responsáveis pela oxidação, como ocorrem quando os frutos permanecem em terreiro até a secagem necessária para cada estágio de maturação. A principal enzima responsável pela oxidação dos compostos fenólicos são as polifenoloxidasas, que tem sido encontrada na polpa, camadas externas e partes centrais do fruto. (AMORIN e SILVA, 1968; MAZZAFERA e ROBINSON, 2000). Segundo Pimenta (1995) maior atividade da polifenoloxidase, peso dos grãos e teores elevados de açúcares, foram observados no estágio de maturação cereja.

Sabendo-se que em frutos com menor teor destes compostos estão relacionados à menor adstringência (CLIFFORD, 1999), com esta análise pode-se afirmar que o Catuaí Amarelo possui qualidade inferior aos demais cultivares, pois o fruto cereja pode conferir maior adstringência ao produto final. Ao contrário do Obatã com concentrações menores, possui qualidade superior e pode propiciar bebidas de melhor qualidade. A ocorrência de maior concentração destes compostos está relacionada a cafés de pior qualidade (ABRAHÃO et al., 2010). Os teores elevados destes compostos tornam-se importantes em aplicações industriais e farmacêuticas, na qual esses compostos trazem diversos benefícios à saúde.

Para Malta et al. (2002), o conteúdo de compostos fenólicos variou de 5,96 – 7,81 g.100g⁻¹ b.s de 8 cultivares de *Coffea arabica* sob secagem em terreiro. Entretanto estes resultados estão próximos dos encontrados no presente trabalho quando expresso em ACG, tanto para os frutos em seus estádios de maturação, quanto para o cereja descascado (Tabela 5).

Valores inferiores de fenólicos entre 4,55 – 5,33 mg de EAG.100g⁻¹ b.s, foram obtidos entre as variedades de café torrado analisadas por Kitzberger et al. (2014).

4.3.2 Flavonóides Totais

O conteúdo de flavonoides totais variou entre 1,76 – 3,43 g epicatequina.100g⁻¹ b.s. Maior teor de flavonóides foi obtido para o estágio cereja do cultivar Catuaí Amarelo (3,82 ± 0,04 g epicatequina.100g⁻¹ b.s) e menor para o Obatã (1,76 ± 0,03 g epicatequina.100g⁻¹ b.s) no estágio de maturação verde-cana.

Entre os estádios de maturação do cultivar Acaiá, houve uma variação de flavonoides totais de 2,50 – 3,12 g.100g⁻¹ b.s. Os frutos verdes (2,50 ± 0,07 g.100g⁻¹ b.s) e passa (2,54 ± 0,05 g.100g⁻¹ b.s) apresentaram valores iguais (p>0,05), entretanto

foram inferiores significativamente ($p < 0,05$) ao verde-cana ($3,12 \pm 0,04 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$) e cereja ($3,12 \pm 0,06 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$). Em relação ao Catuaí Amarelo, todos os estádios de maturação foram iguais ($p > 0,05$), com teor destes compostos entre $3,38 - 3,41 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$. Para o Catuaí Vermelho, o estágio verde-cana ($3,01 \pm 0,13 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$) apresentou menor valor com diferença estatística ($p < 0,05$) entre os frutos verdes ($3,28 \pm 0,05 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$) e cereja ($3,31 \pm 0,03 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$) e igualdade quando comparado ao fruto no estágio passa ($3,22 \pm 0,05 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$). Para o Obatã teor significativo ($p < 0,05$) e superior aos demais estádios, foi obtido para o fruto passa com $3,46 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$.

Observando a tabela 5, em relação ao café cereja descascado, os valores encontrados de Flavonóides Totais apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) com maior teor para o Catuaí Vermelho ($3,82 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$) e menor para o Obatã ($2,36 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$).

Kreichbergs et al. (2011) encontraram teor flavonoides totais inferiores para a exclusiva seleção mista do café arábica com $13,75 \text{ mg epicatequina.100g}^{-1}$ de café em relação ao presente estudo.

Embora os flavonoides contribuam para o aroma e sabores da bebida além de estar relacionada a diversos benefícios a saúde, são escassos estudos referentes ao teor deste composto em café principalmente em frutos e expresso em epicatequina.

4.3.3 Cafeína

O teor de cafeína nas amostras de café variaram de $0,65 - 1,25 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$, similar aos resultados encontrados na literatura ($0,96 - 1,23 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$) (BELAY et al., 2008; FARAH et al., 2006). Maior teor foi encontrado para o cultivar Acaiá no estágio de maturação verde ($1,25 \pm 0,06 \text{ g.100g}^{-1} \text{ b.s}$) e menor teor no estágio passa ($0,65 \pm 0,01 \text{ do fruto g/100g b.s}$) do mesmo cultivar de café, com diferença significativa

($p < 0,05$) entre todos os estádios de maturação. Foi possível observar para todos os cultivares que com a maturação do fruto o teor de cafeína é reduzido. Na tabela 5, para o café cereja descascado todos os cultivares foram iguais estatisticamente ($p > 0,05$).

A cafeína é encontrada em maior quantidade nas flores, sementes e nas folhas mais novas (RAJU e GOPAL, 1979). O teor de cafeína nas sementes do cafeeiro depende da espécie (CAMPA et al., 2005), no *C. arabica*, o conteúdo médio é de 1,2g. 100g⁻¹; já no *C. canephora* em torno de 2,2g.100g⁻¹ (SCREENATH, 1997).

4.4 Capacidade antioxidante em diferentes estádios de maturação e no café cereja descascado de cultivares do café arábica

A capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS dos estádios de maturação estão dispostos na Tabela 6 e para o café cereja descascado, na Tabela 7.

A atividade antioxidante sequestrante de radicais DPPH (TEAC, ACG e EC₅₀) foi superior para o cultivar Acaiá (4,37 – 7,42g TEAC.100g⁻¹ b.s; 2,77 – 5,26 g ACG.100g⁻¹ b.s; 51,72 – 103,24 µg.mL⁻¹ – EC₅₀) em comparação aos demais cultivares, e entre os estádios de maturação com maior teor para o fruto verde>passa>cereja>verde-cana ($p < 0,05$). Menor atividade antioxidante foi obtida para o cultivar Obatã, diferindo estatisticamente entre ($p < 0,05$) os estádios de maturação e os cultivares analisados, sendo que o fruto passa não apresentou diferença ($p > 0,05$) quando comparado com o mesmo estágio do Catuaí Vermelho .

O Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho apresentaram atividade antioxidante intermediária. Entre os cultivares em seus estádios de maturação segue a ordem decrescente da atividade antioxidante para o fruto verde, verde-cana e cereja Acaiá>Catuaí Amarelo>Catuaí Vermelho>Obatã ($p < 0,05$), sendo que para o passa o Catuaí Vermelho e Obatã não foram diferentes significativamente ($p > 0,05$).

Pelo método ABTS, a atividade antioxidante expressa em TEAC e ACG entre os cultivares e os seus respectivos estádios de maturação foram próximos. . Maior atividade (TEAC e ACG) foi obtida para o Acaiá e Catuaí Amarelo ($p>0,05$) seguido do Catuaí Vermelho e Obatã ($p>0,05$). Em EC_{50} o fruto verde ($70,60 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$) do Acaiá apresentou maior atividade antioxidante entre os cultivares e os estádios de maturação.

Na tabela 7 são apresentados os dados das análises realizadas para o cereja descascado entre quatro cultivares do café arábica através do método DPPH apresentou diferença estatística ($p<0,05$) para todas as amostras analisadas quando expresso em TEAC, com maior teor para o Acaiá (7,32 g/100g b.s) e menor para o Obatã (2,31 g/100g b.s). O mesmo pode ser observado para os resultados de ACG, com semelhança entre os teores dos cultivares Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho ($p>0,05$). Das concentrações de EC 50, atividade sequestrante significativa encontra-se para o Catuaí Amarelo>Acaiá>Catuaí Vermelho>Obatã.

Para os resultados da análise de ABTS, os teores encontrados nas duas formas expressas de TEAC e ACG, maior valor foi encontrado para os cultivares seguidos do Acaiá>Catuaí Amarelo>Catuaí Vermelho>Obatã. Entretanto para EC_{50} , atividade antioxidante maior obteve-se entre os cultivares Acaiá e Catuaí Amarelo, não apresentando diferença significativa ($p<0,05$) entre os mesmos.

Tabela 6. Capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS de quatro cultivares do café arábica em seus principais estádios de maturação.

Cultivares	Estádios de maturação	DPPH		ABTS	
		¹ TEAC	¹ ACG	¹ TEAC	² EC50
Acaiá	Verde	7,42 ± 0,14 ^{Aa}	5,26 ± 0,11 ^{Aa}	4,51 ± 0,10 ^{Aa}	70,60 ± 0,19 ^{Cc}
	verde-cana	4,37 ± 0,09 ^{Da}	2,77 ± 0,08 ^{Da}	3,22 ± 0,06 ^{Ca}	90,65 ± 0,18 ^{Ab}
	Cereja	5,62 ± 0,09 ^{Ca}	3,79 ± 0,07 ^{Ca}	3,73 ± 0,03 ^{Bc}	80,69 ± 0,13 ^{Bb}
	Passa	6,54 ± 0,10 ^{Ba}	4,54 ± 0,08 ^{Ba}	3,55 ± 0,08 ^{Ba}	80,78 ± 0,17 ^{Bc}
Catuai Amarelo	Verde	5,10 ± 0,21 ^{Ab}	3,37 ± 0,18 ^{Ab}	3,88 ± 0,10 ^{Aab}	80,71 ± 0,22 ^{Ab}
	verde-cana	n.d	n.d	n.d	n.d
	Cereja	4,89 ± 0,06 ^{Ab}	3,19 ± 0,05 ^{Ab}	4,02 ± 0,06 ^{Aa}	80,76 ± 0,10 ^{Ab}
	Passa	5,34 ± 0,21 ^{Ab}	3,56 ± 0,17 ^{Ab}	3,87 ± 0,05 ^{Ab}	80,59 ± 0,27 ^{Ac}
Catuai Vermelho	Verde	4,18 ± 0,12 ^{ABc}	2,61 ± 0,10 ^{ACc}	3,38 ± 0,55 ^{Ab}	90,14 ± 0,00 ^{Ca}
	verde-cana	3,77 ± 0,13 ^{BCb}	2,28 ± 0,10 ^{BCb}	3,03 ± 0,15 ^{Aa}	100,41 ± 0,11 ^{ABa}
	Cereja	4,35 ± 0,18 ^{Ac}	2,76 ± 0,16 ^{Ac}	3,00 ± 0,06 ^{Ab}	100,75 ± 0,11 ^{ABa}
	Passa	3,90 ± 0,04 ^{ACbc}	3,08 ± 0,04 ^{Abc}	3,36 ± 0,06 ^{Aa}	100,56 ± 0,09 ^{Ba}
Obatã	Verde	2,06 ± 0,06 ^{Bd}	0,88 ± 0,05 ^{Dd}	3,43 ± 0,13 ^{Ab}	90,66 ± 0,15 ^{Ca}
	verde-cana	2,29 ± 0,04 ^{Cc}	1,08 ± 0,03 ^{Cc}	3,35 ± 0,32 ^{Aa}	100,50 ± 0,32 ^{ABa}
	Cereja	2,87 ± 0,08 ^{Bd}	1,55 ± 0,07 ^{Bd}	2,93 ± 0,10 ^{Ab}	100,75 ± 0,15 ^{Aa}
	Passa	4,20 ± 0,06 ^{Ac}	2,64 ± 0,05 ^{Ac}	3,54 ± 0,08 ^{Aa}	90,68 ± 0,08 ^{Bb}

*Média ± Desvio-Padrão, n.a – não determinado. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna ou mesma letra minúscula na linha não diferem entre si, pelo teste Tukey (p>0,05). ¹g.100g⁻¹ b.s; ²µg.mL⁻¹.

Tabela 7. Atividade antioxidante do café cereja descascado de quatro cultivares do *Coffea arabica*.

Cultivares	DPPH			ABTS		
	¹ TEAC	¹ ACG	² EC50	¹ TEAC	¹ ACG	² EC50
Acaiá	7,32 ± 0,09 ^a	5,17 ± 0,08 ^a	51,80 ± 0,07 ^c	4,26 ± 0,04 ^a	5,69 ± 0,06 ^a	80,71 ± 0,24 ^c
Catuaí Amarelo	6,02 ± 0,09 ^b	3,95 ± 0,03 ^b	25,80 ± 0,07 ^d	3,69 ± 0,05 ^{ab}	4,89 ± 0,07 ^{ab}	80,50 ± 0,22 ^c
Catuaí Vermelho	4,74 ± 0,27 ^c	3,92 ± 0,27 ^b	100,54 ± 0,08 ^b	3,31 ± 0,32 ^b	4,36 ± 0,43 ^b	90,47 ± 0,06 ^b
Obatã	2,31 ± 0,22 ^d	1,09 ± 0,18 ^c	206,08 ± 0,42 ^a	2,54 ± 0,23 ^c	3,28 ± 0,32 ^c	100,46 ± 0,20 ^a

*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey (p>0,05).
¹g.100g⁻¹ b.s; ²µg.mL⁻¹.

Os valores da atividade antioxidante do radical ABTS, foram similares aos encontrados por Kitzberger et al. (2014) para cafés torrados tradicionais (3,75 – 5,19 g TEAC.100g⁻¹ b.s) e modernos (4,77 – 5,42 g TEAC.100g⁻¹ b.s) do *Coffea arabica*.

A atividade antioxidante do radical ABTS de cafés com denominação tradicional (2,96 – 6,76 g TEAC.100g⁻¹ b.s), forte (3,48 – 5,18 g TEAC.100g⁻¹ b.s), extra forte (3,02 – 6,31 g TEAC.100g⁻¹ b.s), *premium* (5,01 – 5,53 g TEAC.100g⁻¹ b.s), exportação (6,07 g TEAC.100g⁻¹ b.s), *expresso* (3,80 g TEAC.100g⁻¹ b.s) e *gourmet* (2,28 – 4,15 g TEAC.100g⁻¹ b.s), apresentam atividade semelhante quanto aos estádios de maturação e café cereja descascado analisados (ALMEIDA e BENASSI, 2011).

5. Conclusão

Maiores teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais foram encontrados para o cultivar Catuaí Amarelo e menor para o Obatã.

Entre as amostras de café cereja descascado, maiores concentrações mostraram-se significativas para a variedade Catuaí Vermelho e menor para o Obatã nas análises de compostos fenólicos totais e flavonoides totais.

O teor de cafeína diminui com a maturação dos frutos.

O cultivar Acaiá, obteve maior atividade sequestrante do radical DPPH, tanto para os estádios de maturação destacando-se o fruto verde, quanto para o café cereja descascado. Menor atividade foi encontrada para o cultivar Obatã, com um aumento durante a maturação dos frutos.

Pouca diferença foi observada entre os cultivares e seus estádios de maturação, destacando-se maior atividade sequestrante do radical ABTS para o Acaiá principalmente no fruto verde e os estádios de maturação do Catuaí Amarelo. O mesmo obteve-se para o café cereja descascado.

6. Referências

ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café. Indicadores da Indústria de café no Brasil (2013). O café brasileiro na atualidade. <<http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=38>> Acesso em 21 jan. de 2015.

ABRAHÃO, S.A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 414-420, 2010.

ALMEIDA, M. B.; BENASSI, M. T. Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais. **Semina: Ciências agrárias**, v.32, p.1893–1900, 2011.

AMORIN, H.V.; SILVA, O.M. Relationship between the polyphenol oxidase activity of coffee beans and quality of the beverage. **Nature**, New York, n.219, p.381-382, 1968.

ANGÉLICO, C.L. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) em diferentes estádios de maturação e submetidos a cinco tempos de ensacamento antes da secagem. Dissertação de mestrado em Ciências dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 149p., 2008.

BARROSO, M., F. et al. Flavored Waters: Influence of Ingredients on Antioxidant Capacity and Terpenoid Profile by HS-SPME/GC-MS. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, p. 5062–5072, 2011.

BELAY, A. et al. Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. **Food Chemistry**, v.108, p.310–315, 2008.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M., E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss Technol.**, v. 22, p. 25-30, 1995.

CAMPA et al. Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild *Coffea* species. **Food Chemistry**, v.93, p.135–139, 2005.

CLIFFORD, M. N. Review Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **J Sci Food Agric**, v.80, p.1033-1043, 2000.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Food and Agriculture**, v.79, p.363-372, 1999.

DE MARIA, C.A.B. et al. Simultaneous determination of total chlorogenic acids, trigonelline and caffeine in green coffee samples by high performance gel filtration chromatography. **Food Chemistry**. London, v.52, n.4, p. 447 – 449, 1995.

DOBRINAS, S.; SOCEANU, A.; POPESCU, V.; STANCIU, G.; SMALBERGER, S. Optimisation of a UV-Vis spectrometric method for caffeine analysis in tea, coffee and other beverages. **St. Cerc. St. CICBIA**, v. 14, n. 2, 2013.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ , M. Functional Properties of Coffee and Coffee Byproducts. **Food Research International**., v.46, p.488-495, 2012.

FAGAN, E. B. et al. Efeito do tempo de formação do grão de café (*Coffea* sp) na qualidade da bebida. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 27, n. 5, p. 729-738, 2011.

FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, v.98, p.373–380, 2006.

FREIRE, A.C.F.; MIGUEL, A.C. Rendimento e qualidade do café colhido nos diversos estádios de maturação em Varginha-MG. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Caxambu, RJ, 1985.

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

HERRERA, J. J. C. et al. Colorimetría del Fruto de Café (*Coffea arabica* L.) Durante su Desarrollo y Maduración. **Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín**, v.64, n.2, p. 6229-6240, 2011.

HECIMOVIC, I. et al. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting, **Food Chemistry**, v. 129, p. 991–1000, 2011.

ICO – International Coffee Organization. World coffee trade (1963 – 2013): A review of the markets, challenges and opportunities facing the sector. 24 february, 2014. <<http://www.ico.org/news/icc-111-5-r1e-world-coffee-outlook.pdf>> Acesso em 21 jan. de 2015.

JOHNSTON, K., L.; CLIFFORD, M., N.; MORGAN, L., M. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. **Am J Clin Nutr.**, v. 78, p. 728–33, 2003.

KITZBERGER, C.S.G. et al. Bioactive compounds content in roasted coffee from traditional and modern *Coffea arabica* cultivars grown under the same edapho-climatic conditions. **Food Research International**, v.61, p.61–66, 2014.

KREICBERGS, V. et al. Biologically active compounds in roasted coffee. **FOODBALT**, p. 110, 2011.

LANA, M.M.; TIJSKENS, L.M.M; VAN KOOTEN, O. Effects of storage temperature and stage of ripening on RGB colour aspects of fresh-cut tomato pericarp using video image analysis. **Journal of Food Engineering**, v.77, n.4, p.871-879, 2006.

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

MATIELLO, J. B. et al. Cultura de Café no Brasil: novo manual de recomendações. **Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFÉ**, p.434, 2005.

MAZZAFERA, P.; ROBINSON, S. P. Characterization of polyphenol oxidase in coffee. **Phytochemistry**, v.55, p. 285-296, 2000.

MENDOZA, F.; DEJMEK, P.; AGUILERA, J.M. Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. **Postharvest Biology and Technology**, v.41, n.3, p. 285-295, 2006.

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

MURTHY, P.; NAIDU, M. Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products. **Food Bioprocess Technol.**, v.5, p. 897-903, 2010.

MUSSATTO, S. et al. Production, composition and application of coffee and its industrial residues. **Food and Bioprocess Technology**, v.4, p.661-672, 2011.

PIMENTA, C.J. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) originado de frutos colhidos em quatro estádios de maturação. Dissertação de mestrado em Ciências dos Alimentos, Lavras/MG, Brasil, p. 1-112, 1995.

PEZZOPANE, J., R., M. et al. Escala para avaliação de estádios fenológicos do cafeeiro arábica. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.3, p.499-505, 2003.

RAJU, K. I; GOPAL, N.H. Distribution of caffeine in arabica and robusta coffee plants. **Journal of Coffee Research, Karnataka**, v. 9, n. 4, p.83-90, 1979.

RODRIGUEZ DE SOTILLO, D.V.; HADLEY, M. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) Zucker rats. **J. Nutr. Biochem.** v.13, p.717–726, 2002.

RUFINO, M., S. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

SARRAZIN, C. et al. Representativeness of coffee aroma extracts: a comparison of different extraction methods, **Food Chemistry**, v.70, p.99-106, 2000.

SCREENATH, H. L. Development of caffeine in free coffee varieties. Indian Coffee, **Bangalore**, v. 61, n. 10, p. 13-14, 1997.

SHEARER, J. et al. Effects of chronic coffee consumption on glucose kinetics in the conscious rat. Can. J. **Physiol. Pharmacol.** v.85, p.823–830, 2007.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p: 144-158, 1965.

TOCI, A.T; FARAH, A. Volatile compounds as potential defective coffee beans' markers. **Food Chemistry**, p.1133–1141, 2008.

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

VAN DAM, R.M. Review: The epidemiology of lifestyle and risk for type 2 diabetes. **Eur. J. Epidemiol.**, v.18, p.1115–1126, 2003.

ZHANG, W.L. et al. Coffee consumption and risk of cardiovascular events and all-cause mortality among women with type 2 diabetes. **Diabetologia**, v.52, n.5, p.810–817, 2009.

Capítulo III

Atividade antioxidante e conteúdo de trigonelina, cafeína, ácido clorogênico e ácido ferúlico em frutos do Coffea arábica em diferentes estádios de maturação

Resumo

Alguns compostos de alimentos vegetais são considerados potentes antioxidantes *in vitro*. O café uma das bebidas mais consumidas no mundo apresenta diferentes compostos tais como a cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos, entre outros com diferentes ações benéficas a saúde humana. Este estudo objetivou a identificação e quantificação do conteúdo de trigonelina, cafeína, ácido clorogênico (ACG) e ácido ferúlico (AF) em relação à capacidade antioxidante de quatro variedades do *Coffea arabica* durante as principais fases de maturação e do café cereja descascado por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE), usando uma coluna C₁₈ e detector por arranjo de diodos (DAD). Teores elevados de trigonelina (0,81 – 1,19 g.100g⁻¹) e cafeína (0,62 – 1,15 g.100g⁻¹) foram observados para a variedade Acaiá e inferior para Obatã. Maior teor de ácido clorogênico foi encontrado nas variedades Acaiá e Catuaí Vermelho e menor para Obatã, contudo maior teor de ácido ferúlico foi identificado para Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho e menor para Acaiá. Verificou-se alta correlação positiva para o conteúdo de ACG e correlação negativa para cafeína em relação à capacidade antioxidante dos frutos e café cereja descascado de quatro variedades do café arábica. O conteúdo de trigonelina e AF não apresentaram correlação com a capacidade antioxidante. Conclui-se que maior atividade antioxidante está relacionada à presença de fenóis, especificamente o ácido clorogênico.

Palavras-chave: compostos do café, atividade antioxidante, estádios de maturação, *Coffea arabica*.

1. Introdução

O uso de antioxidantes sintéticos tem sido reduzido em consequência da ação carcinogênica, contudo os antioxidantes dietéticos extraídos de plantas têm atraído à atenção em vários estudos. Alguns compostos de alimentos vegetais são considerados

potentes antioxidantes *in vitro* e a sua ingestão está relacionada à redução de riscos de diversas doenças crônico-degenerativas (NATELLA et al., 2002; BALASUNDRAM et al., 2006; BOEING et al., 2012).

O café, uma das bebidas mais consumidas no mundo apresenta diferentes compostos tais como a cafeína, ácidos clorogênicos, ácidos hidroxicinâmicos potencialmente quimioprotetores devido a ação antioxidante (KUMAZAWA e MASUDA, 2003; LÓPEZ-GALILEA et al., 2007).

A cafeína é uma metilxantina, uma substância psicoativa e estimulante do sistema nervoso central mais consumida. Com características amargas, a sua concentração em *C. canephora* é o dobro da observada em *C. arabica* (SHLONSKY et al., 2003; FARAH, 2012).

Além da cafeína é encontrado no café a trigonelina, outro pseudoalcalóide de grande importância para o sabor e aroma da bebida (MALTA e CHAGAS, 2009). Os grãos de café arábica apresentam maiores teores de trigonelina quando comparados ao café robusta. Durante o processo de torrefação a trigonelina é degradada formando diversos compostos voláteis, entre eles destaca-se a niacina (ácido nicotínico), uma vitamina importante para o controle dos níveis de triglicérides, LDL colesterol e aumento do HDL colesterol e inibição da capacidade de invasão de células cancerígenas *in vitro* (TRUGO e MACRAE, 1984; SANTOS et al., 2001; HIRAKAWA et al., 2005).

Os ácidos clorogênicos são os principais componentes da fração fenólica do café, os quais são derivados da esterificação de ácidos *trans*-cinâmicos (cafeico, ferúlico e *p*-cumárico) com (-)-ácido quínico (CLIFFORD, 2000).

Nos últimos anos, estudos tem relatado que o consumo de café está associado ao menor risco de Diabetes tipo II, Parkinson, Alzheimer e câncer de fígado atribuído à

capacidade antioxidante e outros mecanismos dos ácidos clorogênicos (AGARDH et al., 2004; BRAVI et al., 2007; LINDSAY et al., 2002; RANHEIM e HALVORSEN, 2005).

Por conseguinte este estudo objetivou a identificação e quantificação mediante ao cromatógrafo a líquido de alta eficiência (CLAE) do conteúdo de trigonelina, cafeína, ácido clorogênico e ácido ferrúlico em relação à atividade antioxidante de quatro cultivares do *Coffea arabica* durante as principais fases de maturação (verde, verde-cana, cereja e passa) e do café cereja descascado.

2. Material e Métodos

2.1 Características das amostras

Os cultivares *Acaiá*, *Obatã*, *Catuaí Amarelo* e *Catuaí Vermelho* (*Coffea arabica* L.) da safra de 2013/2014 foram adquiridas na Fazenda Monte Alto (Café Helena), localizado na região de Dourado/SP. Cerca de 500g dos frutos para cada estágio de maturação (verde, cereja, passa/seco e grão cereja descascado) de cada cultivar foram colhidas na época de colheita realizada pela fazenda. Os estágios de maturação dos frutos foram determinados segundo a escala fenológica proposta por Pezzopane et al. (2003). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Após a colheita 20g dos frutos de cada estágio e cultivar foram empacotados em embalagens de polietileno, selados e armazenados a -80° C. Os frutos foram triturados com auxílio de nitrogênio líquido e posteriormente liofilizados (LABCONGO) e tamizados a 30 mesh.

Esse estudo utilizando frutos do cafeeiro e o cereja descascado foi realizado no Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas- UNESP de Araraquara.

2.2 Análise de Compostos Bioativos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Extração dos Compostos Bioativos e capacidade antioxidante do café

Para a obtenção dos extratos das amostras, utilizou-se a metodologia descrita por Hecimovic et al. (2011), com algumas modificações. Pesou-se 0,5 g da amostra com 50 ml de água deionizada em banho-maria (Quimis) à 90°C por 10 min. Após extração, as amostras foram arrefecidas em água fria e centrifugado durante 10 min. a 8.000 rpm. Utilizou-se o sobrenadante para os procedimentos de identificação e quantificação dos compostos bioativos e atividade antioxidante.

2.3 Determinação da atividade sequestrante de radicais livres

2.3.1 Método DPPH

A atividade sequestrante de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi determinada de acordo com o método de Brand-Williams, Cuperlier e Berset (1995) com modificações. Os extratos (0,1mL) reagiram com 3,9 mL de uma solução metanólica do radical DPPH (0,06 mM). E utilizando como branco álcool metílico, controle a solução extratora (água deionizada) e a solução metanólica do radical DPPH na mesma proporção da amostra. Após 30 min de reação sem contato de luz, fez-se a leitura da absorbância da solução resultante em espectrofotômetro (DU 640, Beckman) a 515 nm. Preparou-se uma curva de calibração de trolox (0,5 – 4,5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) ($y=0,1025x-0,0099$; $r^2=0,9929$) como referência e os valores obtidos foram expressos g de trolox (TEAC). 100g^{-1} de base seca (b.s).

2.3.2 Método ABTS

As análises da atividade sequestrante de radicais livres ABTS foi determinada segundo o método descrito por Rufino et al. (2010). O radical ABTS foi preparado a partir da reação de 5 mL da solução de estoque de ABTS com 88 µL de persulfato de potássio, que permaneceu no escuro em temperatura ambiente por 16 horas. Diluiu-se 1mL da mistura em álcool etílico até obter absorbância de 0,70 a 734nm, utilizado apenas no dia da análise. Em ambiente escuro 30 µL do extrato foram adicionados em 3 mL do radical ABTS. Após 6 min fez-se a leitura em espectrofotômetro (DU 640, Beckman) a 734 nm. Como branco foi utilizado o álcool etílico para calibração do equipamento. O mesmo procedimento foi adotado para a solução padrão de trolox ($0,5 - 5 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$) ($y=0,1097x+0,004$; $r^2=0,9998$). Os resultados foram expressos em g de TEAC. 100g^{-1} de base seca (b.s).

2.4 Identificação e Quantificação dos Compostos Bioativos por CLAE

Os compostos bioativos foram determinados através do cromatógrafo a líquido de alta eficiência (Shimadzu, Kyoto, Japan) controlado pelo software Class-VP, com bomba quaternária, injetor automático, detector por arranjo de diodos (DAD) e coluna Thermo® C₁₈ (250 mm X 4,6, 5 µm). A coluna foi mantida a 25°C, o volume de injeção foi de 20 µL e utilizou-se fase móvel de ácido acético 2% (A) e acetonitrila (B) com a seguinte gradiente: inicialmente em 0 – 7 min 10% de B; 7 – 15 min 15% de B; 15 – 32 min 55% de B; 32 – 38 min 75% de B; 38 – 50 min 10% de B; com vazão de 0,5 mL/min. As fases móveis, padrões e amostras foram filtradas antes da injeção em membrana filtrante 0,22 µm.

Para a detecção utilizou-se os comprimentos de onda de 265, 270 e 325 nm. A identificação dos compostos foi realizada por comparação com o tempo de retenção e

espectros de absorção pelo DAD das amostras e padrões. As curvas de calibração de trigonelina ($23,2 - 232 \mu\text{g.mL}^{-1}$), cafeína ($26 - 260 \mu\text{g.mL}^{-1}$), ácido clorogênico ($10,3 - 61,8 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e ácido ferúlico ($3,48 - 43,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Os resultados foram expressos em g.100g^{-1} b.s.

3. *Análise dos Resultados*

Os resultados foram analisados pelo programa ORIGIN[®] 8.0 através análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey. Utilizou-se o teste de Correlação de Pearson para estudar a relação entre os compostos bioativos e capacidade antioxidante. Os níveis de probabilidade menores que 5% ($p < 0,05$) foram consideradas estatisticamente significativas.

4. *Resultados e Discussão*

4.1 *Teor de trigonelina, cafeína, ácido clorogênico, ácido ferúlico e atividade antioxidante*

Os compostos dos extratos de café arábica apresentaram detecção em 270nm e 324nm em seus respectivos tempo médio de retenção, sendo em 270 nm a trigonelina (4,53 min.) e cafeína (12,64 min.), e em 324 min. o ACG (10,21 min.) e AF (22,02 min.).

Os quatro compostos do café foram identificados a partir de seus espectros em comparação aos padrões em 270 nm de trigonelina (4,66 min.) e cafeína (13,38 min.), e em 324nm de ACG (10,46 min.) e AF (21,45 min.). Não foram identificados nas amostras os ácidos cafeico e *p*-cumárico.

O teor de cafeína na tabela 8 mostrou uma diminuição da concentração durante a maturação dos frutos de café. Maior teor foi obtido nos estádios de maturação verde e verde-cana, entretanto o cultivar Obatã não mostrou uma redução significativa ($p>0,05$) deste composto durante a maturação dos frutos.

Valores semelhantes de trigonelina foram encontrados para os frutos nos estádios verde, verde-cana e cereja ($p>0,01$) dos cultivares de café, embora o teor destes compostos para o Acaiá tenha sido inferior para os frutos verde e verde-cana. Entre os cultivares maior teor de trigonelina e cafeína foram obtidos de forma decrescente para o Acaiá>Obatã>Catuaí Amarelo>Catuaí Vermelho.

Para o café cereja descascado (tabela 9) não houve diferença ($p>0,05$) para o conteúdo de trigonelina entre os cultivares, logo que para cafeína maior teor foi encontrado para o Acaiá (2,52g/100g b.s) e menor para o Catuaí Vermelho (1,98g.100g⁻¹ b.s).

Os teores encontrados de trigonelina e cafeína nos frutos do cafeeiro estão de acordo com os identificados na literatura para grãos de café arábica verde, cru e torrado de 0,6 – 2,0g trigonelina.100g⁻¹ b.s e 0,9 – 1,3g cafeína.100g⁻¹ b.s (CLIFFORD, 1985; MAZZAFERA, 1991; TOCI et al., 2006; PERRONE et al., 2008; FARAH, 2012).

Os resultados da tabela 8 para ácido clorogênico e ácido ferúlico mostram haver diferenças significativas dos frutos de café colhidos durante seus estádios de maturação, apenas para o cultivar Acaiá não foi observada diferença ($p>0,05$) durante a maturação dos frutos. Para o Catuaí Amarelo maior teor de ácido clorogênico e ácido ferúlico foi encontrado no fruto passa com 2,54g ACG.100g⁻¹ b.s e 108,97mg AF.100g⁻¹ b.s ($p<0,05$). Os frutos verde-cana, cereja e passa do Catuaí Vermelho foram diferentes estatisticamente ($p<0,05$) do fruto verde que obteve menor teor de ACG, não foi identificado AF nos frutos verde, contudo o verde-cana e o passa apresentam maior teor

diferindo do cereja ($p < 0,05$). O cultivar Obatã nos estádios verde-cana e cereja apresentaram maior teor de ácido clorogênico em relação aos frutos verde e passa ($p < 0,05$), relativamente para AF o verde e verde-cana mostraram teor elevado quanto ao cereja e passa. Maior teor de ACG foi encontrado nos cultivares Acaiá e Catuaí Vermelho e menor para Obatã, contudo maior teor de AF foi identificado para Catuaí Amarelo $\geq$ Catuaí Vermelho $>$ Obatã $>$ Acaiá.

Na tabela 9 para café cereja descascado, no que se refere ao teor de ACG, o Acaiá mostrou-se superior aos demais cultivares, em menor proporção para o Catuaí Vermelho. Em relação ao AF, aos cultivares Catuaí Amarelo e Vermelho apresentaram maior teor, diferenciando ($p < 0,05$) do Acaiá e Obatã.

Tabela 8. Conteúdo de compostos bioativos e atividade sequestrante do radical DPPH e ABTS de frutos de quatro cultivares do *Coffea arabica* em seus principais estádios de maturação.

Cultivares	Estádios de Maturação	¹ Trigonelina	¹ Cafeína	¹ Ácido Clorogênico	² Ácido Ferrúlico	³ DPPH	³ ABTS
Acaiaí	Verde	0,97 ± 0,02 ^{Bb}	1,15 ± 0,00 ^{Aa}	2,09 ± 0,09 ^{Aab}	50,41 ± 0,87 ^{Bb}	7,42 ± 0,14 ^{Aa}	4,51 ± 0,10 ^{Aa}
	verde-cana	1,19 ± 0,00 ^{Aa}	1,03 ± 0,05 ^{Aa}	1,76 ± 0,16 ^{ABa}	69,81 ± 5,00 ^{Ab}	4,37 ± 0,09 ^{Da}	3,22 ± 0,06 ^{Ca}
	Cereja	1,06 ± 0,02 ^{ABab}	0,79 ± 0,02 ^{Bc}	1,59 ± 0,03 ^{ABb}	63,71 ± 1,12 ^{ABb}	5,62 ± 0,09 ^{Ca}	3,73 ± 0,03 ^{Bc}
	Passa	0,99 ± 0,06 ^{Ba}	0,62 ± 0,05 ^{Cb}	1,52 ± 0,16 ^{Bb}	56,76 ± 6,39 ^{ABb}	6,54 ± 0,10 ^{Ba}	3,55 ± 0,08 ^{Ba}
Catuaí Amarelo	Verde	1,08 ± 0,01 ^{Aab}	1,06 ± 0,01 ^{Aa}	1,07 ± 0,02 ^{Cb}	74,63 ± 0,85 ^{Ba}	5,10 ± 0,21 ^{Ab}	3,88 ± 0,10 ^{Aab}
	verde-cana	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
	Cereja	1,04 ± 0,00 ^{Aac}	0,91 ± 0,02 ^{Bb}	1,28 ± 0,04 ^{Bc}	64,34 ± 0,17 ^{Cb}	4,89 ± 0,06 ^{Ab}	4,02 ± 0,06 ^{Aa}
	Passa	0,94 ± 0,02 ^{Ba}	0,78 ± 0,02 ^{Cb}	2,54 ± 0,02 ^{Aa}	108,97 ± 0,64 ^{Aa}	5,34 ± 0,21 ^{Ab}	3,87 ± 0,05 ^{Ab}
Catuaí Vermelho	Verde	1,01 ± 0,05 ^{Aab}	1,09 ± 0,05 ^{Aa}	1,32 ± 0,22 ^{Bb}	n.i	4,18 ± 0,12 ^{ABc}	3,38 ± 0,55 ^{Ab}
	verde-cana	0,96 ± 0,01 ^{ABb}	1,01 ± 0,02 ^{Aa}	2,11 ± 0,03 ^{Aa}	96,69 ± 2,54 ^{Aa}	3,77 ± 0,13 ^{BCb}	3,03 ± 0,15 ^{Aa}
	Cereja	0,96 ± 0,02 ^{ABd}	0,79 ± 0,01 ^{Bc}	1,67 ± 0,01 ^{ABab}	79,29 ± 1,68 ^{Ba}	4,35 ± 0,18 ^{Ac}	3,00 ± 0,06 ^{Ab}
	Passa	0,87 ± 0,00 ^{Ba}	0,76 ± 0,00 ^{Bb}	1,73 ± 0,00 ^{ABb}	95,72 ± 1,54 ^{Aa}	3,90 ± 0,04 ^{ACbc}	3,36 ± 0,06 ^{Aa}
Obatã	Verde	1,10 ± 0,02 ^{Aa}	1,13 ± 0,02 ^{Aa}	1,36 ± 0,03 ^{Bb}	79,16 ± 3,11 ^{Aa}	2,06 ± 0,06 ^{Bd}	3,43 ± 0,13 ^{Ab}
	verde-cana	1,17 ± 0,00 ^{Aa}	1,08 ± 0,01 ^{ABa}	1,62 ± 0,04 ^{Ab}	77,50 ± 3,74 ^{Ab}	2,29 ± 0,04 ^{Cc}	3,35 ± 0,32 ^{Aa}
	Cereja	0,99 ± 0,016 ^{ABcd}	1,02 ± 0,00 ^{ABa}	1,74 ± 0,03 ^{Aa}	65,62 ± 0,39 ^{Bb}	2,87 ± 0,08 ^{Bd}	2,93 ± 0,10 ^{Ab}
	Passa	0,81 ± 0,08 ^{Ba}	0,99 ± 0,06 ^{Ba}	1,16 ± 0,07 ^{Cc}	37,32 ± 1,73 ^{Cc}	4,20 ± 0,06 ^{Ac}	3,54 ± 0,08 ^{Aa}

*Média ± Desvio-Padrão, n.a – não determinado. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna ou mesma letra minúscula na linha não diferem entre si, pelo teste Tukey (p>0,05). ¹g.100g⁻¹ b.s, ²mg.100g⁻¹ b.s, ³g TEAC.100g⁻¹ b.s.

O teor médio de ACG pode variar de 4,1 – 7,9 g/100g b.s para o café arábica despulpado e verde submetidos à secagem, no entanto o teor encontrado foi inferior aos citados literatura (TRUGO e MACRAE, 1984; MALTA et al., 2009; FARAH, 2012). O ácido clorogênico é o composto fenólico de maior teor e interesse no café, devido às funções farmacológicas atribuídas principalmente à capacidade antioxidante (CLIFFORD, 1999; DUARTE et al., 2005). O conteúdo total de ACG difere-se em função da espécie, variedade do café, da técnica de extração e da análise empregada (MOREIRA et al., 2000). Em relação ao AF os teores encontrados no presente estudo foram superiores aos identificados na literatura de 25,0 – 33,0 mg.100g⁻¹ b.s (TRUGO e MACRAE, 1984; CLIFFORD e RAMIREZ-MARTINEZ, 1991; KY et al., 1997; BICHO et al., 2013).

Quanto à atividade sequestrante do radical DPPH (tabela 8), o cultivar Acaiá foi superior em comparação aos demais cultivares, e entre os estádios de maturação com maior atividade para o fruto verde (7,42g.100g⁻¹ b.s) e menor para o fruto verde-cana (4,37g.100g⁻¹ b.s) (p<0,05). Menor atividade antioxidante foi obtido para o cultivar Obatã, diferindo estatisticamente entre (p<0,05) os estádios de maturação e os cultivares analisados, sendo que o fruto passa não apresentou diferença (p>0,05) quando comparado com o mesmo estágio do Catuaí Vermelho.

O Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho apresentaram atividade antioxidante intermediária. Entre os cultivares em seus estádios de maturação segue a ordem decrescente da atividade antioxidante para o fruto verde, verde-cana e cereja Acaiá>Catuaí Amarelo>Catuaí Vermelho>Obatã (p<0,05), sendo que para o passa o Catuaí Vermelho e Obatã não foram diferentes significativamente (p>0,05).

Pelo método ABTS, a atividade antioxidante entre os cultivares e os seus respectivos estádios de maturação foram próximos. Maior atividade foi obtida para os

cultivares Acaiá e Catuaí Amarelo ($p>0,05$) seguido do Catuaí Vermelho e Obatã ($p>0,05$).

Tabela 9. Médias do teor de compostos bioativos e atividade sequestrante do radical DPPH e ABTS do café cereja descascado de cultivares do *Coffea arabica*.

Cultivares	Trigonelina	Cafeína	Ácido Clorogênico	Ácido Ferúlico	DPPH	ABTS
Acaiá	$0,97 \pm 0,01^a$	$0,95 \pm 0,01^{bc}$	$2,52 \pm 0,04^a$	$97,20 \pm 2,98^b$	$7,32 \pm 0,09^a$	$4,26 \pm 0,04^a$
Catuaí Amarelo	$0,91 \pm 0,03^a$	$1,07 \pm 0,02^a$	$2,20 \pm 0,00^b$	$103,07 \pm 0,10^{ab}$	$6,02 \pm 0,09^b$	$3,69 \pm 0,05^{ab}$
Catuaí Vermelho	$0,92 \pm 0,15^a$	$0,96 \pm 0,01^b$	$1,98 \pm 0,03^c$	$108,03 \pm 0,18^a$	$4,74 \pm 0,27^c$	$3,31 \pm 0,32^b$
Obatã	$0,81 \pm 0,00^a$	$0,88 \pm 0,02^c$	$2,21 \pm 0,02^b$	$84,19 \pm 1,02^c$	$2,31 \pm 0,22^d$	$2,54 \pm 0,23^c$

*Média $\pm$ Desvio-Padrão. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna diferem entre si, pelo teste Tukey ($p>0,05$). ¹g.100g⁻¹ b.s, ²mg.100g⁻¹ b.s, ³g TEAC.100g⁻¹ b.s.

Na tabela 9 quanto ao café cereja descascado, maior atividade sequestrante pelo radical DPPH foi obtido para o cultivar Acaiá>Catuaí Amarelo>Catuaí Vermelho>Obatã. Para os resultados da análise de ABTS, maior atividade foi observada entre os cultivares Acaiá, Catuaí Amarelo seguido do Catuaí Vermelho que foi diferente significativamente do primeiro cultivar ($p<0,05$) e menor atividade antioxidante foi obtida para o Obatã ($p<0,05$).

Existem diferentes métodos na literatura que medem a atividade antioxidante em alimentos, entretanto todos os métodos são dependentes de vários parâmetros, incluindo tempo, temperatura, natureza da substância, concentração dos antioxidantes e outros compostos, o que muitas vezes dificulta a comparação dos resultados com outros estudos (ANTOLOVICH et al.; 2002; ROGINSKY e LISSI, 2005). Portanto a avaliação da atividade antioxidante não pode ser representada por um único método, pois cada

composto de uma determinada amostra apresenta diferentes mecanismos antioxidantes (VIGNOLI et al., 2013).

4.2 Correlação entre trigonelina, cafeína, ácido clorogênico e ácido ferrúlico e atividade antioxidante do café

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se alta correlação positiva para o conteúdo de ácido clorogênico e correlação negativa para cafeína em relação à capacidade antioxidante dos frutos e café cereja descascado de quatro variedades do café arábica. O conteúdo de trigonelina e ácido ferúlico não apresentaram correlação com a atividade antioxidante.

Tabela 10. Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre compostos bioativos e atividade antioxidante de cultivares do *Coffea arabica* durante a maturação dos frutos e cereja descascado.

Compostos bioativos	^a ABTS	^a DPPH
¹ Trigonelina	0.20516	0.096542
¹ Cafeína	-0.50453	-0.81235
¹ Ácido Clorogênico	0.75939	0.96044
² Ácido Ferúlico	0.36255	0.197123

¹g.100g⁻¹ b.s, ²mg.100g⁻¹, ^ag TEAC.100g⁻¹ b.s

Muitos benefícios à saúde estão atribuídos à atividade antioxidante do café em virtude do conteúdo de compostos fenólicos identificados como ácido clorogênico, ferúlico, cafeico e cumárico (BELITZ et al., 2009; RICHELLE et al., 2001; NICOLI et al., 1997).

A trigonelina é encontrada em maiores teores nos grãos crus e contribui para o aroma do café por meio da formação de produtos da degradação durante os procedimentos de torra. Entretanto o café é o único alimento que durante o procedimento drástico de torrefação é degradada em piridinas, N-metilpirrol e a vitamina niacina importante para o metabolismo humano (NOGUEIRA e TRUGO, 2003; TRUGO e MACRAE, 1984).

A cafeína é conhecida pelas suas propriedades farmacológicas e fisiológicas principalmente pelas suas propriedades estimulantes e é o único componente do café que apresenta maior estabilidade durante os procedimentos de torra do grão (ALVES et al., 2006; FARAH et al., 2006). Segundo LÓPEZ-GALILEA et al. (2007) a cafeína contribuiu significativamente para a capacidade antioxidante de bebidas de café. Estudos relatam que a capacidade antioxidante de bebidas de café é potencializada com a torrefação que pode estar relacionada ao desenvolvimento de novos compostos antioxidantes (DAGLIA et al., 2000; LIMA et al., 2010) . Embora o ácido clorogênico e a cafeína sejam indicados como compostos potencialmente antioxidantes (LEE, 2000), os resultados indicam que o teor de cafeína não interfere na atividade antioxidante da amostra, entretanto o conteúdo de ácido clorogênico está diretamente relacionado à ação antioxidante dos frutos de café.

5. Conclusão

Os resultados obtidos mostraram que os frutos verde e verde-cana das variedades analisadas apresentaram maior teor de cafeína, contudo maior teor de trigonelina e cafeína foram encontrados no cultivar Acaiá e menor no Catuaí Vermelho.

Maior teor de ácido clorogênico (ACG) foi encontrado nos cultivares Acaiá e Catuaí Vermelho e menor para Obatã e para ácido ferúlico (AF) maior teor em Catuaí Amarelo e menor no Acaiá.

A atividade sequestrante de radicais DPPH e ABTS não foi diferente significativamente ($p>0,05$) entre os estádios de maturação dos cultivares Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho diferindo do Acaiá com maior ação antioxidante no fruto verde e para o Obatã no estágio de maturação passa.

Com base nos resultados da correlação dos compostos bioativos analisados e a atividade antioxidante destes, conclui-se que maior ação está relacionada à presença de ácido clorogênico.

6. Referências

AGARDH, E. E. et al. Coffee consumption, type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in Swedish men and women. **J. Intern. Med.**, v.255, p.645–652, 2004.

ALVES, S.T. et al. Metodologia para a análise simultânea de ácido nicotínico, trigonelina, ácido clorogênico e cafeína em café torrado por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química nova**, São Paulo, v.29, n.6, p. 1164 – 1168, 2006.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191–203, 2006.

BELITZ, H.D.; GROSH, W.; SCHIEBERLE, P. Coffee, Tea, Cocoa. Food Chemistry, New York. **Springer-Verlag: Heidelberg**, Berlin, Germany, 2009.

BOEING, H., et al. Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. **Eur. J. Nutr.**, v. 51, p. 637–663, 2012.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M., E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss Technol.**, v. 22, p. 25-30, 1995.

BRAVI, F. et al. Coffee drinking and hepatocellular carcinoma risk: a meta-analysis. **Hepatology**, v.46, p.430–435, 2007.

CLIFFORD, M.N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: Clifford MN, Willson KC (eds), *Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage*, Croom Helm, London, p. 305-374, 1985.

CLIFFORD MN; RAMIREZ-MARTINEZ JR. Phenols and caffeine in wet-processed coffee beans and coffee pulp. **Food Chem.** 40:35-42, 1991.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 363-372, 1999.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism, **J. Sci. Food Agric.**, v.80, p.1033–1043, 2000.

DAGLIA, M. et al. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **J Agric Food Chem.**, v.48, n.5, p.1449-54, 2000.

DOBRINAS, S. et al. Optimisation of a UV-Vis spectrometric method for caffeine analysis in tea, coffee and other beverages. **St. Cerc. St. CICBIA**, v. 14, n. 2, 2013.

DUARTE, S. M. S. et al. Effect of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee brews. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 387-393, 2005.

FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry, London**, v.98, n.2, p.373 – 380, 2006.

FARAH, A. Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention. In: Coffee Constituents. First Edition. Edited by Yi-Fang Chu, John Wiley & Sons, Blackwell Publishing Ltd, cap.2, p. 21-50, 2012.

HECIMOVIĆ, I. et al. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting, **Food Chemistry**, v. 129, p. 991–1000, 2011.

HIRAKAWA, N. et al. Anti-invasive activity of niacin and trigonelline against cancer cells. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 69, p.653–658, 2005.

LEE, C. Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. **Clin Chim Acta**, v. 295, n.1-2, p.141-54, 2000.

LIMA, A.R.; PEREIRA, R.G.F.A.; ABRAHÃO, S.A. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Quim. Nova**, v. 33, n. 1, p.20-24, 2010.

LINDSAY, J. et al. Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian study of health and aging. **Am. J. Epidemiol.**, v.156, p.445–453, 2002.

LÓPEZ-GALILEA, I.; DE PEÑA, M.P.; CID, C. Correlation of Selected Constituents with the Total Antioxidant Capacity of Coffee Beverages: Influence of the Brewing Procedure. **J. Agric. Food Chem.**, v.55, p.6110–6117, 2007.

MALTA, M.R.; CHAGAS, S.J.R. Avaliação de compostos não voláteis em diferentes cultivares de cafeeiro produzidas na região sul de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.31, n.1, p.57-61, 2009.

MAZZAFERA P. Trigonelline in coffee. **Phytochemistry**, v. 30, p. 2309-2310, 1991.

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

NATELLA, F. et al. Coffee Drinking Influences Plasma Antioxidant Capacity in Humans. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 6211-6216, 2002.

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

PERRONE, D.; DONANGELO, C.M.; FARAH, A. Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography–mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 110, p.1030–1035, 2008.

PEZZOPANE, J., R., M. et al. Escala para avaliação de estádios fenológicos do cafeeiro arábica. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.3, p.499-505, 2003.

RANHEIM, T., HALVORSEN, B. Coffee consumption and human health—beneficial or detrimental? Mechanisms for effects of coffee consumption on different risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. **Mol. Nutr. Food Res.**, v.49, p.274–284, 2005.

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

ROGINSKY, V.; LISSI, E.A. Review of methods to determinate chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chem.** 2005, 92, 235–254.

RUFINO, M., S. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p: 144-158, 1965.

SHLONSKY, A. K., KLATSKY, A., ARMSTRONG, A. Traits of persons who drink decaffeinated coffee. **Ann. Epidemiol.**, v.13, p. 273–279, 2003.

TOCI, A.; FARAH, A.; TRUGO, L.C. Efeito do processo de descafeinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés arábica e robusta antes e após a torração. **Quim. Nova**, Vol. 29, No. 5, 965-971, 2006.

TRUGO LC; MACRAE R. A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. **Food Chem.** 15:219-227, 1984.

KUMAZAWA, K.; MASUDA, H. Investigation of the change in the flavor of a coffee drink during heat processing. **J Agric Food Chem.**, v.51; n.9, p. 2674-8, 2003.

KY, CL; NOIROT, M.; HAMON, S. Comparison of Five Purification Methods for Chlorogenic Acids in Green Coffee Beans (*Coffea* sp.). **J. Agric. Food Chem.**, p. 786–790, 1997