

PAULO ROBERTO APARECIDO BUENO DE TOLEDO

*Relação entre qualidade, rastreabilidade e compostos voláteis de grãos de café arábica torrados de diversas regiões brasileiras.*

Tese de Doutorado apresentada ao programa de Pós-graduação do Instituto de Química, da Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Pezza

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Aline Theodoro Toci

**Araraquara**

**2018**

FICHA CATALOGRÁFICA

T649r Toledo, Paulo Roberto Aparecido Bueno de  
Relação entre qualidade, rastreabilidade e compostos voláteis  
de grãos de café arábica torrados de diversas regiões brasileiras /  
Paulo Roberto Aparecido Bueno de Toledo. –  
Araraquara : [s.n.], 2018  
214 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto  
de Química  
Orientador: Leonardo Pezza  
Coorientador: Aline Theodoro Toci

1. Café - Cultivo. 2. Aroma. 3. Café - Torrefação. 4. Controle de  
qualidade. 5. Geografia regional. I. Título.

Elaboração: Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação  
Biblioteca do Instituto de Química, Unesp, câmpus de Araraquara

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Relação entre qualidade, rastreabilidade e compostos voláteis de grãos de café arábica torrados de diversas regiões brasileiras"

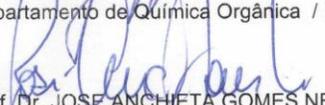
AUTOR: PAULO ROBERTO AP BUENO DE TOLEDO

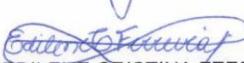
ORIENTADOR: LEONARDO PEZZA

COORIENTADORA: ALINE THEODORO TOCI

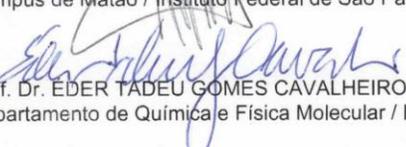
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. LEONARDO PEZZA  
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

  
Prof. Dr. JOSE ANCHIETA GOMES NETO  
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

  
Prof.ª. Dr.ª. EDILENE CRISTINA FERREIRA  
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

  
Prof. Dr. ARISTEU GOMES TININIS  
Campus de Matão / Instituto Federal de São Paulo - IFSP - Matão

  
Prof. Dr. EDER TADEU GOMES CAVALHEIRO  
Departamento de Química e Física Molecular / Instituto de Química - USP - São Carlos

Araraquara, 20 de fevereiro de 2018

## DADOS CURRICULARES

### Formação Acadêmica

**Graduação:** Licenciatura em Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP Instituto de Química – Araraquara Período: 2003 a 2007

**Pós-Graduação:** Mestrado em Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP Instituto de Química – Araraquara Período: 2012 a 2014.

### Artigos aceitos/publicados:

A1) Toledo, P.R.A.B., de Melo, M. M.R., Pezza H.R., Toci, A.T., Pezza L., Silva C.M. “Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of coffee: from lab trends to exploitable results” manuscrito em fase de finalização, em fase final de escrita, será submetido na Journal of Supercritical Fluids (Fator de impacto: 2.991)

A2) Toledo, P.R.A.B., Toci, A. T., Pezza, H. R., & Pezza, L. (2017). Fast and simple method for identification of adulteration of cow's milk with urea using diffuse reflectance spectroscopy. *Analytical Methods*, 9, 6357-6364. Submetido (04/10/2017) e aceito (28/10/2017) (Fator de impacto: 1.900)

A3) Toledo, P.R.A.B., Toci, A. T., Pezza, H. R., & Pezza, L. (2017). Green Determination of Urea in Moisturizers by Diffuse Reflectance Spectroscopy. *Analytical Letters*, 50(12), 2030-2043. Aceito (29/07/2017) (Fator de impacto: 1.088)

A4) Toci, A. T., de Moura Ribeiro, M. V., de Toledo, P.R.A.B., Boralle, N., Pezza, H. R., Pezza, L. (2018) Fingerprint and authenticity roasted coffees by 1 H-NMR: the Brazilian coffee case. *Food Science and Biotechnology*, 27,19-26. (Fator de impacto: 0.699)

A5) Toledo, P. R.A.B., de Melo, M. M., Pezza, H. R., Pezza, L., Toci, A. T., & Silva, C. M. (2017). Reliable discriminant analysis tool for controlling the roast degree of coffee samples through chemical markers approach. *European Food Research and Technology*, 243(5), 761-768 e aceito (21/09/2016) (Fator de impacto: 1.433)

A6) Toledo, P.R.A.B, de Melo, M. M., Pezza, H. R., Toci, A. T., Pezza, L., & Silva, C. M. (2017). Discriminant analysis for unveiling the origin of roasted coffee samples: A tool for quality control of coffee related products. *Food Control*, 73, 164-174. Submetido (13/01/2015) e aceito (01/08/2016) (Fator de impacto: 3.388)

A7) Toledo, P.R.A.B, Pezza, L., Pezza, H. R., & Toci, A. T. (2016). Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 705-719. Doi: 10.1111/1541-4337.12205 – Submetido (12/12/2015) e aceito (04/3/2016) (Fator de impacto: 4.903)

### **Capítulo em livro:**

C1) Toledo, P.R.A.B., de Melo, M. M.R., Pezza H.R., Toci, A.T., Pezza L., Silva C.M. “Control of coffee samples quality - Geographic and Roasting Factors” in *Coffee: Production, Consumption and Health Benefits*. Editora: Nova Publications, pp. 51-66. ISBN: 978-1-63484-714-8 (Maio/2016)

### **Participação em eventos científicos:**

Toledo, P.R.A.B; Melo, M.M.R.; TOCI, A. T.; Pezza, H. R.; Pezza, L; Silva, C. M. Análise discriminante como ferramenta para controle de qualidade de café torrado. 2017. Apresentação de Trabalho/Congresso no evento intitulado Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, realizado em Poços de Caldas -MG – Brasil.

Toledo, P.R.A.B; Melo, M.M.R.; Toci, A. T.; Pezza, H. R.; Pezza, L; Silva, C. M. Otimização de parâmetros operacionais e análise de perfil aromático de extratos supercríticos de cafés gourmet brasileiros. 2016. Apresentação de Trabalho/Congresso no evento intitulado 18º ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica realizado em Florianópolis-SC – Brasil.

Toledo, P.R.A.B; Melo, M.M.R.; Toci, A. T.; Pezza, H. R.; Pezza, L; Silva, C. M. Análise discriminante para rastreamento da origem das amostras de café torrado: uma ferramenta para um controle de qualidade abrangente de produtos relacionados com café. 2016. Apresentação de Trabalho/Congresso no evento intitulado 18º ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica realizado em Florianópolis-SC – Brasil.

Participação do seminário intitulado “New Challenges of Gas Chromatograph” ministrado no Hotel Holiday Inn, situado em Gaia/Porto, no dia 26 de maio de 2015.

Participação do Analytical Chemistry Symposium intitulado “Environmental Occurrence, Effects and Removal of Pharmaceuticals”, realizado na Universidade de Aveiro, no dia 26 de junho de 2015.

Participação do Workshop intitulado “ASTHMA management: New achievements and current challenges”, realizado na Universidade de Aveiro, 30 de setembro de 2015.

Participação do evento: "Ciência em 3 Atos" organizado pela Fundação Francisco Manuel dos Santos, devotado a discussão da ciência em Portugal. O evento foi realizado em Braga no dia 19 de novembro de 2015.

### **Supervisão de Iniciação Científica**

Supervisão do aluno André Pinotti, do projeto PIBIB intitulado “Desenvolvimento de metodologia analítica ambientalmente amigável, simples e rápida para a determinação de adulterantes em café”.

### **Revisor de periódico**

2017- Atual: Food Science and Biotechnology

## **Resumos apresentados em congresso científico:**

Toledo, P.R.A.B; Melo, M.M.R.; Toci, A. T.; Pezza, H. R.; Pezza, L; Silva, C.M. Análise discriminante como ferramenta para controle de qualidade de café torrado. 2017. Apresentação de Trabalho/Congresso no evento intitulado Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, realizado em Poços de Caldas -MG – Brasil.

Toledo, P.R.A.B; Melo, M.M.R.; Toci, A. T.; Pezza, H. R.; Pezza, L; Silva, C.M. Otimização de parâmetros operacionais e análise de perfil aromático de extratos supercríticos de cafés gourmet brasileiros. 2016. Apresentação de Trabalho/Congresso no evento intitulado 18° ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica realizado em Florianópolis-SC – Brasil.

Toledo, P.R.A.B; Melo, M.M.R.; Toci, A. T.; Pezza, H. R.; Pezza, L; Silva, C.M. Análise discriminante para rastreamento da origem das amostras de café torrado: uma ferramenta para um controle de qualidade abrangente de produtos relacionados com café. 2016. Apresentação de Trabalho/Congresso no evento intitulado 18° ENQA - Encontro Nacional de Química Analítica realizado em Florianópolis-SC – Brasil.

Alonso, G.G.; Ribeiro, M.V.M.; Toledo, P.R.A.B.; Milani, M.I.; Pezza, H.R.; Pezza, L. Desenvolvimento de uma metodologia analítica ambientalmente mais benigna na determinação de iodato em sais de cozinha por spot test-reflectância difusa. 55° Congresso Brasileiro de Química, 2015, Goiânia-GO. (Apresentação em pôster)

Alonso, G.G.; Ribeiro, M.V.M.; Toledo, P.R.A.B.; Pezza, H.R.; Pezza, L. Desenvolvimento de uma metodologia analítica ambientalmente mais benigna na determinação de iodato em sais de cozinha por spot test-reflectância difusa. XXVII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2015, Araraquara-SP. (Apresentação em pôster)

### **3. Atuação Profissional**

3.1. Professor de química da rede municipal de ensino na cidade de Matão/SP (2009-2012)

Enquadramento Funcional: Professor PEBII

## DEDICATÓRIA

Essa etapa marcante da minha vida foi iniciada em março de 2014, ano que entrei no doutorado no Instituto de Química- UNESP Araraquara, recém-saído do mestrado. O primeiro ano foi trabalhoso, projeto novo, disciplinas e muitas informações novas. Nos anos seguintes, meus amigos, tanto do Brasil quanto do Exterior, foram determinantes para aumentar minha motivação, permitindo-me ser o melhor que conseguisse ser. No segundo ano em Portugal, um leque de desafios e oportunidades surgiram, tive uma visão mais ampla do mundo, fiz novas amizades que perdurarão para sempre, tive experiências novas, inesquecíveis e únicas que sempre lembrarei com muito carinho. Enganam-se aqueles que pensarem que foi um percurso fácil, aquele que percorri. Quem faz um doutorado vive dos resultados que obtém, porém nem sempre estes resultados são aqueles esperados, e é isso que nos diferencia e que nos dá mérito perante aos outros. A verdade é que estou muito feliz por isto, estar finalmente concluindo esta etapa, não porque chega literalmente ao fim, mas porque finalmente atingi um objetivo que me propus cumprir. Confesso que a sorte também esteve sempre comigo e, sorte de ter pessoas incríveis ao meu lado, e soube aproveitar o que a vida me foi dando. Talvez muitos tenham pensado que, mesmo com sorte, era impossível tudo isto me ter acontecido. Pois bem, quando as expectativas são baixas as surpresas são ainda maiores. Dedico também esta conquista a todos que fizeram parte dessa etapa da minha vida, fazendo do percurso a ser caminhado mais leve e feliz, sem o apoio da minha família esse momento não seria completo. Dedico também a minha filha Luisa que herdou o melhor de mim e o melhor da mãe originando numa personalidade, inteligência e carisma que admiro muito. A minha esposa Lívia que me deu sempre um amor puro, incondicionalmente e imensuravelmente, fazendo de mim um ser humano mais sensível e ao mesmo tempo me deu forças para enfrentar qualquer desafio ou adversidade que a vida me apresentasse. Enfim, é preciso viver, aprender, merecer. É preciso estar atento, observar, escutar. É preciso sorrir, ser solidário e ajudar. É preciso ousar e superar.

## AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Química – Unesp Campus Araraquara e CAPES pela investimento e apoio durante o período de doutorado.

Ao Prof. Dr. Leonardo Pezza e Profa. Dra. Helena R. Pezza pela orientação e conselhos durante todo o período de doutorado.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Aline Theodoro Toci pela coorientação, grande amizade, pelos conselhos e todos os ensinamentos que me foram concedidos.

Ao Prof. Dr. Carlos Manuel da Silva e Marcelo de Melo pela orientação no exterior e colaboração que ajudaram muito no meu crescimento acadêmico.

Aos membros da banca examinadora pela atenção e importante colaboração que só fazem enriquecer ainda mais o trabalho desenvolvido.

Aos amigos do Grupo Fritz Feigl: Tiago, Eduardo, Dayana, Mayara, Cintia, Maria Izabel, Luiz, João e Marcos meu amigo/irmão, obrigado pelo carinho de todos, pelo companheirismo, amizade e apoio. Amigos são essencial para o nosso crescimento pessoal e profissional, espero que nossa amizade perdure por um longo tempo.

A todos os amigos que fiz no exterior (Marcelo, Elaine, Simão, Tom, Eva, Sangeetha, Altieres, Diana, Ana Magalhães, Alexys, Ivo, Luís e Helder) por todos os momentos inesquecíveis, sei que esses laços de amizade perdurarão por toda vida.

Ao amigo e irmão Marcos Vinício pelo companheirismo e convivência, por me fazer ser mais confiante, e pela oportunidade de aprender o verdadeiro significado da amizade.

Agradecimento especial a Sandro Marques de Carvalho por todos os conselhos, por sempre me fazer ver a vida de maneira positiva e feliz, meu sincero muito obrigado.

A todos os meus amigos muito obrigada por acreditar em mim e me incentivar ao longo de toda a caminhada. A todos os funcionários do Instituto de Química pela atenção e competência no atendimento a mim dispensado, meus agradecimentos sinceros.

*“... Inspiração, e um pouco de café! E isso me basta! ”*

*Marcelli Neris*

*“A felicidade só é real quando compartilhada“.*

*Christopher McCandless*

## RESUMO

A qualidade do café e sua peculiaridade é intrinsicamente dependente de diversos fatores, dentre eles espécies/cultivares, origem geográfica, tipos dos grãos, colheita, processamento pós-colheita, torrefação e armazenamento. No presente trabalho revela-se a complexidade da relação entre a qualidade e composição aromática do café. Muitos aspectos abordados continuam sem ser totalmente elucidados, dentre eles, origem geográfica e processamento pós-colheita, enquanto outros, podem ser melhor compreendidos, tais como influência de espécies, qualidade de grãos e condições de armazenamento. No presente estudo alguns aspectos tais como origem geográfica, tipos dos grãos e torrefação foram avaliados e correlacionados através da composição volátil utilizando-se ferramentas de análise multivariada. Em todos os casos foram analisadas a composição volátil dos grãos de café através da técnica de *Headspace*-SPME. A correlação entre compostos voláteis e os fatores analisados foi constatada e, permitindo-se assim a elaboração de modelos discriminantes para a diferenciação de amostras de diferentes origens geográficas, grau de torrefação e selos de qualidade (tipos de grãos). Identificou-se também compostos voláteis marcadores de origem geográfica (macrorregiões e microrregiões), grau de torrefação e qualidade dos grãos. Dentre os marcadores voláteis encontrados no estudo o 2-metilbutanal é o marcador mais versátil, por ser considerado importante em todos os testes de discriminação geográfica, compostos como a 2-etilpirazina e 2,5-dimetilpirazina são importantes marcadores para ambas as avaliações de origem geográfica e de grau de torrefação. Do ponto de vista sensorial, estes dois compostos estão ligados a notas sensoriais de amendoim e avelã torrada. Os modelos propostos foram validados através de validação cruzada e testes de permutação. Os modelos propostos são de grande importância para o controle de qualidade e rastreabilidade de cafés torrados e, contribuem como alternativas não subjetivas de controle de qualidade de amostras de café. Também foi realizada uma revisão da literatura utilizando a técnica de extração supercrítica aplicada em diversas etapas do processamento do café, além disso, foi realizada também a otimização de parâmetros experimentais de SFE focado na obtenção de extratos ricos em compostos aromáticos, as melhores condições para maximizar a extração de óleos aromáticos foram 180 bar / 80 °C / 0% de etanol, que levaram a perfis aromáticos ricos de uma gama variada de classes químicas nomeadamente aldeídos, fenóis, cetonas e dicetonas, piridinas, pirazinas, ácidos carboxílicos, ciclopentenos, furanos, pirróis, álcoois e ésteres. Conseqüentemente, os parâmetros de processos específicos encontrado neste estudo (temperatura de 80 °C e pressão de 180 bar) podem então ser aplicados para produção em escala industrial visando a produção de extratos de café ricos em compostos aromáticos. Desta forma, podemos afirmar que o presente trabalho, além de fornecer ferramentas matemáticas baseadas em Análise discriminante (DA) com o objetivo de controlar a qualidade do café em diferentes aspectos, também inova na consideração de múltiplos fatores de qualidade.

**Palavras-chave:** Café; Aroma; Origem Geográfica; Controle de Qualidade; Fingerprint.

## ***ABSTRACT***

The quality of the coffee is dependent on several factors, among them species / cultivars, geographical origin, types of beans, harvesting, post-harvest processing, roasting and storage. In the present work the complexity of the relationship between the quality and aroma composition of the coffee was revealed. Many aspects remain to be fully elucidated, including geographic origin and post-harvest processing, while others may be better understood, such as species influence, grain quality, and storage conditions. In the present study, some aspects such as geographic origin, grain types and roasting were evaluated and correlated through the volatile composition using multivariate analysis tools. In all cases, the volatile composition of the coffee bean was analyzed using the Headspace-SPME technique. The correlation between volatile compounds and the mentioned factors was verified, allowing the elaboration of discriminant models for the differentiation between samples of different geographic origins, degree of roasting and quality seals (beans types). Volatile compounds were identified from geographic origin (macro-regions and micro-regions), degree of roasting and grain quality. Among the volatile markers suggested in the study, 2-methylbutanal is the most versatile marker found, because it is considered important in all geographical discrimination tests, compounds such as 2-ethylpyrazine and 2,5-dimethylpyrazine are important markers for both geographical origin and degree of roasting. From the sensory point of view, the two compounds are linked to sensory notes of peanut and toasted hazelnut. The proposed models were validated through cross validation and permutation tests. The proposed models are of great importance for the quality control and traceability of roasted coffee as non - subjective alternatives for quality control of coffee samples. A literature review was also carried out using the supercritical extraction technique applied in several stages of coffee processing. The optimization of the experimental parameters of SFE was also performed, and the best conditions to maximize the extraction of aromatic oils were 180 bar / 80 ° C / 0% ethanol, which led to rich aromatic profiles of a range of chemical classes, namely aldehydes, phenols, ketones and diketones, pyridines, pyrazines, carboxylic acids, cyclopentenes, furans, pyrroles, alcohols and esters. Consequently, specific process parameters found in this study (temperature of 80 ° C and pressure of 180 bar) can then be applied for industrial scale production for the production of coffee extracts rich in aromatic compounds. In this way, we can say that the present work, besides providing mathematical tools based on discriminant analysis (DA) with the objective of controlling the quality of coffee in different aspects, also innovates in the consideration of multiple factors of quality.

***Keywords: Coffee; Aroma; Geographic Origin; Quality control; Fingerprint.***

## LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1-Principais regiões brasileiras produtoras de cafés arábica e robusta (2017). ....</i>	<i>27</i>
<i>Figura 2- Mapa dos principais produtores brasileiros de café e espécies cultivadas. ....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 3- Principais defeitos de grãos de café (Fonte ABIC (11)).....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 4- Degradação de ácido quínico e cafeico.....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 5 - Representação esquemática da relação entre compostos precursores e voláteis. .....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 6 - Pontuações discriminantes e valores centroides do modelo de DA para os quatro graus de torrefação de café .....</i>	<i>82</i>
<i>Figura 7 - Resultados do teste de permutação: total de 10.000 permutações dos dados originais: (A) Erro de previsão individual (<math>Q^2</math>) e (B) Número de Erros de Classificação (NeC) .....</i>	<i>85</i>
<i>Figura 8- Produção mundial de café em 2014/2015 (USDA, 2015).....</i>	<i>90</i>
<i>Figura 9 -Regiões geográficas (círculos coloridos) utilizados para agrupar os dados de amostras de café (ícones vermelhos) na Análise Discriminante. ....</i>	<i>98</i>
<i>Figura 10- Pontuações discriminantes e valores centroides do modelo de DA para as quatro regiões geográficas. ....</i>	<i>103</i>
<i>Figura 11- Resultados dos testes de permutação dos dados: A, B e C referem-se a “Quatro regiões geográficas”, “Brasil vs. Outros” e “Brasil vs. América” respectivamente. Os quadrantes superiores (A1, B1 e C1) referem-se ao Número de Erros de Classificação (NeC), e os inferiores (A2, B2, C2) compreendem as Medidas de erro de Previsão Individual (<math>Q^2</math>). ....</i>	<i>108</i>
<i>Figura 12- Pontuações discriminantes para (A) “Brasil vs. Outros” e (B) “Brasil vs. América”. Os centroides de grupo em (A) são -2,062 para o Brasil e 0,281 para Outros Produtores, em (B) são -5.655 para o Brasil e 2.424 para América. ....</i>	<i>111</i>
<i>Figura 13- Análise discriminante do perfil aromático dos principais estados brasileiros produtores de café .....</i>	<i>131</i>
<i>Figura 14- Símbolos dos Selos de Qualidade PQC - ABIC, 2017 .....</i>	<i>133</i>
<i>Figura 15- Análise discriminante do perfil aromático de cafés brasileiros com diferentes selos de qualidade. ....</i>	<i>135</i>
<i>Figura 16 – Comparativo por agrupamento de classes químicas de cafés de baixa qualidade (com defeitos) e cafés de alta qualidade (Gourmet).....</i>	<i>137</i>

<i>Figura 17 – Aplicação da SFE em alguns estágios do processamento do café, seus objetivos e produtos-alvo.</i> .....	142
<i>Figura 18- Ano de publicação médio dos artigos compilados, classificados por matéria-prima e pelo produto alvo.</i> .....	144
<i>Figura 19- Gráfico % (m/m) de composição média de extratos obtidos via SFE para o café verde (A), café torrado (B) e borra de café (C) (média referente a cafés da espécie arábica) (5,61).</i> .....	151
<i>Figura 20-Principais moléculas alvo extraídos por SFE</i> .....	154
<i>Figura 21- Esquema conceitual de um processo de extração com SC-CO<sub>2</sub> para aplicações em biomassas.</i> .....	161
<i>Figura 22-Esquema de um dos primeiros processos patenteados (EUA, 1974) para descafeinação de café verde utilizando SC-CO<sub>2</sub> (12).</i> .....	163
<i>Figura 23- Esquema do processo de descafeinação de café da Kraft Foods localizada em Houston (Texas, EUA) (112).</i> .....	164
<i>Figura 24- Instalação de descafeinação de café Lavazza localizada em Pozzilli (Itália). Créditos (114)</i> .....	165
<i>Figura 25-Típica unidade de escala de laboratorial de SFE. Transcrito de (49).</i> .....	166
<i>Figura 26- Dimensões de unidades de SFE de escala de laboratório utilizada na pesquisa.</i> .....	167
<i>Figura 27-Melhores condições de operação - para as publicações envolvendo extrações em amostras de café (cru, torrado e borra de café) para diferentes objetivos (Tabela 26).</i> ...	169
<i>Figura 28-Distribuição das densidades de SC-CO<sub>2</sub> dos trabalhos descritos na Figura 27.</i> .....	171
<i>Figura 29-Comparação entre as curvas de extração obtidas para a cafeína pura (□) e para a Extrato total de casca de café (•). Condições: 60°C e 200 bar (linha tracejada: conexão linear, linha sólida: linha de tendência polinomial de segundo grau).</i> .....	174
<i>Figura 30- Proporção típica de superfície/volume de matrizes de café em diferentes fases de processamento como função do tamanho das partículas e proporções dos estudos de SFE compilados para este capítulo.</i> .....	175
<i>Figura 31- Parâmetros de solubilidade de SC-CO<sub>2</sub> (com e sem co-solventes) em função da pressão em relação aos parâmetros de solubilidade calculada para vários componentes encontrados no café.</i> .....	178

<i>Figura 32-Estimativa de preço comercial de produtos de café propenso a ser obtida por SFE.</i> .....	180
Figura 33- Esquema de extração supercrítica realizado para as amostras de café .....	201
Figura 34-Gráfico de efeitos normalizados para extratos supercríticos .....	204
Figura 35- Gráficos de Pareto e Efeitos principais para planejamento fatorial de extratos de café.....	206
Figura 36- Comparativo por classes químicas dos compostos voláteis presentes na fração aromática dos extratos via SFE obtidos no Planejamento fatorial completo .....	207
Figura 37- Cromatogramas SFE-SPME-GC-MS vs Soxhlet-SPME-GC-MS.....	208

## LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1- Compostos de impacto para o café torrado</i> .....	40
<i>Tabela 2 - Principais compostos voláteis relacionados com as espécies, origens geográficas e parâmetros de armazenamento de grãos de café brutos (B) ou torrados (T).</i> .....	43
<i>Tabela 3 - Aumento dos principais compostos voláteis relacionadas à grãos defeituosos crus (B), torrados (T) e parâmetros de pós-colheita.</i> .....	52
<i>Tabela 4 - Resumo da base de dados compilada de amostras de C. arábica para a análise discriminante</i> .....	77
<i>Tabela 5 - Resultados da adequação compostos para uso como referência para a normalização do banco de dados</i> .....	80
<i>Tabela 6 - Desempenho das funções discriminantes e respectiva explicação de variância</i>	81
<i>Tabela 7- Coeficientes não-padronizados (<math>\beta_i</math>) das duas funções discriminantes para os graus de torrefação de amostras de café</i> .....	81
<i>Tabela 8 - Desempenho geral de classificação (unidades e %) do modelo de DA, com e sem validação cruzada (VC)</i> .....	83
<i>Tabela 9 - Compostos odorizantes de impacto e respectivas notas sensoriais encontrados em grãos de café torrado.</i> .....	92
<i>Tabela 10- Resumo do banco de dados de amostras de café para a análise discriminante.</i>	97
<i>Tabela 11-Resultados de adequação para uso de compostos de referência para a normalização do banco de dados</i> .....	101
<i>Tabela 12-Desempenho das funções discriminantes obtidos para as “Quatro regiões geográficas”.</i> .....	102
<i>Tabela 13- Coeficientes das funções discriminantes propostos para cada um dos três estudos de discriminação.</i> .....	102
<i>Tabela 14 - Desempenho geral de classificação (contagem e %) do modelo de DA, com e sem a validação cruzada (VC), para o estudo diferenciação das quatro regiões geográficas.</i> .....	105
<i>Tabela 15- Testes de validação para os estudos "Quatro Regiões Geográficas" (VT1-4), "Brasil vs. Outros" (VT5-6) e "Brasil vs. América" (VT7-8). VT<sub>i</sub> = sigla do número do teste de validação.</i> .....	106

<i>Tabela 16- Desempenho de classificação geral (unidade e %) do modelo de DA, com e sem validação cruzada (VC), para o estudo “Brasil vs. outros”.</i> .....	112
<i>Tabela 17- Desempenho da classificação geral (unidade e %) do modelo de DA, com e sem validação cruzada (VC), para o estudo “Brasil vs. América”.</i> .....	113
<i>Tabela 18- Principais marcadores voláteis para a diferenciação de cafés de acordo com origem geográfica e grau de torra.</i> .....	116
<i>Tabela 19- Amostras de cafés analisadas de diferentes produtores brasileiros</i> .....	124
<i>Tabela 20- Dados obtidos através da etapa de torrefação das amostras de cafés brasileiros.</i> .....	125
<i>Tabela 21- Compostos voláteis identificados no Headspace de cafés brasileiros de diferentes regiões geográficas.</i> .....	127
<i>Tabela 22- Coeficientes não padronizados das funções discriminantes propostas para discriminação de acordo com origem geográfica (Produtores Brasileiros)</i> .....	130
<i>Tabela 23- Desempenho geral da classificação (unidade / %) do modelo DA, com e sem validação cruzada (VC), para o estudo de diferenciação dos quatro maiores estados produtores de café</i> .....	132
<i>Tabela 24- Coeficientes não padronizados das funções discriminantes propostas para discriminação de acordo selos de qualidade</i> .....	134
<i>Tabela 25- Desempenho geral da classificação (contagem / %) do modelo DA, com e sem validação cruzada (VC), para o estudo de diferenciação através de selos de qualidade.</i> ..	136
<i>Tabela 26- Publicações abrangendo SFE em café (café verde, torrado e borra de café) entre o período de 1974 a 2016 e suas respectivas características.</i> .....	145
<i>Tabela 27- Resumo das aplicações e respectivas propriedades de compostos propensos a serem extraídos via SFE em amostras de café.</i> .....	184
<i>Tabela 28 - Codificação e níveis das três variáveis independentes consideradas para o Design Experimental</i> .....	200
<i>Tabela 29- Extrações via Soxhlet de cafés brasileiros</i> .....	200
<i>Tabela 30- Resultado de rendimentos em massas obtidos através da SFE em amostras de café de acordo com o Planejamento Fatorial completo realizado</i> .....	202
<i>Tabela 31- Resultado em função de área de pico de compostos voláteis quantificados na fração aromática dos extratos obtidos através da SFE em amostras de café de acordo com o Planejamento Fatorial Completo realizado.</i> .....	203

## **Lista de abreviaturas, siglas e símbolos**

*ABIC- Associação Brasileira das Indústrias do Café*

*CDPC- Conselho Deliberativo de Política do Café*

*CGA - Ácidos clorogênicos*

*Conab - Companhia Nacional de Abastecimento*

*CQA - Ácido cafeoilquínico*

*DA – Discriminant Analysis (Análise Discriminante)*

*DOC - Denominação de Origem Controlada*

*DOE- Design of Experiments*

*DOP - Designação de Origem Protegida*

*FDA - Food and Drug Administration*

*GC- Gas chromatography (Cromatografia Gasosa)*

*Headspace- Espaço de cabeça do vial*

*HSV - Vírus Herpes Simplex*

*IBC - Instituto Brasileiro do Café*

*IGP - Indicação Geográfica Protegida*

*MS- Mass spectrometry (Espectrômetro de massa)*

*NeC - Número de Erro de Classificação*

*OCV - Óleo de café verde*

*OIN - Organização Internacional de Normalização*

*PCA - Principal Component Analysis (Análise de componentes principais)*

*PQC- Programa de Qualidade do Café*

*PVA - Defeitos pretos, verdes e ardidos*

*SC - Supercrítico*

*SFE - Supercritical Fluid Extraction (Extração por Fluido Supercrítico)*

*SPME- Solid Phase Micro Extration (Extração em micro fase sólida)*

*TBLT - Temperatura Baixa em Longo Tempo*

*TECT - Temperatura Elevada em Curto Tempo*

*USDA - U.S. Department of Agriculture*

*VC – Validação Cruzada*

## Sumário

<b>Capítulo 1 – Introdução Geral .....</b>	<b>47</b>
<b>1.1 Café e História.....</b>	<b>24</b>
<b>1.2 Café no Brasil .....</b>	<b>24</b>
<b>1.3 Aspectos Agronômicos Variedades.....</b>	<b>25</b>
<b>1.4 Café Arábica.....</b>	<b>26</b>
<b>1.5 Produtores de Café Brasileiros .....</b>	<b>26</b>
<b>1.6 Qualidade e classificação .....</b>	<b>30</b>
<b>1.6.1 Cafés Especiais .....</b>	<b>31</b>
<b>1.7. Selos de qualidade.....</b>	<b>31</b>
<b>1.8. Origem geográfica e qualidade.....</b>	<b>32</b>
<b>1.9 Quimiometria aliada a controle de qualidade de alimentos .....</b>	<b>32</b>
<b>1.10 Estado da arte .....</b>	<b>33</b>
<b>1.10 Referências Bibliográficas .....</b>	<b>34</b>
<b>2. Capítulo 2 - Objetivos .....</b>	<b>37</b>
<b>2.1. Geral .....</b>	<b>37</b>
<b>2.2. Específico.....</b>	<b>37</b>
<b>Capítulo 3– Relação entre os diferentes aspectos relacionados à qualidade do café e seus compostos voláteis. ....</b>	<b>38</b>
<b>3.1 Introdução .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2 Espécies e cultivares.....</b>	<b>41</b>
<b>3.3 Origem geográfica.....</b>	<b>44</b>
<b>3.4 Grãos Defeituosos e Tipos de Bebidas .....</b>	<b>48</b>
<b>3.5 Processamento (pós-colheita) .....</b>	<b>55</b>
<b>3.6 Torrefação .....</b>	<b>57</b>
<b>3.7 Armazenamento.....</b>	<b>63</b>
<b>3.8 Conclusões .....</b>	<b>66</b>
<b>3.9. Referências .....</b>	<b>68</b>
<b>Capítulo 4–Ferramenta de análise discriminante confiável para o controle do grau de torrefação de amostras de café através de marcadores químicos. ....</b>	<b>74</b>
<b>4.1 Introdução .....</b>	<b>75</b>
<b>4.2 Modelagem .....</b>	<b>76</b>
<b>4.3 Materiais e métodos .....</b>	<b>78</b>
<b>4.3.1 Amostras de Café.....</b>	<b>78</b>
<b>4.3.2 Caracterização química .....</b>	<b>79</b>
<b>4.4 Resultados e discussão .....</b>	<b>79</b>

4.4.1 Normalização preliminar dos resultados.....	79
4.4.2. Discriminação de amostras de acordo com graus de torrefação.....	80
4.5. Conclusões .....	86
4.6. Referências .....	87
<b>Capítulo 5- Análise discriminante para desvendar a origem de amostras de café torrado: Uma ferramenta para o controle de qualidade de produtos relacionados ao café. ....</b>	<b>89</b>
5.1. Introdução .....	90
5.2. Modelagem .....	94
5.3. Base de dados compilada.....	99
5.3.1. Amostras de café.....	99
5.3.2. Caracterização Química.....	100
5.4. Resultados e discussão .....	100
5.4.1- Normalização preliminar dos dados.....	100
5.4.2. Discriminação das amostras de acordo suas origens geográficas .....	101
5.4.3- Diferenciação específica de amostras de café brasileiras .....	109
5.4.4-Fatores Geográficos e Ambientais e Aroma do Café .....	113
5.5. Conclusão .....	117
5.6. Referências .....	118
<b>Capítulo 6- Discriminação de amostras de cafés de acordo com origem geográfica em escala nacional e através de selos de qualidade .....</b>	<b>120</b>
6.1 Introdução .....	121
6.2. Materiais e Métodos .....	122
6.2.1 Amostras.....	122
6.2.2 Torra das amostras.....	122
6.2.3 Extração por <i>Headspace</i> -SPME:.....	123
6.2.4. Análise por GC-MS:.....	123
6.2.5 Identificação dos compostos voláteis: .....	123
6.2.6. Construção de modelos estatísticos:.....	123
6.3. Resultados e discussão: .....	124
6.3.1 Detalhamento das amostras analisadas provenientes de diferentes produtores brasileiros .....	124
6.3.2 Torrefação das amostras (Cálculo de perda de massa).....	125
6.3.3 Identificação dos compostos voláteis. ....	126
6.3.4 Análise Quimiométricas .....	130
6.4 Conclusões .....	137

6.5 Referências .....	138
<b>Capítulo 7- Extração supercrítica de café cru, torrado e borra: tendências modernas de uma aplicação histórica e de referência.....</b>	<b>140</b>
7.1. Introdução .....	141
7.2. SFE em diferentes etapas do processamento de café.....	141
7.2.1. Grãos de café cru .....	142
7.2.2. Grãos de café torrado.....	143
7.2.4. Borra de Café.....	143
<b>7.3. Compostos extratáveis de café por SFE .....</b>	<b>148</b>
7.3.1. Componentes insolúveis.....	148
7.3.2. Componentes solúveis .....	148
7.3.3. Lipídeos .....	152
7.3.4. Cafeína.....	153
7.3.5. Compostos fenólicos (Ácidos Clorogênicos) .....	155
7.3.6. Diterpenos.....	156
7.3.7. Acrilamida .....	157
7.3.8. Imidazóis .....	158
7.3.9. Aroma e compostos odorantes.....	159
<b>7.4. Tecnologia SFE .....</b>	<b>159</b>
7.4.1. Descafeinação com SC-CO <sub>2</sub> : um dos primeiros processos de SFE.....	161
7.4.2. Meio supercrítico .....	162
7.4.3. Condições de funcionamento e estratégia .....	162
7.4.4. Processos de escala industrial.....	163
7.4.5. Processos atuais em escala de laboratório .....	165
<b>7.5. Condições Operacionais.....</b>	<b>167</b>
7.5.1. Pressão e temperatura .....	167
7.5.2. Co-solvente.....	171
6.5.3. Taxa de fluxo .....	173
7.5.4. Tamanho de partícula .....	174
<b>7.6. Solubilidade de extratos em SC-CO<sub>2</sub> .....</b>	<b>176</b>
7.6.1. Estimativa teórica .....	176
<b>7.7. Aspectos econômicos de SFE em extratos de café .....</b>	<b>179</b>
<b>7.8. Conclusões .....</b>	<b>185</b>
<b>7.9. Referências .....</b>	<b>186</b>
<b>Capítulo 8– Otimização da metodologia de SFE para extração de compostos voláteis em café torrado. ....</b>	<b>195</b>

<b>8.1. Introdução .....</b>	<b>196</b>
<b>8.2. Materiais e Métodos .....</b>	<b>197</b>
8.2.1. Amostras .....	197
8.2.2. Torrefação das amostras .....	197
8.2.3. Extração Soxhlet.....	197
8.2.4. Extração Supercrítica.....	197
8.2.5. Extração por <i>Headspace</i> -SPME .....	198
8.2.6. Análise por GC-MS .....	199
8.2.7. Identificação dos compostos voláteis .....	199
8.2.8. Design de experimentos (DoE).....	199
<b>8.3. Resultados e discussão: .....</b>	<b>200</b>
8.3.1. Extração Soxhlet.....	200
8.3.2. Extração com fluido supercrítico .....	201
<b>8.4. Triagem das Variáveis e Planejamento Fatorial .....</b>	<b>201</b>
<b>8.5. Separação por classes químicas.....</b>	<b>207</b>
<b>8.6. Conclusões .....</b>	<b>208</b>
<b>8.7. Referências .....</b>	<b>209</b>
<b>Capítulo 9. Conclusões Gerais.....</b>	<b>211</b>
<b>9. Capítulo 10 - Índices Acadêmicos .....</b>	<b>214</b>

## **Capítulo 1 – Introdução Geral**

## 1.1 Café e História

O mercado cafeeiro entre os anos de 1905 a 1990 contou com altas e baixas, lucros e prejuízos que se refletiram em vários aspectos da vida socioeconômica brasileira (1). Leis foram criadas, hábitos de convívio social foram estabelecidos e até mesmo o campo da arte foi afetado. Ícones da literatura brasileira como Monteiro Lobato, Oswald de Andrade, Manuel Bandeira e Carlos Drummond de Andrade imortalizaram em suas palavras a magia do café e sua importância em diferentes aspectos (2).

“O café excita o espírito, desde que este seja capaz de excitação.”

Carlos Drummond de Andrade.

A produção comercial de café é baseada principalmente em duas espécies, a *Coffea arabica* (café arábica) e *C. canephora* (café robusta ou conilon) (1). Na Uganda e outros países da África Central, existe a tradição centenária de cultivo de café (principalmente *C. canephora*), existe também o hábito de mastigar as frutas secas ou os grãos por seu efeito estimulante (3). No início do século XVIII, o café tornou-se um produto importante nos mercados internacionais dos países do Ocidente, estimulando, assim, a sua cultura nas colônias europeias (2).

## 1.2 Café no Brasil

O café foi introduzido no Brasil em 1727, as primeiras mudas foram plantadas em Belém (Pará) e em seguida no Maranhão. Em 1760 vieram do Maranhão para o Rio de Janeiro, expandindo-se pela encosta da Serra do Mar e atingindo o Vale do Paraíba em 1780. Até o ano de 1860 o estado do Rio de Janeiro manteve a hegemonia da economia cafeeira, seguido do estado de São Paulo e Minas Gerais. A comercialização se fazia pelo porto do Rio de Janeiro, tornando a cidade o seu centro financeiro controlador. Em 1731 chegavam à Portugal sacas de café provenientes do norte do Brasil. No entanto, durante o século XVIII, a economia do país era baseada na mineração, na cana-de-açúcar e no algodão que ainda eram os seus grandes produtos agrícolas (2,4).

O Brasil encontrou no plantio do café um produto de exportação cuja produção tinha como fator básico o clima e assim, reintegrou-se nas linhas de expansão do comércio internacional. Beneficiando-se do solo e do clima brasileiros as lavouras de café tiveram uma rápida expansão. Além das condições naturais brasileiras, o desenvolvimento do mercado

norte americano, possibilitou que o Brasil se tornasse grande exportador de café. No início do século XIX o café torna-se o maior artigo de exportação brasileira, sendo que os Estados Unidos consumiam mais de 50% dessa produção (5).

Em 1952 foi criado o Instituto Brasileiro do Café (IBC), com o objetivo de definir a política para o setor, controlar e coordenar a estratégia do sistema desde a produção até a comercialização interna e externa. Atuando no âmbito do Ministério da Indústria e do Comércio, o IBC dava assistência técnica e econômica à cafeicultura e ao seu beneficiamento, controlava a comercialização tanto para consumo interno como para exportação, elaborava estudos e pesquisas que favoreciam a cultura e a economia cafeeira e executava a política econômica traçada pelo Conselho Monetário Nacional, baseando suas decisões nos dados fornecidos pelo próprio IBC, principalmente quanto a custos de produção, expectativa de exportação, níveis de produção, abastecimento do consumo interno e industrialização do produto (6). Posteriormente, em 12 de março de 1973 foi criada a Associação Brasileira da Indústria de Café – ABIC, que surgiu da necessidade de aglutinar as ações desenvolvidas pelos Sindicatos estaduais da atividade industrial torrefadora, com o objetivo de coordenar e defender os interesses em âmbito nacional (1).

### 1.3 Aspectos Agronômicos Variedades

A planta do café é membro da família dos *Rubiaceae*, que inclui mais de 100 espécies, sendo a maioria delas arbustos tropicais. Existem pelo menos 25 espécies de café importantes, todas originárias da África e de algumas ilhas do Oceano Índico, todas são arbustos que medem de 2 a 2,5 metros de altura, podendo atingir até 10 metros.

Do ponto de vista econômico, as duas espécies mais importantes cultivadas no mundo são a *Coffea arabica* (arábica) e a *Coffea canephora* (robusta ou conilon) (7). A espécie arábica produz cafés de melhor qualidade, mais finos e requintados, além de possuir aroma intenso e os mais diversos sabores, com inúmeras variações de corpo e acidez (8). Os cafés de melhor qualidade utilizam somente combinações de café arábica. A espécie robusta, originária da África, tem um cultivo mais rude, podendo ser cultivada ao nível do mar e não possui sabores variados nem refinados como a arábica, porém por apresentar mais sólidos solúveis, é de grande utilização nas indústrias de cafés solúveis ou em procedimentos de *blendagem*<sup>1</sup>(7).

---

<sup>1</sup> consiste na mistura de cafés de diferentes espécies/tipos, proporcionado um produto final alternativo

## 1.4 Café Arábica

O café arábica, de grande importância econômica nas regiões que o cultivam, é um produto de qualidade superior, seu cultivo encontra excelentes resultados em regiões montanhosas com altitude entre mil e dois mil metros. É adaptado ao clima úmido com temperaturas mais amenas, sendo seu cultivo mais adequado se dá em regiões de temperaturas médias entre 18°C e 23°C (7).

O termo arábica designa genericamente os produtos obtidos a partir dos cultivares e variedades dessa espécie, tais como: Mundo Novo, Acaia, Catuaí Vermelho e Amarelo, Bourbon Vermelho e Amarelo (7).

- Mundo Novo– sua principal característica é o vigor vegetativo aliado à excepcional produtividade de algumas plantas. Adaptações de linhagens do Mundo Novo tem preferência em colheitas mecanizadas. Possui maturação mais uniforme, o que possibilita um melhor tipo de café colhido e sua frutificação é mais precoce, representando maior resistência em áreas sujeitas a geadas.
- Acaia – apresenta frutos com sementes de maior tamanho e com boa produção. Essa variedade surgiu da seleção de linhagens do cultivar Mundo novo.
- Catuaí Vermelho e Amarelo– também são originários de linhagem do cultivar Mundo Novo, apresentam plantas vigorosas e produtivas, além de boa adaptação em todas as regiões cafeeiras do país. As adaptações de linhagem Catuaí apresentam boa produtividade, porte baixo, o que facilita a colheita especialmente em regiões montanhosas, são menos prejudicadas por deficiências de cálcio, magnésio e zinco e também mais resistentes à ferrugem do cafeeiro.
- Bourbon Vermelho e Amarelo– apresenta precocidade na maturação dos frutos e se desenvolve bem em regiões de maior altitude. Tem se mostrado pouco vigoroso, principalmente em regiões de solo com baixa fertilidade. Apresenta menor resistência à ferrugem, se recuperando mais lentamente, acentuando-se no ciclo bienal de produção. (7).

## 1.5 Produtores de Café Brasileiros

O Brasil apresenta um parque cafeeiro complexo e diversificado, dispõe de grandes extensões de terra e diferentes altitudes além de produzir, conseqüentemente, uma grande variedade de tipos de bebidas, o que o favorece em relação a outros países concorrentes. Além

disso, o país lidera o processo de desenvolvimento tecnológico, com destaque para a irrigação, fertirrigação, mecanização e beneficiamento (9).

São 6 as principais regiões brasileiras produtoras de café, concentradas nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo, Bahia, Rondônia e Paraná. O país produz tanto cafés da variedade arábica quanto robusta, de diferentes tipos, qualidades e sabores, atualmente cerca de 75% de todo o café produzido no Brasil é arábica (Figura 1) (10).

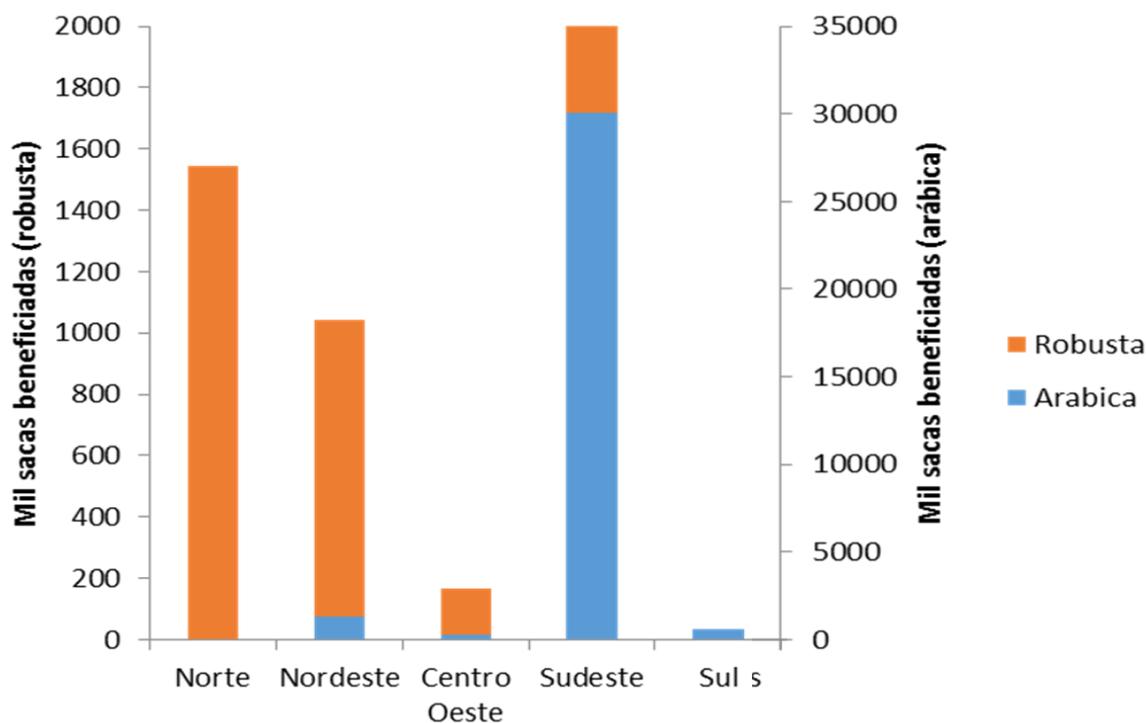


Figura 1-Principais regiões brasileiras produtoras de cafés arábica e robusta (2017).

Fonte: Conab (11)

As grandes extensões do Brasil permitem um cultivo diversificado e com características de bebida únicas sensoriais de cada região (Figura 2). As dimensões continentais de nosso país permitem as mais diversas variações de climas e ambientes naturais. Conseguimos encontrar em um único território climas equatorial, sub-árido, tropical e subtropical. Isto se dá devido ao fato de que o Brasil conta com uma área de 8.516.403 km<sup>2</sup> e é traçado tanto pela linha do Equador quanto pelo Trópico de Capricórnio. Portanto, é um território que conta com características climáticas bem diferentes (9).

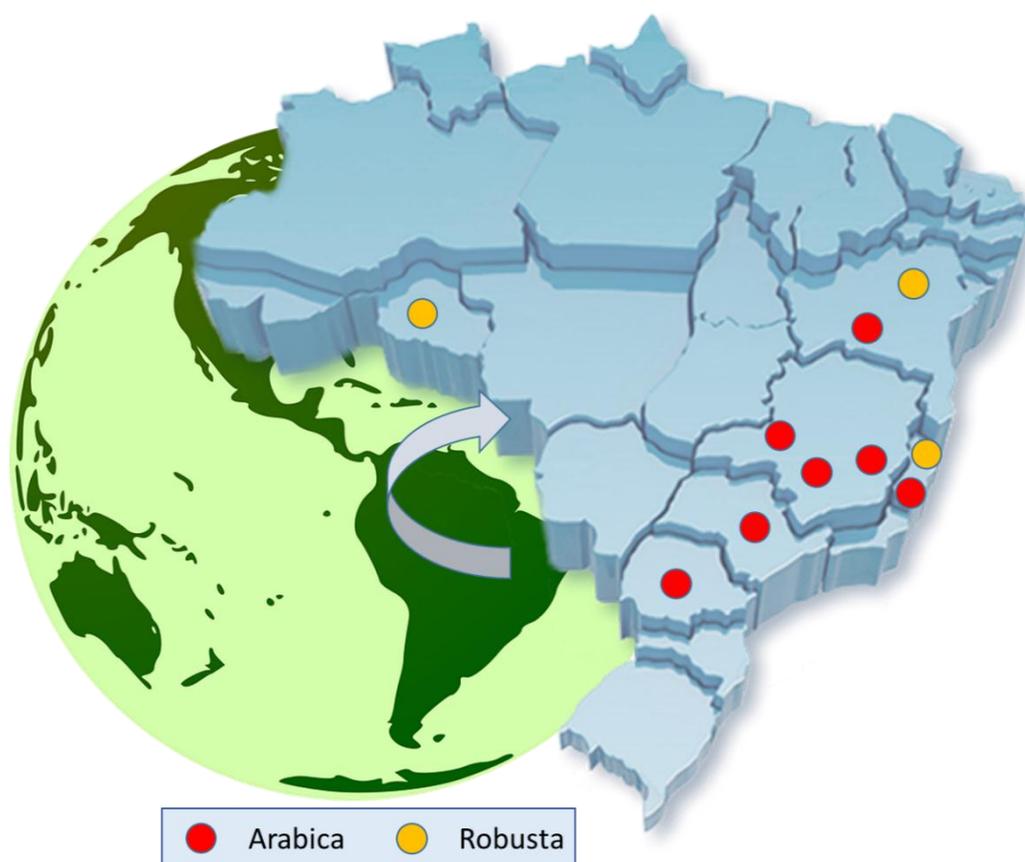
As principais regiões brasileiras juntas, produzem em média 43 milhões de sacas (11) ao ano, sendo os principais produtores de café arábica, dentre elas destacam-se:

- Sul de Minas (MG)

- Cerrado (MG)
- Chapada de Minas (MG)
- Montanhas de Minas (MG)
- Mogiana (SP)
- Centro-Oeste (SP)
- Montanhas do Espírito Santo (ES)
- Norte Pioneiro do Paraná (PR)
- Planalto da Bahia (BA)
- Cerrado da Bahia (BA)

A produção de café robusta está concentrada nas regiões:

- Conilon Capixaba (ES)
- Rondônia (RO)



*Figura 2- Mapa dos principais produtores brasileiros de café e espécies cultivadas.*

*Fonte: Conab (11)*

Cada região possui características sensoriais peculiares que tornam a bebida final única. No parágrafo que segue podemos destacar as características sensoriais peculiares de cada região produtora:

**Cerrado Mineiro (MG)**– são caracterizados pela bebida fina, corpo forte e excelente aroma e doçura. São produzidos em altitudes entre 800 e 1.200 m, esta região tem estações bem definidas: verões quentes e chuvosos seguidos por invernos secos e frios, ou seja, o clima ideal para o cultivo de cafés que resultaram em uma bebida de alta qualidade. O padrão climático do Cerrado é singular e ajuda a produzir excelente cafés que são processados via natural (secos ao sol) (10).

**Sul de Minas (MG)**– esta região produz cafés da espécie arábica, os cultivos dessa região atingem as melhores classificações de bebida (estritamente mole ou mole), encorpados com alta acidez e um sabor doce característico. O Sul de Minas é a maior região produtora de cafés arábica brasileira, cultivados em altitudes entre 850 m e 1.250 m e temperatura média anual entre 22 e 24°C (10).

**Mogiana (SP)**– os cafés dessa região produzem uma bebida bastante encorpada, com aroma frutado e sabor suave e adocicado. Uma das mais tradicionais regiões produtoras de café arábica, a Mogiana está localizada ao norte do estado de São Paulo, com cafezais a uma altitude que varia entre 900 e 1.000 m, como temperatura média anual é bastante amena (em torno de 20°C) a região produz somente café da espécie arábica, sendo que as variedades mais cultivadas são o Catuaí e o Mundo Novo (10).

**Paraná (PR)**– os cafés produzidos no norte do paraná proporcionam uma bebida extremamente encorpada, com notas amargas acentuadas, aroma caramelizado e acidez normal. A altitude média de cultivo é de 650 metros, sendo que na região do Arenito, a altitude é de 350 metros e na região de Apucarana chega a 900 metros (10).

**Bahia (BA)**– esta região produz cafés da espécie robusta e arábica, os cultivos dessa região proporcionam uma bebida com sabor suave, levemente achocolatado, pouco corpo e com notável acidez. Dentre as regiões baianas produtoras de café destacam-se a do Planalto, mais tradicional produtora de café arábica, a região Oeste, também produtora de café Arábica, sendo uma região de cerrado com irrigação e a Litorânea, com plantios predominantes do café robusta (10).

**Espírito Santo (ES)**– esta região produz cafés da espécie robusta e arábica, os cultivos da espécie robusta ocupam a grande maioria do parque cafeeiro estadual e respondem por quase 2/3 da produção brasileira, os cultivos são em regiões de baixa altitude com temperaturas

médias elevadas. O estado do Espírito Santo coloca o Brasil na posição de segundo maior produtor mundial de robusta (10).

**Rondônia (RO)**– é o sexto maior estado produtor de café e o segundo maior produtor de robusta do país, sua produção é constituída exclusivamente de café robusta (10).

## 1.6 Qualidade e classificação

Devido às indicações de aumento de mercado das últimas décadas, houve a criação do “Programa de Qualidade do Café” (PQC) pelo Conselho Deliberativo de Política do Café (CDPC) e lançado pela Associação Brasileira das Indústrias do Café (ABIC) em 2004. Para cafés torrados e moídos são descritas três categorias: Tradicional (arábica *blend* com conilon até limite de 30%), Superior (*blend* com até 15% de conilon) e *gourmet* (somente arábica) (1). Para essa classificação, além das diferentes proporções de café conilon, são sugeridas porcentagem máxima de grãos defeituosos e pontuação na análise sensorial. Enquanto as designações Tradicional, Superior e Gourmet dizem respeito à qualidade, os termos clara, média e escura são empregados para indicar o grau de torrefação (1). O programa consiste não somente no controle da qualidade dos *blends* comerciais, mas também na educação do torrefador e do consumidor em relação a este tema. Por isso, há um grande interesse na caracterização química dos cafés brasileiros e na identificação de compostos que possam ser usados futuramente como marcadores de qualidade.

Para se ter uma ideia da diferenciação econômica entre as diferentes qualidades de café, em dezembro de 2016, os preços dos cafés Tradicionais, nas prateleiras do varejo variaram em média de R\$ 16,17/kg, enquanto os cafés *Gourmet* variaram em uma média de R\$ 48,66/kg. Os consumidores têm procurado diferentes variações de cafés, criando assim uma consistente evolução para atender os consumidores mais atentos à diferenciação de regiões, sabores, certificações, entre outros (10).

Devido ao sabor suave e peculiar, o consumo no mercado internacional de cafés de alta qualidade também tem aumentado significativamente, sendo o Brasil o principal país que tem condições de sustentar esta demanda no futuro (1). Entretanto, o consumo de cafés especiais no país ainda é pequeno, devido à falta de divulgação e ao preço que é de duas a quatro vezes maior do que os cafés comuns (Tradicionais). No entanto, esse mercado vem começando a conquistar espaço interno, reproduzindo, tardiamente, uma realidade já existente no mercado exterior. O Brasil destaca-se na produção de cafés especiais há pouco mais de 10 anos e tem conquistado o mercado exterior com o produto, atualmente, o volume anual está em torno de 500 mil sacas de 60 quilos (1)

### 1.6.1 Cafés Especiais

É conhecido que a qualidade do café está estritamente relacionada com os diversos constituintes químicos responsáveis pelo seu aroma e sabor, os quais por sua vez, estão determinados por fatores pré e pós-colheita (12). A demanda por cafés especiais no mercado mundial vem crescendo em proporções muito maiores que a de cafés comuns. A qualidade diferenciada dos cafés especiais está relacionada com a qualidade intrínseca do café, representando tudo aquilo que os grãos possuem em termos de compostos químicos que, após a torrefação, irão proporcionar aroma, sabor, acidez, doçura e amargor à bebida (13). Cada vez mais, os países produtores de café mostram interesse na compreensão dos fatores ambientais, genéticos e tecnológicos que afetam a qualidade (14).

De modo geral, qualquer cultivo da espécie arábica tem potencial para a produção de cafés de alta qualidade, desde que uma série de fatores sejam cuidadosamente seguidos, tais fatores vão desde o plantio até o momento que o café é servido na xícara. Adicionalmente, tem-se verificado que sabores e aromas diferenciados ocorrem com mais frequência em algumas variedades específicas. O cultivo da variedade Bourbon tem qualidades intrínsecas mundialmente conhecidas, devido às suas características sensoriais, sendo utilizado para a produção de cafés especiais em diversas regiões do mundo (10).

### 1.7. Selos de qualidade

Embora o Brasil seja o maior produtor e exportador mundial, no mercado internacional sua imagem é de fornecedor de grande quantidade de cafés comuns e de baixo preço, enquanto outros países, como Colômbia, Guatemala, Costa Rica e Quênia, são reconhecidos como produtores de cafés de qualidade, conseguindo, dessa forma, agregar valor ao seu produto (10). Contudo, considera-se que o Brasil tenha condições favoráveis para aumentar a sua participação no mercado de cafés especiais, dada a diversidade de seu parque cafeeiro e o elevado nível tecnológico aplicado na cafeicultura. Para que isso se torne realidade, são necessários investimentos, tanto no setor produtivo quanto na pesquisa científica e tecnológica, tendo em vista o aperfeiçoamento de técnicas que contribuam efetivamente para o aprimoramento da qualidade do café (13).

De acordo com “Programa de Qualidade do Café” cafés torrados e moídos podem receber os seguintes selos de qualidade: *Gourmet*, constituído unicamente com cafés arábica de bebida mole e estritamente mole, com 0% (ausência) de defeitos pretos, verdes e ardidos (PVA), preto-verdes e fermentados; Superior: cafés arábica/robusta de bebida mole a dura, com um máximo de 10% de defeitos pretos, verdes e ardidos (PVA) e ausência de grãos preto-verdes e/ou fermentados. Admite-se a utilização de grãos de safras antigas, desde que seu

gosto não seja preponderante; Tradicional: constituído de cafés arábica/robusta variando a bebida de mole a dura, com um máximo de 25% de defeitos pretos, verdes e ardidos, e ausência de grãos pretos-verdes e fermentados, admitindo-se a utilização de grãos de safras passadas desde que o seu gosto não seja pronunciado e nem preponderante (1).

### **1.8. Origem geográfica e qualidade**

Alguns países têm adotado denominações diferentes para rotular seus cafés como "Produto Típico", "IGP-Indicação Geográfica Protegida", "DOC-Denominação de Origem Controlada", entre outras, a fim de dar-lhes valor adicional. Além disso, os termos "Típico", "Geográfico" e "Origem" são amplamente pensados como algo ancorado às tradições locais, contendo matérias-primas originais. O mais importante é que esses produtos possuem características organolépticas particulares, que não são reproduzíveis quando produzidas em lugares diferentes.

### **1.9 Quimiometria aliada a controle de qualidade de alimentos**

A quimiometria é uma ferramenta muito valiosa no controle de qualidade e análise de alimentos. Um dos atributos de avaliação amplamente realizados nas cooperativas cafeeiras é a "prova da xícara", onde é realizado um teste sensorial e atribuída uma nota a bebida e, conseqüentemente ao grão que deu origem a bebida, no entanto, isso pode ser subjetivo quando queremos avaliar aspectos de qualidade de maneira não subjetiva. Por outro lado, através da análise da fração volátil utilizando técnicas com *Headspace*-SPME e GC-MS aliada a métodos matemáticos/estatísticos é possível delinear procedimentos experimentais para encontrar a máxima informação química relevante, através dos dados obtidos. Assim, ferramentas quimiométricas nos permitem desenvolver modelos que estimem propriedades, por análise de um conjunto de variáveis (no caso os compostos voláteis presentes no café), considerando não apenas as variáveis individuais, mas também possíveis correlações entre elas. Dentre as ferramentas estatísticas disponíveis, vários métodos de análise de dados multivariados podem ser utilizados para esse fim, o mais utilizado é a PCA (Análise de Componentes Principais), que visa reduzir o tamanho do conjunto de dados, mantendo as variáveis com maior variância. A redução de dados também pode ser realizada por meio de DA (Análise Discriminante) ou regressão múltipla (calibração inversa de mínimos quadrados - ILS) (20,21). Quando aplicada DA podemos obter um modelo linear que é construído por uma combinação das variáveis preditoras (ou variáveis independentes), onde cada uma tem uma contribuição única para o modelo linear. Utilizamos um procedimento matemático de

maximização, de modo que a primeira função discriminante seja a combinação linear das variáveis dependentes que maximizam as diferenças entre grupos (22). O problema de ter vários valores para determinar a significância estatística pode ser simplificado pela conversão das variáveis dependentes em dimensões subjacentes ou fatores. Assim, é possível calcular as dimensões subjacentes das variáveis dependentes. Essas combinações lineares das variáveis dependentes são conhecidas como variates (ou às vezes denominadas variáveis latentes ou fatores). Nesse contexto, queremos utilizar essas combinações lineares de variáveis (variates) para prever a que grupo uma amostra de café torrado pertence, assim, estamos utilizando para discriminar grupos de amostras de cafés. Portanto, essas variates são denominadas funções discriminantes. Embora, possa ser feito um paralelo entre essas funções discriminantes e o modelo de regressão múltipla, existe uma diferença no sentido de que podemos extrair várias funções discriminantes de um conjunto de variáveis dependentes, enquanto na regressão múltipla todas as variáveis independentes estão incluídas em um único modelo (23).

### **1.10 Estado da arte**

Revelar onde um produto agropecuário foi produzido pode ser um diferencial considerável que remete diretamente à sua qualidade e a características únicas que somente uma determinada região produtora possui. Não por acaso, os selos de Indicação Geográfica (IG) são buscados como poderosas chancelas de qualidade a ponto de alguns se tornarem grifes. É o caso do vinho do Porto, em Portugal, do presunto italiano de Parma e do espumante produzido na região de Champagne, na França. No Brasil, graças ao trabalho da Embrapa e dos produtores rurais da região Sul, os vinhos do Vale dos Vinhedos foram os primeiros produtos nacionais a receber tanto a Indicação de Procedência quanto a de Denominação de Origem, modalidades de IG. Processos de IG apoiados pela pesquisa científica ganham força nas regiões produtoras e têm contribuído para elevar a qualidade do café brasileiro. Apesar de ser um histórico produtor cafeeiro, o País está apenas começando no que se refere aos processos de identificação de origem de grãos. Até agora, o Brasil possui quatro selos de IG de grãos de café: Cerrado Mineiro, Mantiqueira de Minas (Região da Serra da Mantiqueira de Minas Gerais, no Sul de Minas), Norte Pioneiro do Paraná e Alta Mogiana Paulista. São conquistas recentes e as iniciativas espalhadas por outras regiões produtoras já demonstram que o setor despertou para a importância de demarcar as origens da produção de café diferenciado, de qualidade e atestado com o selo de origem. Nessa abordagem a presente tese busca discriminar amostras de cafés através de seu aroma de acordo com o grau de torra,

proveniência em macro e microrregiões e a produção de extratos de cafés rico em compostos voláteis de impacto no aroma.

### 1.10 Referências Bibliográficas

1. ABIC (2017). Programa Setorial Integrado. *Exportação - Programa Setorial Integrado*.
- 2 Ormond, J.G.P.; Paula, S.R.L. de; et al. Café:(Re)conquista dos mercados. **BNDES Setorial, Rio de Janeiro**, n. 10, p. 3–56, 1999.
- 3 Clarke, R.J.; Macrae, R. **Coffee**. Essex: Elsevier Ltd, 1985.
- 4 Carvalho, A. Histórico do desenvolvimento do cultivo do café no Brasil. **Documentos IAC**, v. 34, p. 1–7, 1993.
- 5 Guimarães, R.J.; Mendes, A.N.G.; et al. **Cafeicultura**. UFLA/FAEPE, 2002.
- 6 Matiello, J.B. Cultura de café no Brasil: pequeno manual de recomendações. **Rio de Janeiro: IBC**, 1986.
- 7 Illy, A.; Viani, R. **Espresso coffee: the science of quality**. 2005.
- 8 Clarke, R.J.; Macrae, R. **Coffee: Physiology**. 1988.
- 9 Saes, M.S.M.; Farina, E.M.M.Q.; et al. **Associação Brasileira da Indústria de Café-ABIC: ações conjuntas e novos desafios frente a reestruturação de mercado**. Pensa/FEA-USP, 1998.
10. BSCA., B.S.C.A. (2017). Cafés, O que são Especiais?, disponível em “<http://bsca.com.br/a-bsca>” acessado 06/12/2017.
- 11...Conab, C.N.D.A. (2017). Companhia Nacional De Abastecimento, disponível em “<http://www.conab.gov.br/>” acessado 06/12/2017.
- 12 Toledo, P.; Pezza, L.; et al. Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. **Reviews in Food Science and Tecnology**, 2016.
- 13 Giomo, G.S.; Borém, F.M.; et al. Qualidade Física E Sensorial De Cultivares De Coffea Arabica Para Produção De Cafés Especiais No Estado De São Paulo. 2011.
- 14 Joët, T.; Laffargue, A.; et al. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. **Food chemistry**, v. 118, n. 3, p. 693–701, 2010.
- 15 Toledo, P.R.A.B. de; Melo, M.M.R. de; et al. Discriminant analysis for unveiling the origin of roasted coffee samples: A tool for quality control of coffee related products. **Food Control**, v. 73, p. 164–174, 2017.
- 16 Flament, I.; Bessièrre-Thomas, Y. **Coffee Flavor Chemistry**. 2002.
- 17 Yeretizian, C.; Jordan, A.; et al. Analysing the *Headspace* of coffee by proton-transfer-reaction mass-spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 223–224, p. 115–139, 2003.
- 18 Toci, A.T.; Farah, A. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. **Food Chemistry**, v. 153, p. 298–314, 2014.
- 19 Toci, A.T.; Farah, A. Volatile compounds as potential defective coffee beans’ markers. **Food chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1133–41, 2008.
- 20 Maeztu, L.; Sanz, C.; et al. Characterization of espresso coffee aroma by static *Headspace* GC-

MS and sensory flavor profile. **Journal of Agricultural ...**, v. 49, n. 11, p. 5437–5444, 2001.

21 Murota, A. Canonocal discriminant analysis applied to the *Headspace* GC profiles of coffee cultivars. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 57, n. 7, p. 1043–1048, 1993.

22 Field, A.; Miles, J.; et al. **Discovering Statistics Using SPSS**. 2013.

23 Pallant, Julie, and SPSS Survival Manual. 2010. "A step by step guide to data analysis using SPSS." Berkshire UK: McGraw-Hill Education.

## **Capítulo 2 – Objetivos**

## 2. Capítulo 2 - Objetivos

### 2.1. Geral

- O objetivo geral do presente estudo é avaliar os fatores relacionados com a qualidade, como origem geográfica, grau de torrefação, tipos de grãos e tipo de extração em relação com a qualidade do café, procurando compostos marcadores e modelos matemáticos que auxiliem na melhoria de qualidade dos cafés torrados.

### 2.2. Específico

- Elaborar revisão bibliográfica abordando os aspectos envolvidos na relação entre a qualidade do café e sua composição volátil, desde o momento do plantio até o momento em que o café é servido na xícara;
- Aplicar ferramentas de estatística multivariada (análise discriminante) na composição volátil de amostras de cafés submetidas a diferentes graus de torrefação, com o objetivo de identificar marcadores químicos capazes de rotular sua categoria de torrefação e assim combiná-los sob a forma de um modelo global;
- Discriminar amostras de café, principalmente *Coffea arábica*, de diferentes países e continentes, definindo sua composição volátil como critério de avaliação;
- Elaborar de um modelo estatístico para diferenciação de amostras de cafés através da sua composição volátil de acordo com sua proveniência por microrregiões (produtores brasileiros);
- Elaborar de um modelo estatístico para discriminação de amostras de cafés através da sua composição volátil de acordo com a classificação da ABIC para cafés torrados (Tradicional, Superior ou *Gourmet*);
- Elaborar revisão bibliográfica abordando três diferentes matrizes de café (cru, torrado e borra) que podem ser objeto para extração por fluído supercrítico, focando na produção de óleo essencial, *clean up* de matérias-primas (compostos nocivos), descafeinação e controle de qualidade de amostras;
- Avaliar a influência da pressão, temperatura e co-solvente (etanol) no rendimento da extração supercrítica de óleo aromático de cafés brasileiros, bem como identificar as condições de extração que melhoram a concentração compostos voláteis presentes na fração aromática, com o objetivo de produção de extratos ricos em compostos voláteis de impacto no aroma.

### **Capítulo 3– Relação entre os diferentes aspectos relacionados à qualidade do café e seus compostos voláteis.<sup>2</sup>**

---

<sup>2</sup> O presente capítulo foi transcrito da seguinte publicação: Toledo, P. R., Pezza, L., Pezza, H. R., & Toci, A. T. (2016). Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 705-719. Fator de impacto 5.974

### 3.1 Introdução

A definição de qualidade não é uma tarefa simples devido as suas muitas facetas. Uma definição oficial é fornecida pela Organização Internacional de Normalização (OIN):

“Medida em que um grupo de características intrínsecas (físicas, sensoriais, comportamentais, temporais, ergonômicas, funcionais, etc.) satisfaz os requisitos desejados, quando a exigência significa necessidade ou expectativa, que pode ser explícita, geralmente implícita ou vinculativa” Organização Internacional de Normalização (OIN) (1).

Neste contexto, o aroma do café tem um fascínio especial para os consumidores, sendo um dos principais atributos de qualidade avaliado por estes e pode ser decisivo no momento da compra.

O café torrado é um dos produtos alimentares mais aromáticos, que é consumido essencialmente pelo prazer proporcionado por seus componentes voláteis (aroma). A concentração de compostos aromáticos presentes no café torrado pode chegar a 1 g por quilo (2,3) e a sua caracterização tem sido extensivamente estudada ao longo dos anos.

O aroma do café está intrinsecamente relacionado com a composição química dos grãos, que durante a etapa de torrefação, passam por inúmeras modificações químicas, gerando uma grande variedade de compostos voláteis. Por outro lado, a composição química dos grãos e conseqüentemente sua qualidade, é diretamente afetada por uma série de parâmetros, incluindo: espécie e variedade de café, clima, solo, qualidade dos grãos, *blends*, processamento pós-colheita, tipo de torrefação e armazenamento.

Até agora foram identificados mais de 900 compostos voláteis presentes no café torrado. Estes podem ser divididos em diferentes classes, incluindo (em ordem de abundância) furanos, pirazinas, cetonas, pirróis, fenóis, hidrocarbonetos, ácidos carboxílicos, anidridos, aldeídos, ésteres, álcoois, compostos sulfurados e outros. No entanto, o aroma de café que é desejado é originado por um delicado equilíbrio na composição destes compostos voláteis. Acredita-se que apenas cerca de 5% destes compostos são realmente odoríferos e capazes de afetar o *flavor* do café (4) (Tabela 1). Entre estes compostos, destacam-se as pirazinas, seguidas dos furanos, aldeídos, cetonas, fenóis, compostos sulfurados entre outros (5–7)

Tabela 1- Compostos de impacto para o café torrado

<i>N</i>	<i>Compostos</i>	<i>Nota Positiva (+)</i> <i>ou Negativa (-)</i>	<i>Notas Sensoriais</i>	<i>Referências</i>
1	2,3-Butanodiona	+	Amanteigado	1, 2, 3, 4
2	2,3-Pentanodiona	+	Oleosa/Amanteigado	3, 4
3	1-Octen-3-ona	-	Cogumelo	1
4	2-Hidroxi-3-Metil-2-Ciclopenten-1-Ona	+	Doce / Caramelo	2
5	Propanal	+	Torrado / Frutado	3, 4
6	2-Metil-propanal	+	Maltado / Frutado	3, 4
7	3-Metil-propanal	+	Cacau Torrado	3
8	4-Metilbutanal	+	Amanteigado	2, 3, 4
9	Hexanal	-	Manteiga Rançosa	3
10	(E) -2-Nonenal	+	Amanteigado	2
11	Metional	-	Batata Cozida	1
12	Metanotiol	-	Batata Cozida	3, 4
13	4-Metil-2-buten-1-tiol	-	Defumado/ Torrado	2, 4
14	2-Metil-4-furantiol	-	Carne	1, 4
15	5-Dimetil-trisulfeto	-	Sulfurosa	1, 4
16	2-Furfuriltiol	-	Torrado	1, 4
17	2-Furanmetanotiol	-	Defumado / Torrado	2
18	2- (Metiltiol) Propanal	-	Molho De Soja	2
19	2- (Metiltio-Metil) Furano	-	Defumado / Torrado	2
20	3,5-Di-hidro-4 (2H) -Tiofenona	-	Defumado / Torrado	2
21	2-Acetil-2-Tiazolina	-	Torrado	1
22	Acido 4-Metilbutanóico	-	Doce / Ácido	1, 2
23	(E) -1- (2,6,6-Trimetil-1-Ciclo-Hexa-1,3-Dienil) But-2-en-1-on (β-Damasceno)	-	Maçã Cozida/ Doce /Frutado	1, 2, 4
24	3-Hidroxi-2,5-dimetil-4 (2H) -Furanona	+	Caramelo/ Doce	1, 2, 4
25	2-Etil-Furaneol	+	Caramelo	1
26	4-Hidroxi-4,5-Dimetil-2 (5H) -Furanona	+	Picante	1, 4
27	5-Etil-4-Hidroxi-4-Metil-2 (5H) -Furanona	+	Picante	1
28	2-Etil-4-Hidroxi-5-Metil-4 (5H) –	+	Doce / Caramelo	2
29	2-Metoxifenol (Guaiacol)	-	Fenólica / Torrado	1, 2, 3, 4
30	4-Metoxifenol	-	Fenólica	1, 2
31	4-Etil-2-Metoxifenol (4-etil Guaicol)	-	Fenólica	1, 4
32	4-Vinil-2-Metoxifenol (4-vinil Guaicol)	+	Cravo	1
33	4-Etenil-2-Metoxifenol (4-Etenil Guaiacol)	-	Fenólica	2
34	3-Metilindol	+	Coco	1
35	4-Hidroxi-3-Metoxibenzaldeído (Vanilina)	+	Baunilha	1, 4
36	2,3-Dimetilpirazina	+	Avelã / Torrado	2
37	2,5-Dimetilpirazina	+	Avelã / Torrado	2
38	2-Etilpirazina	+	Amendoim /	3
39	2-Etil-6-Metilpirazina	+	Amendoim /	3
40	2,3-Dietil-5-Metilpirazina	+	Avelã / Torrado	1, 2, 4
41	2-Etil-3,5-Dimetilpirazina	-	Terra / Avelã /	1, 2, 3, 4
42	3-Etil-2,5-Dimetilpirazina	-	Terra	1
43	3-Isopropil-2-Metoxipirazina	-	Terra	1
44	3-Isobutil-2-Metoxipirazina	-	Terra	1
45	2-Etenil-3,5-Dimetilpirazina	-	Terra	1, 4
46	2-Etenil-3-Etil-5-Metilpirazina	-	Terra	1, 4
47	6,7-Di-Hidro-5H-Ciclopentapyrazine	+	Avelã / Torrado	2
48	6,7-Di-Hidro-5-Metil-5H-	+	Avelã / Torrado	2
49	3-Mercapto-3-Metilbutil Formiato	-	Urina de gato/Cassis	1, 2, 4
50	3-Mercapto-3-Metil-Butanol	+	Avelã / Torrado	2

Referências: 1-Sanz et al (8) / 2-Akiyama et al (5) / 3-Maetz et al (6) / 4-Czerny et al (7) Transcrito de Toci (9)

O objetivo deste capítulo é abordar aspectos envolvidos na relação entre a qualidade do café e sua composição volátil, desde local de cultivo até seu consumo. Esta ampla visão ajudará a identificar aspectos que ainda exigem esclarecimentos. Quarenta e oito artigos foram utilizados para esse fim (1969 a 2016), tais trabalhos consideram os diferentes aspectos que afetam a qualidade do café. A maioria dos estudos identificam os compostos voláteis encontrados em grãos de café procurando relação com outros aspectos de interesse, levando assim à identificação de marcadores voláteis de cafés nesses aspectos.

### 3.2 Espécies e cultivares

Existem mais de 100 espécies de cafés em todo o mundo, entre os quais dois tornaram-se mais extensivamente comercializados, nomeadamente, *Coffea arabica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café robusta). Essas espécies possuem características físico-químicas distintas, produzindo bebidas com características sensoriais muito diferentes (10). O café arábica tem maior valor comercial, devido à sua superioridade sensorial e representa mais de 60% da produção mundial de café (11). O café robusta por sua vez tem um maior teor de sólidos solúveis proporcionando maiores rendimentos após o processo de torrefação, sendo esta espécie amplamente utilizada para produzir café solúvel. Sendo também frequentemente empregado em misturas com café arábica durante a produção de cafés torrados e moídos com o objetivo de se conseguir nuances sensoriais específicas ou até mesmo melhorar a competitividade do produto final no mercado. Por razões econômicas, o café robusta pode ser adicionado a misturas rotuladas como arábica 100%, porém este procedimento, quando não indicado na embalagem, pode ser considerado um tipo de adulteração.

Muitos compostos das mais variadas classes químicas, incluindo furanos, ácidos carboxílicos, pirazinas, cetonas, fenóis, pirróis, compostos de enxofre, hidrocarbonetos e piridinas, foram utilizados para distinguir as duas principais espécies de cafés torrados (Tabela 2; (5,8,12–20). Os marcadores (concentrações mais elevadas) para a espécie arábica (Tabela 2) e que têm um impacto significativo no aroma são 2,3-pentanodiona, 4,5-dimetil-3-hidroxi-2 (5H) -furanona (sotolon), 2,5-dimetil-4-hidroxi-3 (2H) -furanona (furaneol) e 5-etil-3-hidroxi-4-metil-2 (5H) -furanona (abhexon); (5,14,16,19,20). Os compostos furaneol \*, sotolon \* e abhexon \* são responsáveis por notas de caramelo doce e notas picantes, enquanto o composto 2,3-pentanodiona confere notas de amanteigadas (Tabela 1\*compostos de impacto). No entanto, compostos fenólicos e derivados (2-metoxifenol\*, 4-etilguaiaicol\* e 4-vinilguaiaicol\*) são nomeadamente marcadores em cafés robusta (12). Dentro dessa classe de compostos

destaca-se o composto 2-metoxifenol\* (guaiacol), que confere notas fenólicas (Tabela 1 e 2). Outros compostos que são marcadores de cafés robusta são furfural, pirróis, N-alkilpirrol, as N-alkilpirazinas (2-etil-5-metilpirazina, 2,3,5-trimetilpirazina, 2,3-dietil-5-metilpirazina\* e 3-etil-2,5-dimetilpirazina\*), 2-metilbutanal\*, piridina e fenil-2-pirrolcarbaldeído (Tabela 2; (13–16,18,19)). Alguns destes compostos, tais como as pirazinas 2-etil-5-metilpirazina e 3-etil-2,5-dimetilpirazina\*, conferem notas terrosas que são negativas para a qualidade final da bebida (Tabela 1). Possivelmente, devido a estas notas, geralmente se considera que quanto maior o teor de robusta na mistura (arábica/robusta), menor será sua qualidade, corroborando para a superioridade sensorial que a espécie arábica possui frente a espécie robusta.

Tabela 2 - Principais compostos voláteis relacionados com as espécies, origens geográficas e parâmetros de armazenamento de grãos de café brutos (B) ou torrados (T).

Espécies		Origens Geográficas			Armazenamento		
Arábica	Robusta	Temperaturas Baixas (Tmédia = 16.4°C)	Temperaturas Altas (Tmédia = 25.6°C)	Índices pluviométricos (1500-2500 mm) 1 (807-1918 mm) 2	Temperatura (25 ° C)	Umidade (Aw ≥0.8)	Atmosfera Oxidativa (Ar Atmosférico)
2,3-Pentanodiona * (+) (R)	2,3,5-Trimetilpirazina (+) (T)	Etanal (+) (B)	1,3-Butanodiol (+) (B)	γ-Valerolactona <sup>1</sup> (+) (B)	Butanal (+) (T)	Ácido Acético (+) (T)	2,3-Butanodiona * (-) (T)
Abhexon * (+) (T)	2,3-Dietil-5-Metilpirazina (+) (T)		2,3-Butanodiol (+) (B)	2-Etil-Hexan-1-ol <sup>2</sup> (+) (B)	Hexanal * (+) (T)	Dimetildissulfeto (+) (T)	2,3-Pentanodiona * (-) (T)
Furaneol * (+) (T)	2-Etil-5-Metilpirazina (+) (T)		2-Butanona (-) (B)	3-Metil-2-Butenoato <sup>2</sup> (+) (B)	Dimetildissulfeto (+) (T)	Dimetiltrisulfeto * (+) (T)	2,6-Dietilpirazina (+) (R)
Sotolon * (+) (T)	2-Metilbutanal * (+) (T)		2-Butoxietanol (+) (B)	Metano <sup>2</sup> (+) (B)	Dimetiltrisulfeto * (+) (T)	Ácido Fórmico (+) (T)	Dimetildissulfeto (+) (R)
	3-Etil-2,5-Dimetilpirazina * (+) (T)		2-Metilfurano (-) (B)			Ácido Glicólico (+) (T)	2-Metilbutanal * (+) (R)
	4-Etilguaiaicol (+) (T)		Metiltiometano (-) (B)			Ácido Láctico (+) (T)	5-Metilfurfural (+) (R)
	4-Vinilguaiaicol (+) (T)					Metanotiol * (-) (T)	Hexanal * (+) (R)
	Furfurpirrol (+) (T)						Metional * (+)(R)
	Guaiacol * (+) (T)						Mercaptano (+)(R)
	N-Alquilpirrol (+) (T)						
	N-Metil-2-Pirrol						
	Carboxaldeído (+) (T)						
	Piridina (+) (T)						

\* Compostos Odorantes de Impacto/ (+) mais abundante (-) menos abundante.

Globalmente as maiores produções da espécie arábica são das variedades *Typica* e *Bourbon*. Outros cultivos estão mais intimamente associados de acordo com seu país produtor como exemplo Mundo Novo e Catuaí (Brasil), Jimma e Harar (Etiópia) e Villa Sarchi (Costa Rica (10). No caso da espécie robusta, comercialmente destacam-se os cultivos das séries BP, SA, S274 e BR na Índia, a série IF na Costa do Marfim e a variedade Apoata no Brasil (21). Existem poucos estudos dedicados às diferenças entre variedades de café. Um dos poucos artigos publicados sobre este tema é de Mathieu e colaboradores (15), no qual 28 compostos aromáticos foram identificados em 3 diferentes variedades de café na Nova Caledônia (*C. Canephora var Pierre*, *C. arabica var. Leroy* e *C. arabica var. Catimor*). O estudo compara as duas espécies e também mostra diferenças entre duas variedades de *C. arabica*. Como resultado verificou-se diferenças substanciais entre as variedades para a maioria dos compostos. Por exemplo, acetato de isobutil, a cariofileno (4,11,11-trimetil-8-metilenobicyclo *undec-4-eno*) e humuleno (2,6,6,9-tetrametil-1,4-8-ciclotecatrieno) foram encontrados apenas em *C. arabica var. Catimor*. Dentre os compostos oxigenados, especialmente 2-pentanona e 2-pentanol, foram mais específicos para a cultivar *C. canephora var. Pierre*. Os resultados também mostraram que foi possível distinguir diferentes variedades de café de acordo com seu perfil aromático, mas este aspecto deve ser melhor investigado.

### 3.3 Origem geográfica

As áreas do mundo em que os grãos de café podem ser cultivados são limitadas, principalmente pelo tipo de solo, manejo, luminosidade e clima, pois a planta do café é facilmente danificada por baixas temperaturas. Desta forma, as latitudes ao norte e ao sul dos trópicos de Câncer e Capricórnio, respectivamente, podem ser consideradas como inadequadas. A altitude torna-se fator importante não só pelo fato da mudança de temperatura, mas também pelas mudanças na radiação solar. A radiação é mais forte em altitudes elevadas devido à maior extensão dos raios UV (por exemplo, acima de 1000 m de altitude, os níveis de UV aumentam em aproximadamente 10%). Um aumento nos raios UV, de maior energia, pode causar a quebra dos hormônios das plantas e posteriormente modificar as características sensoriais do fruto (10).

O café da espécie arábica cresce bem em altitudes médias à altas (1000 a 2100 m) com temperaturas médias diárias de cerca de 18 a 22 °C, típicas das regiões equatoriais. A precipitação anual para a espécie arábica deve variar entre 1500 e 2500 mm, sendo que para a espécie robusta a precipitação anual deve ser pelo menos 2000 mm. Além disso, a espécie arábica cresce melhor em sombra parcial enquanto robusta em sol pleno. Em geral, condições

climáticas mais frias melhoram a qualidade do café arábica. Em contraste, o café robusta que requer um clima quente e úmido e cresce melhor em altitudes mais baixas (100 a 1000 m) com temperaturas médias de 22 a 26 °C, como encontrado em regiões tropicais (21,22).

Muitos estudos, apesar de não considerarem explicitamente as diferenças climáticas, distinguiram amostras de café torrado de diferentes origens usando ferramentas quimiométricas. Verificou-se que essas diferenças climáticas afetam a concentração de alguns compostos de impacto, dentre eles destacam-se: 2-furfuriltiol, 4-(4-hidroxifenil)-2-butanona, 2,3-butanodiona, 2,3-pentanodiona, 2-metilbutanal, 2,3-dimetilpirazina, 2-etil-6-metilpirazina e guaiacol (16,19,23–27). No entanto, todos eles usaram alguns critérios na seleção das amostras e, na maioria dos casos, pouco pode ser concluído em relação à causa da diferenciação. Mondello e colaboradores (19) diferenciaram a fração aromática de 6 amostras de café torrado, dos quais 3 eram arábica (El Salvador, Costa Rica e Brasil) e 3 eram robusta (Togo, Índia e Vietnã). Todas as amostras foram processadas industrialmente (processamento via úmida) e submetidas ao mesmo grau de torra. Para a espécie arábica, os resultados mostraram que o café de El Salvador, cultivado em clima tropical com precipitação anual de 1700 mm, foi discriminado por possuir maiores concentrações de compostos carbonílicos, especialmente dicetonas (2,3-butanodiona\*, 2,3-pentanodiona\*), cetonas (1-hidroxi-2-butanona) e aldeídos (2-metilbutanal\*, 3-metilbutanal e furfural) em particular, derivados de butanal com notas amanteigadas, verdes e desagradáveis (3). A amostra da Costa Rica, com um clima semelhante, possuía maiores concentrações de pirazinas substituídas (2,5-dimetilpirazina\*, 2,6-dimetilpirazina, 2-etilpirazina\*, 2-etil-6-metilpirazina\*, 2-etil-5-metilpirazina e 2-etil-3-metilpirazina), demonstrando que outros fatores não controlados afetaram a composição aromática. O café do brasileiro, cultivado em um clima tropical úmido costeiro com alto índice pluviométrico anual de 1990 mm, seguiu mais ou menos o mesmo comportamento do café arábica da Costa Rica, com exceção de alguns dos compostos furfurílicos, incluindo álcool furfurílico e éter furfurílico (notas queimadas). Das 3 espécies de robusta analisadas, o café de Togo, cultivado em um clima tropical com índice pluviométrico anual de 890 mm, apresentaram menores quantidades de pirazinas substituídas (2-metilpirazina, 2,5-dimetilpirazina\*, 2,3-dimetilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2-etilpirazina\*, 2-etil-6-metilpirazina\*, 2-etil-5-metilpirazina e 2-etil-3-metilpirazina), porcentagens mais elevadas de compostos furfurílicos (álcool furfurílico e éter furfurílico) e guaiacol\*. As pirazinas e os terpenos foram, respectivamente, as classes químicas mais e menos abundantes respectivamente presentes no café indiano, cultivado em um clima de monção tropical com

índice pluviométrico anual de 10.700 mm. O café vietnamita, produzido em uma região montanhosa com clima de monção e chuvas anuais de 2000 mm, apresentou baixas concentrações de álcool furfurílico e guaiacol\*. Considerando os cafés arábicas, pode-se observar que as 3 regiões de cultivo possuíam climas muito similares, embora a região costeira de Santos esteja em altitude mais baixa, em comparação com as outras regiões. No caso dos cafés robusta, as regiões apresentaram climas distintos com diferentes índices pluviométricos e temperaturas. Assim, não foi possível obter correlações entre os compostos aromáticos presentes e as condições climáticas. Por sua vez, Cheong e colaboradores (27) compararam os constituintes voláteis de 2 variedades de cafés arábica asiáticos, originários da Tailândia (cidade de Doi Chang, com clima temperado quente e precipitação média anual de 1415 mm, *Coffea arabica* var. *Catimor*), Indonésia (cidade de Sidikalang, com clima tropical e precipitação média anual de 2536 mm, *C. arabica* var. *Typica*) e China (província de Yunnan, com clima temperado e precipitação média anual de 1500 mm, *C. arabica* var. *Catimor*). Duas amostras eram de Sidikalang, com processamento pós-colheita diferentes, sendo um deles café Kopi Luwak. As análises discriminantes foram capazes de diferenciar todas as amostras, os cafés de Yunnan e Doi Chang apresentaram perfis aromáticos similares, ricos em furanos, piridinas e pirróis. No entanto, as amostras de Yunnan apresentaram maiores concentrações de alguns compostos aromáticos de impacto, tais como 2-furfuriltiol\*, guaiacol\*, 4-etilguaiacol\*, p-vinilguaiacol\* e também  $\gamma$ -butirolactona. Apesar disso, poucas conclusões podem ser extraídas da semelhança entre as duas amostras, pois não só compartilham a mesma variedade de café, mas também as cidades têm condições climáticas muito semelhantes. Os cafés da Indonésia apresentaram maiores níveis de furfural, 5-metilfurfural e 1-hidroxi-2-propanona.

Freitas e Mosca (23) também diferenciaram a composição volátil de cafés torrados provenientes de diferentes países. Amostras de *C. arabica* foram obtidas do Brasil (São Paulo e Paraná), Costa Rica (planícies do Pacífico e planalto central) e Honduras (Santa Bárbara, El Paraiso e Comayagua). As amostras de *C. canephora* eram da Costa do Marfim, Angola (Cabinda e Ambriz), Uganda (300 km do lago Victoria), Índia (Karnataka e Kerala) e Camarões. Os países e regiões das quais os cafés foram originados têm climas bem diversificados: tropicais, tropicais costeiros no Brasil; equatorial de altitude Honduras, equatorial na Costa Rica e Costa do Marfim, tropical nos Camarões e Angola, equatorial de altitude na Uganda e tropical de monções na Índia. O uso de ferramentas quimiométricas permitiu a diferenciação geográfica de acordo com o perfil de compostos voláteis de cada amostra. Os cafés brasileiros foram distinguidos por maiores concentrações de 5-metil-1H-

pirrol-2-carbaldeído e 3-pentilfurano, enquanto os compostos  $\gamma$ -butirolactona e 2-acetato de furanometanol permitiram a identificação de cafés arábica da Costa Rica. Nenhum composto específico pode ser associado a cafés arábica de Honduras. No caso do café robusta o composto 3-etil-2,5-dimetilpirazina\* e um composto fenólico desconhecido distinguiram as amostras da Costa do Marfim, enquanto que o acetato de 2-furanometanol e 5-metil-1H-pirrol-2-carbaldeído foram os principais compostos responsável por diferenciar as amostras indianas. Cafés da Uganda, Angola e Camarões podem ser identificados pela presença de 4-etil-2-metil-pirrol.

Bertrand e colaboradores (22) avaliaram o efeito das condições climáticas nos compostos voláteis de grãos de café crus e torrados. A hipótese é que a composição volátil no café cru representa a assinatura da composição bioquímica desses grãos, desta forma, os autores correlacionaram os compostos voláteis presentes no café cru com os atributos de análise sensorial na bebida, isto foi possível por causa de 22 compostos voláteis correlacionados com as condições climáticas encontradas nos grãos crus, 18 compostos também foram encontrados no café torrado. Os autores descrevem que os cafés cultivados em condições mais quentes (menor altitude), apresentaram aumentos significativos nas concentrações de certos álcoois, tais como o 2-butoxietanol, o 2,3-butanodiol e o 1,3-butanodiol, em comparação com os cafés cultivados em condições climáticas mais amenas (maiores altitudes). A presença dos últimos 2 compostos tem sido associada à redução da qualidade aromática do café, conferindo notas terrosas e verdes (*off-flavors*) (28), além do 2,3-butanodiol ser conhecido por estar presente no aroma em processos resultantes de uma fermentação inadequada (29). Os autores têm como hipótese que a alta temperatura durante o desenvolvimento do fruto do café, fato típico de regiões com maior variabilidade de temperatura, induzem a acumulação de compostos voláteis e que dão origem a aromas que são prontamente detectados por notas terrosas ou verdes na análise sensorial. Por outro lado, outros compostos apresentaram diminuições significativas nas concentrações com aumento da temperatura, nomeadamente o 2-metilfurano (notas de caramelo/noz), 2-butanona (notas de framboesa/odor doce-frutado) e metiltiometano (notas sulfurosas) (3). Em climas mais frios, são detectadas concentrações mais elevadas de etanal, tal composto confere atributos frutados, o que pode ser considerado um indicador sensorial positivo da qualidade do café. Em termos gerais, os autores concluíram que os cafés arábica produzidos em regiões com clima frio e de maior altitude apresentaram melhor qualidade aromática e exibiram menos defeitos em comparação com os produzidos em regiões mais quentes e em altitudes mais baixas.

Tendo em consideração que o café arábica se desenvolve melhor em áreas cultivadas com índices pluviométricos anual entre 1500-2500 mm (21). No mesmo estudo citado acima, Bertrand e colaboradores (22) observaram que as culturas cultivadas em zonas com índices pluviométricos anuais variando entre 807 e 1918 mm apresentaram níveis mais altos de certos compostos voláteis que conferem notas negativas ao café (grãos crus), tais como o 2-etil-hexan-1-ol (notas terrosas ligeiramente florais), 3-metil-2-butenato (notas frutadas) e metano (3). No mesmo trabalho, verificou-se que, para os cafés cultivados em altitudes elevadas com precipitação anual de 1500-2500 mm, houve aumento na concentração de 5-metil-hidrofurano-2 (3H)-ona ( $\gamma$ -valerolactona), o que confere notas positivas (notas de baunilha).

Em termos gerais, na maioria dos casos, foi dada ênfase à diferenciação geográfica, sem considerar vários outros parâmetros relevantes. A relação entre a qualidade aromática do café, clima e o solo da região de cultivo requerem um estudo mais aprofundado.

### **3.4 Grãos Defeituosos e Tipos de Bebidas**

A floração irregular ao longo do ano é comum nas plantações de café, portanto os frutos não amadurecem uniformemente, assim, durante a colheita, juntamente com os frutos de café maduros, frutos imaturos, passados do ponto de maturação são também colhidos, dando origem a grãos defeituosos que prejudicam a qualidade da bebida (30). Este é um problema intrínseco de países com grandes volumes de produção, como exemplo o Brasil. Estima-se que cerca de 20% (8 milhões de sacas) da produção de café brasileiro corresponde a grãos defeituosos que são impróprios para exportação e, por conseguinte, são incorporados no mercado interno (11)

Defeitos intrínsecos que são considerados mais importantes em termos de prejudicar a qualidade do café, estes defeitos estão relacionados com a presença de grãos colhidos nos estágios imaturos de desenvolvimento e/ou oriundo de fermentação ou oxidação que ocorrem nas plantas, no solo, ou após a colheita (21,31). Os principais defeitos intrínsecos do café são: defeito verde, que é devido à presença de frutos imaturos, esses grãos tornam a bebida adstringente com notas desagradáveis de folhas verdes (21,32,33); Defeito fermentado, pode ser causado por problemas de irrigação durante o cultivo, ou por dificuldades durante o processamento pós-colheita, levando a fermentação indesejável nos grãos maduros e verdes (21,32). A presença de grãos fermentados pode preceder a formação de grãos pretos (32), o defeito preto é caracterizado pela presença de frutos que passaram o ponto de maturidade, devido ao amadurecimento natural na planta, bem como os frutos danificados pela chuva ou pela queda no solo durante a colheita. O contato do fruto com o solo favorece o

desenvolvimento de fermentação microbiana indesejável (21,33,34). De acordo com Illy e Viani (21), o defeito preto também pode ser causado por uma deficiência de hidrocarbonetos durante o processo de desenvolvimento, ou por fermentação microbiana durante o processamento pós-colheita. O grão preto produz notas de tabaco e notas queimadas extremamente desagradáveis. (Figura 3). O defeito *stinker*, originado de processos de fermentação inadequados, está associado a grãos que aparentemente parecem normais a olho nu (30), mas tais defeitos ocorrem devido a processos de despolpamento via úmida mal controlados, que podem comprometer seriamente a qualidade final da bebida. A técnica de fluorimetria pode ser utilizada para identificar esse defeito, sendo que de acordo com algumas classificações, os grãos preto-verde constituem o mesmo defeito.



Figura 3- Principais defeitos de grãos de café (Fonte ABIC (11))

As bebidas de café são preparadas utilizando-se misturas de diferentes grãos com características organolépticas distintas que podem contribuir ou não para a qualidade final da bebida. Uma mistura de grãos é usada para otimizar o aroma, o corpo e o sabor, com o objetivo de produzir um café que ofereça maior qualidade de copo do que obtido com qualquer um dos grãos utilizados individualmente. Os grãos de café cru, por conseguinte precisam ser classificados de acordo com as suas propriedades físicas e sensoriais. Os parâmetros avaliados são geralmente o tamanho, forma, densidade, cor e aspecto dos grãos, a proporção de grãos defeituosos, pré-processamento, torrefação e qualidade sensorial (21). Infelizmente, há uma

falta de uniformidade entre os países produtores em termos de tipo de classificação. No Brasil, o maior produtor mundial, as classificações de bebidas são: estritamente mole, mole, suave, dura, rio e riada, em ordem decrescente de qualidade (11).

Pouco se conhece sobre a composição volátil dos grãos defeituosos, em grande parte devido à complexidade inerente de sua composição química. Os compostos de uma grande variedade de classes químicas, tais como aldeídos (2-butenal,\* 2-metil-propanal, 3-metilbutanal e 2-metilbutanal\*), ácido acético, éteres (1-metoxi-3-metil-benzeno e 2,4, 6-tricloroanisol), álcoois (dimetil-3-octenol, 2-metilisobutanol, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol, 1-octen-3-ol, 2-nonanol, hexan-1-ol, 4,8-dimetil-deca-hidronaftalen-4a-ol (geosmina) e 1,2,7,7-tetrametilbicyclo-[2.2.1]heptan-2-ol (2-metilisoborneol), pirazinas (3-isopropil-2-metoxipirazina\* e 3-isobutil-2-metoxipirazina\*), cetonas (1-octan-3-ona\*, pentadecan-2-ona), fenóis (3-metil-1-metoxifenol), tióis (dimetildisulfeto e 2-furfuriltiol\*), hidrocarbonetos (metil-benzeno, 1,3-bis-1,1-dimetiletilbenzene, 7-metil-3-metileno-1,6-octadieno) e éster (2,6-bis-(1,1-dimetiletil)-4-etil) foram identificados como responsáveis pelas notas negativas em café. No entanto, nenhum destes compostos citados tem sido associado com defeitos característicos indicados na Classificação Oficial Brasileira (COB), relacionados com o tipo de bebida ou para o desenvolvimento microbiano nos grãos (29,35–39).

Alguns dos estudos citados acima, certos compostos foram associados à presença de microrganismos específicos. Iamanaka e colaboradores (39) analisaram grãos crus inoculados com *Aspergillus foetidus*, um fungo frequentemente encontrado em cafés submetidos a procedimentos de pós-colheita de varrição (grãos secos em terreiros), identificando a presença do composto de 1-octen-3-ol (nota cogumelo), dimetilsulfeto (odor decomposição) e 2-butenal. As amostras também foram torradas e submetidas a análise sensorial, em que características sensoriais negativas foram associadas a estes compostos. Os compostos voláteis de dimetilsulfeto (odor decomposição), 1-octen-3-ol, 2-metilisoborneol (notas terrosas), geosmina (odor de terra molhada), 1-metoxi-3-metil-benzeno (odor de éter), foram encontrados em amostras cruas inoculadas com fungos das espécies *de Aspergillus* e *Penicillium* (36) (Tabela 3). Spadone e colaboradores (35) analisaram os grãos de café crus classificados como bebidas “rio” identificando quatro importantes marcadores voláteis  $\alpha$ -terpineol (2-(4-metil-1-ciclo-hex-3-enil-propan-2-ol)), salicilato de etila, geosmina e 2,4,6-tricloroanisol, associados com odores de mofo e notas terrosas. O composto 2,4,6-tricloroanisol (TCA) foi considerado marcador para notas negativas em amostras “rio”, com concentrações variando de 1 a 100 ppb. Durante a torrefação, menos de 50% do TCA presente nos grãos é degradado, sendo o composto precursor

o 2,4,6-triclorofenol, como mencionado anteriormente, alguns destes compostos estão relacionados com a presença de fungos (36).

Tabela 3 - Aumento dos principais compostos voláteis relacionadas à grãos defeituosos crus (B), torrados (T) e parâmetros de pós-colheita.

Grãos defeituosos					Processos pós colheita		
<i>Aspergillus foetidus</i> 1 e <i>penicillium</i> 2	<i>P. Brevicompactum</i>	Defeito preto	PVA -preto (p), verde (v) e ardido (a)		<i>Stinker</i>	Tratamentos úmidos	Tratamentos secos
1-octen-3-ol <sup>1,2</sup> (B)	1-octano-3-ona* (B)	2-furilmetanol de etila (B)	1,5-dimetil-2-pirrolcarbonitrila (T)	2-pentilpiperidina (T)	2-acetilpirazina (B)	2-hidroxi-3- metil ciclopenten-1-ona- * (T)	2,3-butanodiol (B)
1-metoxi-3-metilbenzeno <sup>1,2</sup> (B)	2-octenal (B)	2-metilpirazina (B)	1H-pirrol (T)	2-feniletil de etila (B)	2-metil- etilbutanoato (B)	2- feniletanol (B)	Ácido acético (B)
2-butenal <sup>1</sup> (B)	Decanal (B)	2-pentilfurano (T)	2,3,5,6-tetrametilpirazina (B)	3-metilbutanal (B, T)	Etilbutanoato de (B)	3-metil-2-ciclopenten-1-ona (T)	Dimetilsulfeto (B)
2-metilisoborneol <sup>1,2</sup> (B)	Nonen-2-ona (B)	3-etil-2-metil-1,3-hexadieno (B)	2,3-butanodiol (T)	3-metilpiperidina (T)	Etilisobutanoato (B)	4-etilguaiaicol * (T)	Dimetilsulfóxido (B)
Geosmina <sup>1,2</sup> (B)	Non-3-en-2-ona (B)		2,3-butanodiona * (T)	3-octeno-2-ona (B)	Acetato de hexila (B)	4-metoxifenol * (T)	
Dimetilsulfeto <sup>1,2</sup> (B)	Pentadecan-2-ona (B)		2,3-di-hidro-2-metil-1h-benzopirrol (T)	4-etilguaiaicol * (T)	Acetato de isoamila (B)	4-vinilguaiaicol * (T)	
	Undecan-2-ona (B)		2,3-dimetilbutilbutanoato de metila (B)	4-metiltiazol (T)	Acetato de isobutila (B)	5-metilfurfural (T)	
			2-butil-3,5-dimetilpirazina (T)	Benzeno ácido acético (éster metílico) (T)	β -linalol (B)	Etanol (B)	
			2-butil-3-metilpirazina (T)	Guaiacol * (T)		Acetato de etila (B)	
			2-furfuriltiol * (B, T)	Ácido hexanodióico (T)		Acetato de isovalerato (B)	
			2-isoamil-6-metilpirazina (T)	Ácido hexanóico (B, T)		Formiato furfurílico (B)	
			2-metilbutanal * (B, T)	β-linalol (T)		Acetato de metila (B)	
			2-metil-propanal * (B, T)	γ-butirolactona (B)			
			2-octenal (B)				
			2-pentilfurano (T)				

\* Compostos Odorantes de impacto

No entanto, nem todos os fungos conferem notas negativas ao café. Por exemplo, no café cru foram inoculados *Penicillium brevicompactum*, um fungo amplamente encontrado no café e analisando estas amostras foram identificados compostos voláteis das seguintes classes: aldeídos (2-octenal e decanal) e cetonas (nonen-2-ona, non-3-en-2-ona, undecan-2-ona, 1-octan-3-ona\* e pentadecan-2-ona) (Tabela 3). Estes compostos são geralmente caracterizados pela presença de notas cítricas frescas, aromas frutados e florais, conferindo notas positivas para a bebida, que podem ser identificados por análise sensorial (39).

Outro problema comum nas fazendas produtoras de café compreende infestações causadas pela broca do café (*Hypothenemus haempei*), besouro cuja larva se alimenta das sementes dos frutos, causando prejuízos quantitativos e qualitativos ao café produzido. Toci e Farah (40) analisaram amostras de grãos defeituosos danificados por *H. haempei* o composto volátil 1-(2-metil-fenil)-etanona foi observado neste tipo de defeito. Os autores sugeriram que esse composto é originário da decomposição de compostos não voláteis por uma enzima digestiva do inseto presente nos frutos do café atacados pela broca. De acordo com Toledo e Barbosa (30) e Bee e colaboradores (41) apenas ligeiras alterações nos aspectos sensoriais da bebida, como acidez e amargor são notadas, mas o impacto sensorial da presença de 1-(2-metil-fenil)-etanona em grãos crus deve ser cuidadosamente investigada após a torrefação dos grãos. Além disso, os compostos odoríferos 3-isopropil-2-metoxipirazina\* e 3-isobutil-2-metoxipirazina\*, resultam em um defeito que confere notas de “batata cozida”, esse defeito tem sido associado também à infestação do inseto *Antestia (Antestiopsis orbitalis)* relatado em plantações de café da África Oriental (42).

Morais e colaboradores (43) estudaram a composição química de grãos de café arábica saudáveis (*Coffea arabica*) e misturas de grãos defeituosos PVA, submetidas a diferentes graus de torrefação. Verificou-se que a presença de defeitos aumenta os níveis de substâncias indesejáveis no aroma, tais como aldeídos de baixa massa molar e sulfetos. A torrefação prolongada (torra escura) reduz essas diferenças, afetando a distinção dos seus aromas, amostras de grãos defeituosos mostraram atividades odoríferas relativas mais elevadas para os compostos 2-metilpropanal\* (aroma de gramíneas), 3-metilbutanal\* (aroma de amêndoa), 2-metilbutanal (aroma de malte) e 2-furfuriltiol\* (aroma torrado).

Ribeiro e colaboradores (44) avaliaram a composição aromática de diferentes tipos de bebidas (estritamente mole, mole, rio e riada). Os compostos 3-metilbutanal, 2,3-pentanodiona\* e 4-vinilguaicol\* foram identificadas como marcadores voláteis para as bebidas de alta qualidade (estritamente mole e mole). Por outro lado, o composto metanotiol\*, estava presente

em níveis mais elevados em bebidas de baixa qualidade (rio e riada). Os compostos pirrol, 2-metilpirrol, ciclopentanona, di-hidro-2-metil-3-furanona, furfural, 2-etil-5-metilpirazina, 2-etenil-N-metilpirazina e 5-metil-2-propionilfurano foram sugeridos como possíveis marcadores para qualidade geral das bebidas. Entre estes, os compostos pirrol, 2-metilpirrol e ciclopentanona, quando presente em concentrações elevadas, tendem a reduzir a qualidade final das bebidas. Por outro lado, os compostos di-hidro-2-metil-3-furanona, furfural, 2-etil-5-metilpirazina, 2-etenil-N-metilpirazina e 5-metil-2-propionilfurano melhoram a qualidade sensorial dos cafés quando presente em concentrações mais elevadas.

Um dos primeiros estudos para investigar a composição dos grãos defeituosos foi realizado por Guyot e colaboradores (29). Em comparação com os grãos saudáveis, foram encontrados em grãos de *stinker* (originados de fermentação excessiva) os compostos: isobutanoato de etila, acetato de isoamila, acetato de isobutila, butanoato de etila, 2-metil-etil butanoato, acetato de hexila, 2-acetilpirazina e 3,7-dimetil-octa-1,6-dien-3-ol ( $\beta$ -linalol) (Tabela 3). A presença do defeito *stinker* é causada por fermentação excessiva dos grãos de café durante a etapa de pré-processamento e as bebidas produzidas a partir desses grãos são caracterizados por notas negativas desagradáveis.

Franca e colaboradores (45) realizaram uma avaliação comparativa das frações voláteis de grãos defeituosos (preto, verde e ardido (PVA)) e grãos arábica saudáveis, a fim de identificar possíveis marcadores químicos para a detecção de grãos defeituosos em café torrado. Os compostos sugeridos como possíveis marcadores foram o ácido benzoico, 2-isoamil-6-metilpirazina, 1H-pirrol, 4-metiliazol e 1,5-dimetil-2-pirrolcarbonitrila, o que demonstra que a presença destes compostos na fração volátil poderia ser usada para distinguir grãos de café saudáveis e grãos defeituosos.

Após pesquisa realizada no Brasil, vários trabalhos foram publicados sobre a identificação de marcadores voláteis de grãos defeituosos (2,40,46). Nestes estudos, verificou-se que os grãos defeituosos continham maiores concentrações de compostos voláteis, em comparação a grãos saudáveis. Compostos de uma grande variedade, e de diferentes classes químicas foram sugeridos como potenciais marcadores de grãos defeituosos. Estes compostos foram encontrados exclusivamente nos grãos defeituosos (marcadores voláteis) ou estavam presentes em concentrações superiores em grãos defeituosos (indicadores de baixa qualidade). Os compostos  $\gamma$ -butirolactona, ácido hexanóico,  $\beta$ -linalol e 2-butil-3,5-dimetilpirazina foram identificadas como marcadores para grãos defeituosos em geral (2,40). Entre os diferentes defeitos, o defeito preto foi associado com os compostos marcadores específicos 3-etil-2-metil-

1,3-hexadieno e 2-pentilfurano (2,46). Outros compostos também foram sugeridos como indicadores de baixa qualidade: 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 2,3-butanodiol, 4-etilguaiacol\*,  $\beta$ -linalol, 2,3-dimetilbutil butanoato de etila, acetato de 2-feniletila, 2,3 -butanodiona\*, ácido hexanodióico, guaiacol\*, 2,3-di-hidro-2-metil-1H-benzopirrol, 3-metilpiperidina, 2-pentilpiperidina, 3-octeno-2-ona, 2-octenal, 2-pentilfurano e 2-butil-3-metilpirazina (2).

Em geral, pode ser concluir que os grãos defeituosos e bebidas de baixa qualidade têm sido extensivamente estudadas quando comparadas a bebidas de alta qualidade e que é possível utilizar a fração aromática para se identificar os grãos defeituosos ou contaminados por fungos ou insetos. No entanto, continua a haver uma necessidade de caracterização dos perfis aromáticos de bebidas de alta qualidade para identificar seus possíveis marcadores voláteis.

### **3.5 Processamento (pós-colheita)**

O processamento do café envolve todo o processo de transformação dos frutos, depois da colheita em grãos secos adequados para a torrefação. O procedimento é dividido em duas etapas. A primeira consiste em lavar os frutos de café com água, a fim de separar as folhas, pedras e outras impurezas. Os frutos podem também ser separadas de acordo com a densidade, durante a separação, os frutos secos e passados flutuam, enquanto os frutos verdes e maduros afundam. Em muitos países, há um passo de classificação antes da lavagem dos frutos para remover frutos verdes, sendo estes processados separadamente. A segunda etapa consiste em secagem e despulpamento dos frutos. Isto pode ser conseguido pelos métodos: natural (seco), via úmida, ou despulpamento natural (semi-seco). No processo natural, que é mais comum no Brasil, os frutos de café são secos sob o sol em terraços ou em grandes secadores. A qualidade do produto também depende das condições climáticas regionais (umidade, temperatura e precipitação), especialmente durante a época de colheita. A chuva e umidade atmosférica elevada, podem favorecer o desenvolvimento de microrganismos que causam fermentações indesejáveis e em uma análise sensorial comprometem a qualidade da bebida. A temperatura determina o tempo durante o qual os frutos permanecem no terraço, que deve ser o mais curto possível (21,30), quando esse processo é bem executado, uma bebida de excelente qualidade pode ser produzida.

O processo via úmida exige necessariamente frutos maduros e pré-lavagem. O café é despulpado mecanicamente e em seguida fermentado em tanques, de modo a remover a mucilagem. A fermentação pode ser realizada enzimaticamente, ou por utilização de microrganismos. Cafés de excelente qualidade podem ser obtidos usando este tipo de

processamento, sendo que a última etapa deve ser rigorosamente executada, pois o ponto final da fermentação deve ser bem controlada, a fim de evitar a produção de grãos demasiadamente fermentados com defeitos *stinker* (21,30,32).

O processo de despulpamento natural (ou semi-seco), desenvolvido no Brasil, abrange os melhores aspectos dos dois processos anteriores. Consiste na lavagem e despulpamento mecânico dos frutos, seguido de secagem dos grãos despulpados sem remover a mucilagem, os cafés resultantes desse processo são conhecidos como “despulpado”. A mucilagem é rica em polissacarídeos, que após a torrefação adicionam corpo e notas adocicadas à bebida (21,30,32).

Vários estudos tentaram relacionar as etapas de processamento com a qualidade aromática do café (28,47,48). Muitos compostos de diferentes classes químicas têm sido apontados como importantes marcadores voláteis no processamento do café, dentre eles destacam-se: 2,3-butanodiol, 2-metilbutanal\*, guaiacol\*, 4-metoxifenol\*, 4-etilguaiacol\*, 4-vinilguaiacol\* e 2-hidroxi-3-metil--ciclopenten-1-ona\*.

Gonzalez-Rios e colaboradores (28,47) analisaram grãos de cafés obtidos utilizando quatro diferentes tipos de processamento pós-colheita que diferiam em termos de uso de água e remoção de mucilagem. Nos 2 primeiros tratamentos os frutos foram lavados e utilizado um despulpador de disco, com a fermentação em água (Tratamento 1) ou de fermentação seco (Tratamento 2). Nos tratamentos 3 e 4, foi utilizado um despulpador de tambor vertical, com fermentação a seco (Tratamento 3) ou remoção mecânica mucilagem (Tratamento 4). Foi realizada a análise dos grãos crus (Gonzalez-Rios e colaboradores, 2007a) e identificado que o tratamento 1 resultou em concentrações mais elevadas de ésteres (acetato de etila, isovalerato de etila e acetato de metila), com notas frutadas e álcoois (etanol e 2-feniletanol), caracterizados por notas doces e florais (3). Tratamento 4 (o mais ecológico) produziu o segundo café com maior nível de compostos voláteis, no entanto, boa parte desses compostos foram caracterizados por conferir notas negativas, com a predominância de dimetilsulfeto, dimetilsulfóxido, 2,3-butanodiol e ácido acético (Tabela 3), os quais são conhecidos por estarem associados com a presença de microrganismos (35,36,39) e são indicadores de baixa qualidade (2). É provável que o despulpamento mecânico, apesar dos seus aspectos ecológicos, resultou na remoção incompleta da mucilagem, o que facilitou fermentação espontânea e indesejável dos grãos. Os tratamentos 2 e 3, só diferem pela fermentação, apresentaram perfis aromáticos muito semelhantes embora na ausência de água foram encontrados mais compostos voláteis relacionados a defeitos, resultantes de ação microbiana, que conferiam notas negativas para a bebida (28). Em relação à cafés torrados, três graus de torra foram aplicados a fim de avaliar os

diferentes beneficiamentos. Diferenças no processamento pós-colheita levou a distintos aromas nos cafés torrados, a torrefação permitiu uma melhor diferenciação entre os quatro tratamentos, com base em critérios de aroma. Seguindo o mesmo comportamento mostrado pelos grãos crus, o café produzido pelo método tradicional via úmida (Tratamento 1), tinha uma melhor qualidade aromática quando comparado ao café produzido pelo método ecológico (Tratamento 4), a qual foi puramente mecânico (47). Além disso, a remoção da mucilagem via úmida, resultaram em cafés mais frutados, florais, e com notas de caramelo, com uma presença notável dos compostos 5-metilfurfural (notas de caramelo), formiato de furfúril e 3-metil-2 ciclopenten-1-ona- (notas florais), ao passo que a remoção mucilagem via método seco deu cafés mais neutros (Tabela 3). Estes resultados confirmam a importância da remoção da mucilagem microbiana utilizando água. O trabalho proporcionou *insights* sobre a dependência da composição volátil do café torrado no processo de beneficiamento e o grau de torrefação.

Arruda e colaboradores (48) analisaram os efeitos do processamento natural (seco), úmido e semiúmido, sobre os compostos voláteis presentes nos grãos de café arábica (*Coffea arabica* var. Catuaí Amarelo). O café a partir do qual a mucilagem foi removida pelo processo úmido apresentou o maior teor de compostos fenólicos voláteis (4-metoxifenol\*, 4-etilguaiacol\* e 4-vinilguaiacol\*), seguido pelo café despulpado (processo semiúmido) e o café processado naturalmente (processo seco). Os guaiacóis, que são compostos de impacto (Tabela 1), são formados a partir de resíduos de ácido ferúlico por ruptura da estrutura da lignina, ou por descarboxilação de ácidos clorogênicos (33), que poderiam ter sido influenciados pelo processo. Elevadas porcentagens de cetonas alicíclicas insaturados com ênfase as 2-hidroxi-3-metil-ciclopenten-1-ona\* foram encontradas no café desmucilados. Estes compostos estão associados com o aroma doce-caramelo que tende a melhorar o sabor de café arábica torrado.

A técnica de processamento pós-colheita tem um impacto substancial na qualidade aromática do café e conseqüentemente, a qualidade final da bebida. Dentre os tratamentos disponíveis estão os desmucilado, semi-seco e processo úmido. Comum a ambos é o processo despulpamento via úmida que provoca um aumento na quantidade de fenóis, ésteres e cetonas, tais compostos são associados com notas positivas e são considerados compostos de impacto no aroma de café.

### 3.6 Torrefação

Torrefação é um processo altamente complexo, no qual o café é exposto a temperaturas de até 300°C. Durante este processo, uma série de características físicas, físico-químicas e

modificações químicas ocorrem, os compostos voláteis formados nessa etapa são de grande importância para o sabor do café. Ao mesmo tempo, vários compostos não voláteis contribuem diretamente para o *flavor* da bebida, conferindo diversos atributos, tais como, amargura, adstringência e doçura, tais compostos podem também nessa etapa atuarem como precursores de compostos voláteis (cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos, lípidos, polissacáridos e proteínas) (21). O termo precursor é muitas vezes utilizado sem o devido cuidado, porque um precursor químico é qualquer composto que participa em qualquer reação que pode gerar outros compostos. No entanto, num sistema contínuo e complexo como a torrefação, os compostos produzidos em uma primeira etapa podem participar de uma cascata de reações, assim participando na produção de outros compostos.

As principais reações responsáveis pelas transformações do café, durante o processo de torrefação, são de Maillard, Strecker, hidrólise e as reações de pirólise. A reação de Maillard ocorre entre um açúcar redutor e um aminoácido ou uma proteína (49), essa reação tem uma baixa energia de ativação e é termodinamicamente favorecida sob as condições de torrefação. A reação ocorre em duas etapas: o açúcar redutor reage primeiro com o aminoácido, produzindo glicosilamina; ocorre em seguida o rearranjo de Amadori, com a formação de vários derivados (produtos de fragmentações, desidratações, condensações e polimerizações). Além da temperatura e a presença de açúcares redutores, outras variáveis que influenciam a reação incluem: pH, umidade e a presença de determinados metais (49). Através da reação de Maillard ocorrem a formação de muitos produtos voláteis (piridinas, pirazinas, furanos, pirróis e outros), alguns dos mecanismos ainda não foram completamente elucidados. A reação de Maillard também pode reagir com os aminoácidos livres, resultando em degradação dos produtos para aldeídos, amoníaco e dióxido de carbono, isto é conhecido como a degradação de Strecker (50,51).

A pirólise (ou degradação térmica) é também responsável por alterações substanciais, nos grãos, durante a etapa de torrefação. De fato, toda a matéria orgânica contida no café é suscetível de sofrer degradação. A Figura 4 mostra a degradação de ácidos quínico e cafeico, que são derivados de ácidos clorogênicos. A maioria dos produtos desta reação contribuem para a fração aromática do café, com uma predominância de derivados fenólicos (33).

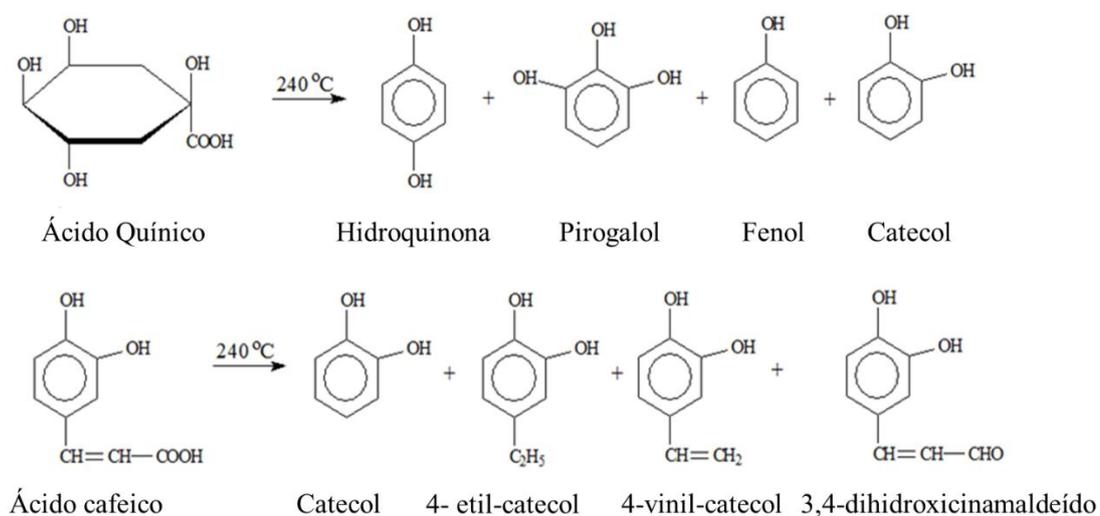


Figura 4- Degradação de ácido quínico e cafeico.

A relação entre o precursor e compostos voláteis no café permanece pouco compreendida, devido à grande complexidade das reações envolvidas. Vários estudos correlacionaram a composição precursora com a formação de compostos voláteis, sendo que, algumas rotas de formação de compostos já foram completamente elucidadas. O esquema apresentado na Figura 5 é uma compilação de dados da literatura, que descrevem o relacionamento entre os compostos precursores e seus produtos voláteis (52–57).

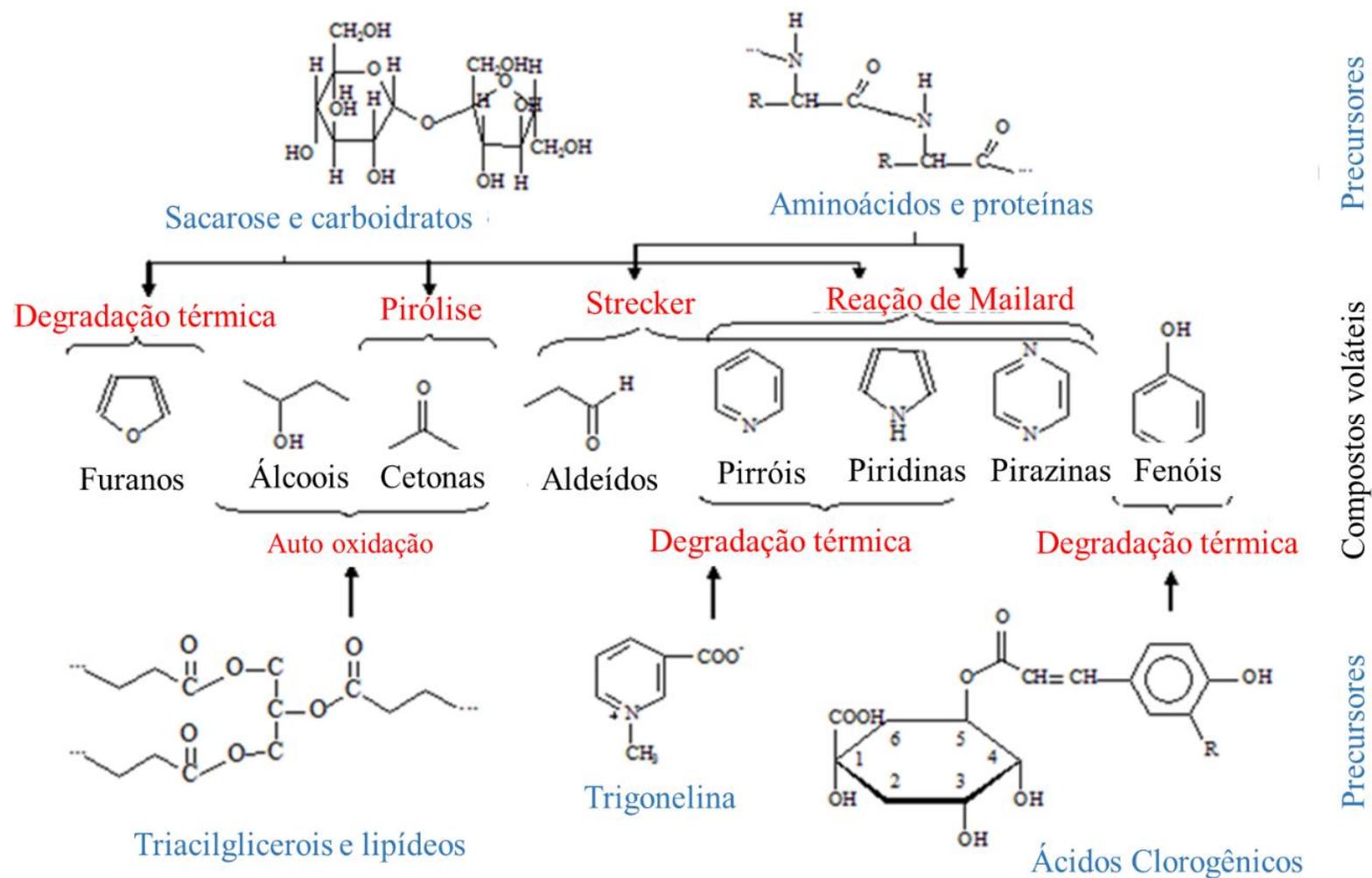


Figura 5 - Representação esquemática da relação entre compostos precursores e voláteis.

A influência da torrefação sobre os compostos voláteis na qualidade final do café tem sido investigada em vários estudos (38,58–63). Várias classes de compostos têm sido correlacionadas com diferentes graus de torrefação, nomeadamente os compostos de impacto: 2,3-pentanodiona, 2,5-dimetilpirazina, 2-etilpirazina, 2,3-dimetilpirazina, 3-etil-2,5-dimetilpirazina, 2-metilbutanal, 2-etilguaiacol e 4-vinilguaiacol (Tabela 1). Estudos que avaliaram a influência do grau de torrefação (clara, média e escura) sobre a composição volátil de cafés, tais estudos incluem o trabalho de Nascimento e colaboradores (2003), Moon e Shibamoto (59) e Somporn e colaboradores (61). Verificou-se que uma torra clara (americana), amplamente utilizada nos Estados Unidos, bem como em “testes da xícara” para a classificação sensorial da bebida, produz alguns compostos voláteis com forte impacto sobre o aroma, tais como furfural (notas doces de amêndoa) e 2-metilbutanal\* (notas amanteigadas) (Tabela 1) (45,58,59). Os compostos mais voláteis (por exemplo, os ácidos voláteis e furanos) tornam-se menos importantes conforme o grau de torra é intensificado (da torra clara a média), provavelmente devido a perdas com a temperatura de torra, ou degradações após a exposição a temperaturas elevadas durante longos períodos (45,58,61). Ao mesmo tempo, relataram aumentos nas contribuições dos compostos menos voláteis, tais como furanos, pirazinas e piridinas (59,61). Considerando que os testes atualmente usados para classificar bebidas de café (teste da xícara) empregam grãos torrados de acordo com a torra americana, estes resultados levam a dúvidas sobre a eficácia desta metodologia de classificação, porque comercialmente, o café é submetido graus de torra mais intensos (58). Uma consideração adicional é que esse teste é intrinsecamente subjetivo e depende dos sentidos do provador no momento da análise. A fim de resolver esta dificuldade, Morais e colaboradores (38) avaliaram mudanças nas características aromáticas de diferentes qualidades de cafés de acordo com o grau de torrefação. Como mencionado anteriormente, a presença de grãos defeituosos aumenta os níveis de substâncias indesejáveis em termos de aroma, tais como os aldeídos de baixo massa molar e sulfetos. No entanto, torras muito intensas (torra escura) reduzem as diferenças nas atividades odoríferas de compostos de impacto, que dificulta a distinção de bebidas de qualidade com aquelas produzidas com grãos defeituosos. Os resultados do estudo indicam que uma torra média era mais adequada para o teste da xícara, uma vez que resultou em maiores diferenças de atividades odoríferas para bebidas de alta qualidade, o que poderia facilitar a sua distinção. Além disso, testes da xícara realizados utilizando este grau de torra são mais representativos

das bebidas consumidas pelo público, que são principalmente produzidas usando graus de torras escura ou média.

Na indústria do café, o grau de torrefação é avaliado por medições da reflectância dos grãos moídos ou simplesmente por inspeção visual da cor dos grãos. No laboratório e em menor grau na indústria, é geralmente determinada a perda de massa. No entanto procedimentos baseados na cor e na perda de massa foram ineficazes, como demonstrado por Vasconcelos e colaboradores (64) e Franca e colaboradores (45). O primeiro estudo mostrou que cafés de alta qualidade quando submetidos a torras claras (30 min a 200 ° C) apresentaram os mesmos valores de luminosidade (reflectância dos grãos) quando comparados com cafés de baixa qualidade submetidos a uma torra escura (2h a 200°C). Além disso, os cafés torrados nas mesmas condições de processamento podem resultar em diferentes leituras de cor. Outro fator que precisa ser considerado é a qualidade dos grãos. Franca e colaboradores (65) mostraram que tanto os grãos pretos quanto os ardidos apresentam valores de luminosidade menores quando torrados nas mesmas condições de grãos saudáveis. Verificou-se também que a superfície de grãos pretos tinha tonalidade mais escura após a torrefação, mantendo uma tonalidade esverdeada, enquanto os outros tipos de grãos tornavam-se castanhos. Concluiu-se que cafés de baixa qualidade atingem diferentes luminosidades quando comparados à torrefação de cafés de boa qualidade, sob as mesmas condições de processamento. Em outro estudo, Franca e colaboradores (45) avaliaram os efeitos de taxas de torrefação, para diferentes graus de torra (muito clara, clara, média e escura), sobre os perfis de voláteis de cafés arábica. Foi demonstrado que a perda de massa e cor por si só não são confiáveis como critérios de avaliação do grau de torrefação e que a temperatura de torrefação também deve ser levada em conta.

Usando uma abordagem diferente, Toci e colaboradores (66) investigaram o efeito de velocidades de taxa de torrefação na composição volátil de 3 misturas de café arábica de diferentes qualidades. Uma torrefação média foi conseguida utilizando 15 min a 190 °C, 8 min a 210 ° C e rápida 5 min a 230 ° C. Os procedimentos foram realizados em um torrador de leito semi-fluidizado industrial de pequena escala. Sete compostos de impacto foram encontrados e correlacionados com as diferentes taxas de torrefação (2,5-dimetilpirazina, 2-etilpirazina, 2,3-dimetilpirazina, 2,5-dimetil-3-etilpirazina, guaiacol\*, 2-etilguaicol e 4-vinil -guaicol) (Tabela 1). Os resultados mostraram que a influência da taxa de torrefação nos compostos voláteis difere de acordo com o sistema utilizado. No caso do torrador de leito semi-fluidizado além da influência da qualidade da mistura do café arábica na fração volátil, a taxa de torrefação também afetou as classes nomeadamente pirazinas, furanos, pirróis e fenólicos, incluindo os compostos

de impacto 2,5-dimetilpirazina, 2-etilpirazina, guaiacol e 4-etilguaiacol. Além disso, a taxa de torrefação afetou os compostos de impacto individualmente de diferentes formas, como por exemplo altos teores de guaiacol encontrados quando usada uma torra lenta. Por outro lado, foram observadas concentrações mais elevadas de 4-etilguaiacol para torras rápidas. No caso do torrador de leito fluidizado, houve pouca influência da velocidade de torra. O sistema de leito semi-fluidizado oferece um melhor controle dos parâmetros de tempo e temperatura. Foi sugerido que as mudanças na velocidade de torra a fim de obter o mesmo grau de torrefação podem influenciar na composição volátil e isso permite a modificação do aroma e sabor do café por manipulação das condições de torrefação. Considerando-se as diferenças no comportamento entre as diferentes misturas de qualidade, sugeriu-se que amostras de alta e baixa qualidade devem ser torradas separadamente, antes da formulação das misturas e bebidas, a fim de conseguir uma melhor manipulação da composição durante o processo de torra. O trabalho também sugeriu que torra lenta era mais adequada para misturas de baixa qualidade, uma vez que a qualidade do café foi relacionada com níveis mais baixos de compostos voláteis.

No geral, os resultados indicam que o aumento do grau de torra produz bebidas com diferentes perfis aromáticos, que vão desde perfis com aromas ricos, contendo ácidos voláteis e furanos responsáveis por notas frescas e florais, a perfis aromáticos contendo notas negativas mais acentuadas como pirazinas, furanos e piridinas, responsáveis por notas torradas e terrosas. A distinção aromática relacionada com o grau de torra mostrou ser altamente influenciada pela taxa de torrefação, a temperatura utilizada, o tipo de torrador e a qualidade dos grãos.

### **3.7 Armazenamento**

Depois de torrefação, é durante o armazenamento que os grãos podem sofrer uma série de reações químicas importantes, modificações físicas e biológicas, que podem afetar fortemente a qualidade e a aceitabilidade da bebida. Muitas destas modificações são consideradas complexas e inevitáveis e à medida em que elas ocorrem, dependem de variáveis ambientais, tais como temperatura, umidade, disponibilidade de oxigênio, bem como a superfície exposta e o tipo de embalagem (67). Imediatamente após o final da torrefação o dióxido de carbono e os compostos voláteis ficam retidos na estrutura dos grãos, praticamente dissolvidos nos óleos e na umidade ainda presente (68). Após um período de 48 horas (aproximadamente) da torrefação o dióxido de carbono e água se difundem para fora dos grãos, juntamente com compostos voláteis, sendo isto um fator importante para a obtenção de uma bebida de café de alta qualidade.

As frações do café mais suscetíveis ao envelhecimento são as frações lipídicas e aromáticas (67,69–74). Muitos compostos voláteis foram identificados como responsáveis pela alteração do aroma do café durante o armazenamento, destes destacam-se cetonas (2,3-butanodiona\* e 2,3-pentanodiona\*), aldeídos (hexanal\*, 2-metilbutanal\*, 5-metilfurfural e furfural), tióis (metanotiol\*, dimetilsulfeto, metional\* e 2-metilfuranotiol\*), ácidos carboxílicos (ácido acético, ácido glicólico, ácido láctico e ácido fórmico) e 2,6-dietilpirazina. Os estudos avaliaram o efeito das diferentes condições de armazenagem (considerando atmosfera inerte e atmosferas oxidantes, umidade e temperatura) na fração aromática (67,69–73,75).

Compostos voláteis tais como derivados de enxofre (dimetilsulfeto e metional\*), aldeídos (2-metilbutanal\* e hexanal\*) e pirazinas (2,6-dietilpirazina) são fortemente influenciados pelos níveis de oxigênio, durante o armazenamento de café torrado (70,75). Sabe-se que hexanal\* confere um sabor rançoso aos alimentos, bem como alguns aldeídos que são derivados da oxidação de ácidos graxos poli-insaturados, tais como o ácido linoleico que é abundante no café (69,76). Todos os compostos mencionados anteriormente apresentam um aumento exponencial em cafés armazenados sob atmosferas oxidantes, sendo o hexanal sugerido como um composto marcador para o armazenamento do café (75). Por outro lado, os níveis de pirazinas, fenóis e furanos não são fortemente afetados pela disponibilidade de oxigênio (70). Verificou-se também que o armazenamento de café sob uma atmosfera inerte pode prolongar a “vida de prateleira” do produto, com uma menor produção de compostos como o hexanal, mercaptanos e 5-metilfurfural que conferem notas negativas a bebida (67). Outros compostos voláteis sensorialmente importantes, tais como 2,3-butanodiona\* e 2,3-pentanodiona\* que conferem aroma amanteigado, também foram preservados em atmosferas inertes (67).

O aumento da umidade e temperatura de armazenamento são fatores determinantes para diminuir o tempo de “vida de prateleira” do café torrado, isso se deve à oxidação mais rápida dos compostos presentes e consequentes alterações negativas na fração aromática (75). Manzocco e Nicoli (72) constataram uma maior estabilidade de compostos voláteis presentes no aroma de cafés torrados e moídos (medido de acordo com o teor de  $H_3O^+$ , pois a acidez pode contribuir para a formação de ácidos, incluindo ácido fórmico, acético, glicólico e ácido láctico), foi obtido para amostras com atividade aquosa ( $a_w$ )<sup>3</sup> inferior a 0,5, as quais

---

<sup>3</sup> Relação que existe entre a pressão de vapor de um alimento dado em relação a pressão do vapor de água pura à mesma temperatura

apresentaram maior estabilidade e amostras com  $a_w = 0,8$  apresentaram menor estabilidade. Verificou-se também maiores alterações na concentração de dimetiltrisulfeto\* (aumento da concentração) em cafés armazenados com maior atividade aquosa. Baggenstoss e colaboradores (70) investigaram o efeito da umidade sobre a composição volátil de cafés armazenados durante 133 dias sob condições atmosféricas normais a 25°C. O teor de umidade teve o maior efeito sobre compostos de enxofre tais como dimetildisulfeto e dimetiltrisulfeto\* provocando um aumento desses compostos. Foi sugerido que estes compostos podem ser originados da oxidação do metanotiol\*, indicam perda dos atributos de frescor. Em termos de temperatura de armazenamento, o mesmo comportamento foi observado para as amostras armazenadas a 25 °C e 4 °C (73). A 25 ° C, os resultados mostraram o mesmo comportamento relatado por Baggenstoss e colaboradores (70), com a perda de frescor e um aumento nas características de ranço associadas com o aumento dos níveis de compostos derivados de processos oxidativos, nomeadamente hexanal, butanal, dimetildisulfeto e dimetiltrisulfeto, assim a formação de aromas desagradáveis tais notas de ranço (21).

Modificações durante o armazenamento do café também podem ser associadas com os diferentes tipos de embalagem que, apesar de não exercer efeitos diretos sobre as variáveis físicas e químicas podem afetar indiretamente. Vários estudos têm considerado o efeito da embalagem frente aos componentes voláteis durante o armazenamento do café torrado (67–69,77,78). Quando analisada a embalagem de café convencional verifica-se que, em geral, existe uma maior concentração de compostos aromáticos em comparação com embalagens a vácuo, este fato se deve ao processo de embalagem a vácuo onde parte do conteúdo volátil é removido durante a remoção do ar do interior da embalagem. No entanto, foi observada uma maior perda de qualidade do aroma durante o armazenamento de cafés em embalagens convencionais com perfurações (67,78). Este fato parece estar associado com uma perturbação do equilíbrio dos compostos voláteis na embalagem convencional, devido à perda de odores por meio de reações de oxidação ou volatilização (67). Os mesmos autores observaram que as razões de 2-metilfurano/2-butanona e 2-furfuriltiol/hexanal foram um indicativo de processo de envelhecimento. Apesar de apresentar níveis inferiores de compostos aromáticos, a embalagem a vácuo destaca-se por apresentar pequenas mudanças na composição aromática, durante o período de armazenamento (77), o que evidencia a sua eficácia. Também tem sido demonstrado que uma parte do dióxido de carbono liberado durante o processo de torrefação e de moagem pode ser retida no pó e é liberado lentamente ao longo do tempo, o que pode ser problemático

devido à conseqüente dilatação da embalagem (68), este problema pode ser evitado por uma embalagem sob vácuo ou utilizando películas permeáveis especiais, a fim de liberar o CO<sub>2</sub>.

Pode concluir-se que durante o armazenamento uma grande porção dos compostos voláteis é perdida ou degradada devido a reações de oxidação e volatilização. A umidade elevada, atmosfera oxidante e temperaturas elevadas afetam negativamente a qualidade da fração aromática do café. Por conseguinte, baixos níveis de umidade, temperaturas baixas e uma atmosfera inerte ajudam a preservar os compostos voláteis associados com a boa qualidade, porque as taxas de oxidação durante o armazenamento são reduzidas. O consumidor pode adotar hábitos que promovam uma melhor preservação da qualidade aromática do café consumido em casa, tais como evitar a compra de quantidades excessivas de café torrado e moído, consumindo um pacote de café durante um período relativamente curto de tempo, mantendo após a abertura o café armazenado em recipientes secos livres de odor e sob refrigeração.

### 3.8 Conclusões

O presente capítulo revela a complexa relação entre a qualidade do café e a sua composição volátil, tendo em conta as descobertas de 45 publicações relativas, 6 diferentes aspectos da qualidade do café e a sua fração volátil. O maior número de artigos publicados em questão foram para “espécies e cultivares” e “grãos defeituosos”, totalizando 11 artigos citados, seguidos de “armazenamento” com 10 artigos. Em relação ao aspecto “espécies e cultivares”, compostos aromáticos presentes em concentrações mais elevadas na espécie arábica do que na robusta são furaneol, sotolon e abhexon, responsáveis por notas doces de caramelo e o 2,3-pentanodiona, o qual confere notas amanteigadas. Por outro lado, o teor de fenóis e derivados fenólicos é marcadamente mais elevado em café robusta do que em café arábica. Entre esta classe é realçado o composto guaiacol\*, que confere notas fenólicas. Na prática, considera-se que quanto maior o teor de robusta nos *blends*, menor será a sua qualidade.

Quanto à origem geográfica, com base nos 8 estudos relatados é difícil tirar quaisquer conclusões, devido a uma falta de controlos adequados no projeto da maioria dos estudos. Além disso, muitas vezes são consideradas distinções geográficas, sem considerar outros parâmetros relevantes, como a temperatura, altitude e o índice pluviométrico. A relação entre o perfil aromático, a qualidade e a origem geográfica do café ainda requerem um estudo mais aprofundado.

Existem dois aspectos relacionados aos grãos defeituosos, isto é, a presença de microrganismos e defeitos nos próprios grãos que ocorrem durante a etapa de colheita e processamento. No primeiro caso, a presença de fungos é indicada por compostos tais como o 1-octen-3-ol (nota cogumelo), dimetilsulfeto (odor podre), 2-metilisoborneol (odor terroso), geosmina (odor terra molhada),  $\alpha$ -terpineol, salicilato de etila, 2,4,6-tricloroanisole e 1-metoxi-3-metil-benzeno (odor éter). Outros compostos têm sido sugeridos como potenciais marcadores de grãos defeituosos, pois são encontrados exclusivamente em tais grãos e são indicadores de baixa qualidade. Estes compostos incluem  $\gamma$ -butirolactona, ácido hexanóico,  $\beta$ -linalol e 2-butil-3,5-dimetilpirazina\*, caracterizados como marcadores para grãos defeituosos em geral. Compostos marcadores específicos do defeito preto incluem o 3-etil-2-metil-1,3-hexadieno e 2-pentilfurano. Além disso, compostos adicionais que têm sido sugeridos como indicadores de baixa qualidade: 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 2,3-butanodiol, 4-etilguaiacol\*,  $\beta$ -linalol, 2,3-dimetilbutil butanoato de etila, acetato de 2-feniletila, 2,3-butanodiona\*, ácido hexanodióico, guaiacol\*, 2,3-di-hidro-2-metil-1H-benzopirrol, 3-metilpiperidina, 2-pentilpiperidina, 3-octeno-2-ona, 2-octenal, 2-pentilfuran e 2-butil-3-metilpirazina.

O processamento pós-colheita tem um grande impacto sobre a qualidade do aroma do café e, conseqüentemente, sobre a qualidade da bebida. Entre os vários tratamentos existentes, o despulpamento natural (semi-seco) e úmido merecem destaque. Comum a ambos é que o despulpamento via úmida aumenta as quantidades de compostos fenólicos, ésteres e cetonas, que são associados com notas positivas e têm elevados impactos sobre o aroma de café.

Bebidas com diferentes graus de torrefação apresentaram diferentes perfis aromáticos, que variam produzindo aromas ricos em compostos mais voláteis, tais como os ácidos voláteis e furanos responsáveis por notas frescas e florais, para cafés com aromas ricos em compostos que incluem as pirazinas, furanos e piridinas, responsáveis por notas torradas e terrosas. Esta diferenciação aromática relacionada com o grau de torrefação pode ser fortemente influenciado pela taxa de torrefação, a temperatura de torrefação, o tipo de torrador e a qualidade dos grãos, porém é necessário mais trabalho para investigar detalhadamente esses efeitos.

Dependendo das condições de armazenamento do café torrado, uma grande porção dos compostos voláteis pode ser perdida por volatilização ou oxidação. Alguns dos compostos derivados a partir de processos oxidativos são sugeridos como marcadores de armazenamento, tais como hexanal\* e dimetiltrisulfeto\*, cujas concentrações aumentam durante a armazenagem. Os níveis elevados de umidade, atmosfera oxidante e as temperaturas elevadas afetam negativamente a fração aromática do café, devido ao aumento da taxa de oxidação,

portanto estes fatores devem ser controlados. Embalagem sob vácuo ou com uma atmosfera modificada demonstram aumentar do tempo de “vida de prateleira” do café em termos de qualidade global e aromática, minimizando a produção de compostos indesejáveis.

Os resultados desta avaliação ilustram a complexidade da relação entre a qualidade e composição aromática do café. Muitos aspectos continuam sem ser totalmente elucidados, incluindo origem geográfica e processamento pós-colheita, enquanto outros que podem ser melhor compreendidos incluem a influência de espécies, qualidade de grãos e condições de armazenamento. Outra questão que tem recebido pouca atenção é a questão das inúmeras variedades de cultivares de café dentro de cada espécie, que acredita-se merecer estudos mais aprofundados, dada a potencial influência na qualidade de bebida. Apesar destes estudos extensivos, a chave para o caráter aromático altamente desejável do café não foi totalmente compreendida. Além disso, com o crescente desenvolvimento tecnológico nas áreas de ciência e agricultura, muitos outros aspectos continuam a ser descobertos (ou redescobertos) e o tema da qualidade do café oferece uma excelente oportunidade para a investigação científica.

### 3.9. Referências

- 1 ABNT: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 9001/2000. Brazilian Association of Technical Standards: Quality management system. Rio de Janeiro: 2000.
- 2 Toci, A.T.; Farah, A. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. **Food Chemistry**, v. 153, p. 298–314, 2014.
- 3 Flament, I.; Bessière-Thomas, Y. **Coffee Flavor Chemistry**. 2002.
- 4 Yeretizian, C.; Jordan, A.; et al. Analysing the *Headspace* of coffee by proton-transfer-reaction mass-spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 223–224, p. 115–139, 2003.
- 5 Akiyama, M.; Murakami, K.; et al. Characterization of Flavor Compounds Released During Grinding of Roasted Robusta Coffee Beans. **Food Science and Technology Research**, v. 11, n. 3, p. 298–307, 2005.
- 6 Maeztu, L.; Sanz, C.; et al. Characterization of espresso coffee aroma by static *Headspace* GC-MS and sensory flavor profile. **Journal of Agricultural ...**, v. 49, n. 11, p. 5437–5444, 2001.
- 7 Mayer, F.; Czerny, M.; et al. Influence of provenance and roast degree on the composition of potent odorants in Arabica coffees. **European Food Research and Technology**, v. 209, n. 3–4, p. 242–250, 1999.
- 8 Sanz, C.; Czerny, M.; et al. Comparison of potent odorants in a filtered coffee brew and in an instant coffee beverage by aroma extract dilution analysis (AEDA). **European Food Research and Technology**, v. 214, n. 4, p. 299–302, 2002.
- 9 Toci, A. Compostos Voláteis e Qualidade Do Café : Matéria-Prima , Torrefação E. 2010.

- 10 Folstar, P.; Clarke, R.J.; et al. Coffee: chemistry. **Coffee: chemistry**, 1985.
- 11 ABIC (2017). Programa Setorial Integrado. *Exportação - Programa Setorial Integrado*.
- 12 Pypker, J.; Brouwer, H. *Headspace* analysis of less volatile constituents of coffee. In: **Colloque International sur la Chimie des Cafés**, 4. Amsterdam (Holanda), Junho 2-6, 1969.
- 13 Tressl, R.; Silwar, R. Investigation of Sulfur-Containing Components in Roasted Coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 1078–1082, 1981.
- 14 Blank, I.; Sen, A.; et al. Aroma impact compounds of arabica and robusta coffee. Qualitative and quantitative investigations. **ASIC. 14e Colloque**, p. 117–129, 1991.
- 15 Mathieu, F.; Malosse, C.; et al. Comparative *Headspace* analysis of fresh red coffee berries from different cultivated varieties of coffee trees. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 19, n. 5, p. 298–300, 1996.
- 16 Freitas, A.M.C.; Parreira, C. The Use of an Electronic Aroma-sensing Device to Assess Coffee Differentiation c Comparison with SPME Gas Chromatography 9 Mass Spectrometry Aroma Patterns. 2001.
- 17 Rocha, S.; Maeztu, L.; et al. Screening and distinction of coffee brews based on *Headspace* solid phase microextraction/gas chromatography/principal component analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 1, p. 43–51, 2004.
- 18 Mondello, L.; Casilli, A.; et al. Comprehensive multidimensional GC for the characterization of roasted coffee beans. **Journal of Separation Science**, v. 27, n. 5–6, p. 442–450, 2004.
- 19 Mondello, L.; Costa, R.; et al. Reliable characterization of coffee bean aroma profiles by automated *Headspace* solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry with the support of a dual-filter mass spectra library. **Journal of Separation Science**, v. 28, n. 9–10, p. 1101–1109, 2005.
- 20 Korhoňová, M.; Hron, K.; et al. Coffee aroma—Statistical analysis of compositional data. **Talanta**, v. 80, n. 2, p. 710–715, 2009.
- 21 Illy, A.; Viani, R. **Espresso coffee: the science of quality**. 2005.
- 22 Bertrand, B.; Boulanger, R.; et al. Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2575–2583, 2012.
- 23 Freitas, A.M.C.; Mosca, A.I. Coffee geographic origin an aid to coffee differentiation. **Food Research International**, v. 32, n. 1999, p. 565–573, 2000.
- 24 Zambonin, C.; Balest, L. Solid-phase microextraction–gas chromatography mass spectrometry and multivariate analysis for the characterization of roasted coffees. **Talanta**, 2005.
- 25 Akiyama, M.; Murakami, K.; et al. Characterization of *Headspace* Aroma Compounds of Freshly Brewed Arabica Coffees and Studies on a Characteristic Aroma Compound of Ethiopian Coffee. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 5, p. C335–C346, 2008.
- 26 Risticvic, S. HS-SPME-GC-TOFMS methodology for verification of geographical origin and authenticity of coffee samples. **University of Waterloo**, p. 1–114, 2008.

- 27 Cheong, M.W.; Tong, K.H.; et al. Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 388–396, 2013.
- 28 Gonzalez-Rios, O.; Suarez-Quiroz, M.L.; et al. Impact of “ecological” post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3–4, p. 289–296, 2007.
- 29 Guyot, B.C.; E Vincent, J.C. Caractérisation et identification des composés de la fraction volatile d’un café vert Arabica sain et d’un café vert Arabica puant. **Café, Cacao, Thé (France)** v. 26 (4) p. 279-289, 1982.
- 30 TOLEDO, J. D., & Barbosa, A.T. **Classificação e degustação de café**. Brasília: Sebrae, 1998.
- 31 Clifford, M.N. **Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage**. Springer Science & Business Media, 2012.
- 32 Pimenta, C.J. **Qualidade de café**. Editora UFLA, 2003.
- 33 Clarke, R.J.; Macrae, R. **Coffee**. Essex: Elsevier Ltd, 1985.
- 34 Sampaio, A.L.P. de; Graner, E.A.; et al. Em Manual do Cafeicultor. **Manual do Cafeicultor**, 1967.
- 35 Spadone, J.C.; Takeoka, G.; et al. Analytical investigation of Rio off-flavor in green coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 1, p. 226–233, 1990.
- 36 Börjesson, T. **Volatile fungal metabolites as indicators of mould growth in stored cereals**. SIK Institutet för livsmedelsforskning, Göteborg, Sverige, 1993.
- 37 Cantergiani, E., Brevard, H., Krebs, Y., Fera-Morales, A., Amado, R., & Yeretian, C. Characterisation of the aroma of green Mexican coffee and identification of mouldy/earthy defect. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 6, p. 648–657, 2001.
- 38 Morais, S. A. L., Aquino, F. J. T., Chang, R., Nascimento, E. A., Oliveira, G. a.; Santos, N.C. Chemical analysis of Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) and defective beans submitted to different degrees of roasting. **Coffee Science**, v. 2, n. 2, p. 97–111, 2007.
- 39 Iamanaka, B.T.; Teixeira, A.A.; et al. Potential of volatile compounds produced by fungi to influence sensory quality of coffee beverage. **Food Research International**, v. 64, p. 166–170, 2014.
- 40 Toci, A.T.; Farah, A. Volatile compounds as potential defective coffee beans’ markers. **Food chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1133–41, 2008.
- 41 Bee et al. The raw bean. In: **Espresso Coffee, the Science of Quality**. Italy: Elsevier Academic Press, 2005, p. 87–178.
- 42 Jackels, S.C.; Marshall, E.E.; et al. GCMS investigation of volatile compounds in green coffee affected by potato taste defect and the Antestia bug. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 42, p. 10222–10229, 2014.
- 43 Morais, S.A.L. De; Aquino, F.J.T. D. Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2568, p. 198–207, 2008.
- 44 Ribeiro, J.S.; Augusto, F. Prediction of sensory properties of Brazilian Arabica roasted coffees by

*Headspace* solid phase microextraction-gas chromatography and partial least squares. **Analytica Chimica Acta**, v. 634, n. 2, p. 172–179, 2009.

- 45 Franca, A.S.; Oliveira, L.S.; et al. A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 3, p. 345–352, 2009.
- 46 Bandeira, R.D.C.C.; Toci, A.T.; et al. Composição volátil dos defeitos intrínsecos do café por CG/EM-*Headspace*. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 309–314, 2009.
- 47 Gonzalez-Rios, O.; Suarez-Quiroz, M.L.; et al. Impact of “ecological” post-harvest processing on coffee aroma: II. Roasted coffee. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3–4, p. 297–307, 2007.
- 48 Arruda, N.P.; Hovell, A.M.C.C.; et al. Correlação entre precursores e voláteis em café arábica brasileiro processado pelas vias seca, semiúmida e úmida e discriminação através da análise por componentes principais. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2044–2051, 2012.
- 49 Whistler, R.L.; BeMiller, J.N. Carbohydrate chemistry for food scientists. 1997.
- 50 Damodaran, S. Amino Acids, Peptides, and Proteins. In: **Fennema’s food chemistry**. 2007, p. 217.
- 51 Rizzi, G.P. Formation of strecker aldehydes from polyphenol-derived quinones and  $\alpha$ -amino acids in a nonenzymic model system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1893–1897, 2006.
- 52 Baltes, W.; Bochmann, G. Model reactions on roast aroma formation-reaction of serine and threonine with sucrose under the conditons of coffee roasting and identification of new coffee aroma compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 340–346, 1987.
- 53 Baltes, W.; Bochmann, G. Model Reactions on Roast Aroma Formation. 1. Reaction of Serine and Threonine with Sucrose under the Conditions of Coffee Roasting and Identification of New Coffee Aroma Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 340–346, 1987.
- 54 Baltes, W.; Mevissen, L. Model reactions on roast aroma formation - VI. Volatile reaction products from the reaction of phenylalanine with glucose during cooking and roasting - VI. Flüchtige Reaktionsprodukte aus der Reaktion von Phenylalanin mit Glucose beim Kochen und Rösten. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, v. 187, n. 3, p. 209–214, 1988.
- 55 Baltes, W.; Knoch, E. Model reactions on roast aroma formation. XIII. The formation of some uncommon N-heterocyclic compounds and furans after roasting of tryptophan with reducing sugars and sugar degradation products. **Food Chemistry**, v. 46, n. 4, p. 343–349, 1993.
- 56 Hofmann, T.; Münch, P.; et al. Quantitative model studies on the formation of aroma-active aldehydes and acids by Strecker-type reactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 434–440, 2000.
- 57 Charles-Bernard, M.; Roberts, D.D.; et al. Interactions between volatile and nonvolatile coffee components. 2. Mechanistic study focused on volatile thiols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 11, p. 4426–4433, 2005.
- 58 Nascimento, E.A. Do; Morais, S.A.L. De; et al. Constituintes voláteis de cafês “gourmet” e mole

- do cerrado do triângulo mineiro em função da torra. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 282–284, 2003.
- 59 Moon, J.K.; Shibamoto, T. Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 13, p. 5823–5831, 2009.
- 60 Franca, A.S.; Oliveira, L.S.; et al. A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 3, p. 345–352, 2009.
- 61 Somporn, C.; Kamtuo, A.; et al. Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 11, p. 2287–2296, 2011.
- 62 Ribeiro, J.S.; Teófilo, R.F.; et al. Exploratory and discriminative studies of commercial processed Brazilian coffees with different degrees of roasting and decaffeinated. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, p. 198–206, 2013.
- 63 Toci, A.; Silva, C.; et al. Effect of the fluid flow speed changes on the chemical composition of coffee samples roasted in an industrial semi-fluidized bed roaster. ... **ASIC-Conference on Coffee**, 2009.
- 64 Vasconcelos, A.L.S.; Franca, A.S.; et al. A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 26–32, 2007.
- 65 Franca, A.S.; Mendonça, J.C.F.; et al. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 7, p. 709–715, 2005.
- 66 Toci, A., Silva, C., et al. Effect of roasting speed on the volatile composition of different quality coffee blends roasted in an industrial semi-fluidized bed roaster and in a small scale fluidized bed roaster. In: **25nd international conference on coffee science**. 2014,
- 67 Marin, K.; Požrl, T.; et al. A new aroma index to determine the aroma quality of roasted and ground coffee during storage. **Food Technology and Biotechnology**, v. 46, n. 4, p. 442–447, 2008.
- 68 Labuza, T.P., Cardelli, C., et al. Physical Chemistry of roasted and ground coffee: shelf life improvement for flexible packaging. In: **Proceedings of the 19th International Scientific Colloquium on Coffee, ASIC, Paris, 2001**, 2001,
- 69 Amstalden, L. C., Leite, F., & Menezes, H. C. D. Identificação e quantificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução / espectrometria de massas empregando um amostrador automático, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 123–128, 2001.
- 70 Baggenstoss, J.; Poisson, L. Influence of water quench cooling on degassing and aroma stability of roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 16, p. 6685–6691, 2007.
- 71 Baggenstoss, J.; Poisson, L.; et al. Influence of Water Quench Cooling on Properties of Roasted Coffee. **ASIC 21st International Conference on Coffee Science**, n. Table 1, p. 379–383, 2000.
- 72 Manzocco, L.; Nicoli, M.C. Modeling the effect of water activity and storage temperature on chemical stability of coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 16, p. 6521–6526, 2007.

- 73 Pérez-Martínez, M.; Sopelana, P.; et al. Changes in volatile compounds and overall aroma profile during storage of coffee brews at 4 and 25°C. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 9, p. 3145–3154, 2008.
- 74 Toci, A.T.; Neto, V.J.M.F.; et al. LWT - Food Science and Technology Changes in triacylglycerols and free fatty acids composition during storage of roasted coffee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 581–590, 2013.
- 75 Makri, E.; Tsimogiannis, D.; et al. Modeling of Greek coffee aroma loss during storage at different temperatures and water activities. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1111–1117, 2011.
- 76 Toci, A.T.; Neto, V.J.M.F.; et al. Changes in triacylglycerols and free fatty acids composition during storage of roasted coffee. **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 581–590, 2013.
- 77 Leino, M.; Kaitaranta, J.; et al. Comparison of changes in *Headspace* volatiles of some coffee blends during storage. **Food Chemistry**, v. 43, p. 35–40, 1992.
- 78 Czerny, M.; Schieberle, P. Changes in roasted coffee aroma during storage-influence of the packaging. **Proceedings of the 19th International Conference on Coffee Science**, 1992.

## **Capítulo 4–Ferramenta de análise discriminante confiável para o controle do grau de torrefação de amostras de café através de marcadores químicos.<sup>4</sup>**

---

<sup>4</sup> O presente capítulo foi transcrito da seguinte publicação: Toledo, P. R.A.B., de Melo, M. M., Pezza, H. R., Pezza, L., Toci, A. T., & Silva, C. M. (2017). Reliable discriminant analysis tool for controlling the roast degree of coffee samples through chemical markers approach. *European Food Research and Technology*, 243(5), 761-768. Fator de impacto 1.664

## 4.1 Introdução

A pesquisa sobre os extratos de café é um assunto pertinente que abrange todos os estágios de processamento (crus, torrados e borra de café) desta matéria-prima (1–4) e envolve desafios, tais como o controle de qualidade de amostras (5–8), valorização de resíduos, entre outros (9–11).

Uma das etapas mais importantes do processamento de café compreende a torrefação dos grãos crus. Sendo uma etapa decisiva, a torrefação é um processo altamente complexo, no qual o café é exposto a temperaturas de até 300 °C, variando tempo de torra, a taxa de aquecimento, etc. Durante este processo, uma série de modificações físicas e químicas levam à formação uma ampla gama de compostos voláteis que são conhecidos por serem determinantes para qualidade final de bebidas de café.

As principais reações responsáveis pelas alterações sofridas pelo café durante a torrefação são as reações de Maillard, Strecker, hidrólise e pirólise. A reação de Maillard ocorre entre um açúcar redutor e um aminoácido ou uma proteína (12). Tem baixa energia de ativação e é termodinamicamente favorecida nas condições de torrefação. Além da temperatura e da presença de açúcares redutores, outras variáveis que influenciam a reação incluem pH, umidade e presença de certos metais (12). Embora se saiba que muitos compostos voláteis são propensos a serem formados a partir da reação de Maillard, tais como piridinas, pirazinas, furanos, pirróis e outros, ainda há uma falta de elucidação desses mecanismos. No entanto, alguns dos derivados de carbonila obtidos a partir da reação de Maillard também podem reagir com aminoácidos livres e sua degradação a aldeídos, amônia e dióxido de carbono, esta reação é conhecida como a degradação de Strecker (13,14).

Vários procedimentos de torrefação de cafés são conhecidos, por exemplo, o processo de "Temperatura Elevada em Curto Tempo" (TECT) e "Temperatura Baixa em Longo Tempo" (TBLT) (15–17). Além disso, o grau final de torra pode ser monitorado através da medição de reflectância, inspeção visual da cor, ou mesmo pela perda de massa. De acordo com o sistema colorimétrico da Associação de Cafés Especiais da América, conhecida como "Classificação de Torra AGTRON", o grau de torra pode ser sistematizado em oito categorias, da seguinte forma: Muito Clara, Clara, Moderadamente Clara, Média, Moderadamente Escura, Escura e Muito Escuro (Torra Francesa).

A influência da torrefação sobre a composição volátil correlacionada com a qualidade final do café tem sido investigada e relatada em vários trabalhos (1,17–22). Por conseguinte, várias classes de compostos foram associadas a diferentes graus de torrefação, sendo exemplos

disso 2,3-pentanodiona, 2,5-dimetilpirazina, 2-etilpirazina, 2,3-dimetilpirazina, 3-etil-2,5-dimetilpirazina, 2-metilbutanal, 2-etilguaiacol e 4-vinil-guaiacol. Considerando que os testes sensoriais atualmente usados para classificar bebidas de café podem ser inerentemente subjetivos, sendo assim métodos complementares de avaliação são buscados pelos pesquisadores (18,23).

Este capítulo centra-se na aplicação da técnica estatística multivariada conhecida como análise discriminante, na composição aromática de amostras de cafés submetidos a diferentes graus de torrefação. O objetivo é identificar marcadores químicos capazes de rotular sua categoria de torra e assim combiná-los sob a forma de um modelo global.

O capítulo está estruturado da seguinte forma: a Seção 4.2 é dedicada à modelagem; Seção 4.3 compreende as informações da base de dados, nomeadamente as amostras de café (4.3.1) e caracterização do café (4.3.2); Resultados e Discussão são apresentados na Seção 4.4, na seguinte sequência: normalização preliminar dos resultados (4.4.1), discriminação de amostras de acordo com torras (4.4.2) e finalmente as principais conclusões são detalhadas na Seção 4.5.

## 4.2 Modelagem

Este capítulo destina-se a identificar parâmetros composicionais que podem ser utilizados como indicadores de graus de torrefação, para tanto, a análise discriminante (DA) foi escolhida para o rastreio apropriado de marcadores químicos (voláteis do café) a partir de um banco de dados que incluem dados de caracterização cromatográfica.

Resumidamente, a DA pertence à classe de estatísticas multivariadas e é capaz de reduzir a redundância de dados (24) através do ajuste de funções polinomiais de primeiro grau que classificam a distribuição de cada ponto de dados dentro de um agrupamento desejado (classes). Exemplos de estudos de pesquisa relacionados a amostras de café que empregaram técnicas DA foram publicados por Power e Keith (25), Murota (26), Maeztu et al. (27) e Toledo et. al. (28).

Do ponto de vista matemático, na análise discriminante as variáveis independentes principais são escolhidas como preditoras e combinadas linearmente para garantir uma capacidade maximizada de previsão de associações de classes, como segue:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 V_1 + \beta_2 V_2 + \beta_3 V_3 + \dots + \beta_n V_n \quad (1)$$

Em que  $Y$  é a função discriminante,  $\beta_n$  são os coeficientes discriminantes lineares e  $V_n$  são as razões de abundância correspondentes dos voláteis. A modelagem estatística DA foi realizada utilizando o software SPSS v.23 e Matlab v.7.8.0. Para isso foi empregado um conjunto de dados contendo cromatogramas de 21 amostras de café submetidas a quatro graus de torrefação distintos, o que implicou a extração de informações de duas publicações (ver Tabela 4).

*Tabela 4 - Resumo da base de dados compilada de amostras de C. arábica para a análise discriminante*

Amostra	Origem	Torra	Técnica analítica	Número de compostos	Referências
1	Etiópia	Clara	CG-MS	53	Moon e Shibamoto (17)
2		Média			
3		Escura			
4		Francesa			
5	Nicarágua	Clara			
6		Média			
7		Escura			
8		Francesa			
9	Indonésia	Clara			
10		Média			
11		Escura			
12		Francesa			
13	Etiópia	Clara	HS-SPME / GC-MS	80	Akiyama et al. (16)
14		Média			
15		Escura			
16	Tanzânia	Clara			
17		Média			
18		Escura			
19	Guatemala	Clara			
20		Média			
21		Escura			

Anteriormente ao ajuste do modelo de DA, foi realizado um estudo preliminar sobre o pré-tratamento dos dados, para permitir a utilização dos dados cromatográficos de diferentes publicações. Daí a normalização dos picos individuais usando vários compostos que figuram os cromatogramas foram testados com o objetivo de encontrar uma molécula que poderia levar a melhores resultados de discriminação. Neste capítulo foram avaliadas as seguintes moléculas: 2-metilpirrol, 2,5-dimetilpirazina, 2-etilpirazina, 2- metilpirazina e piridina 2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona para a normalização dos dados.

O ajuste do modelo de DA foi realizado com e sem validação cruzada, sendo este último realizado através da rotação das amostras de café entre os subconjuntos de formação e de validação, para verificar a confiabilidade e dependência do modelo de DA no conjunto de dados. Posteriormente a função principal do modelo DA foi validada através de seu desempenho geral de classificação. Para isso, um teste de permutação também foi realizado (29), onde os dados originais foram permutados 10.000 vezes e os erros de classificação foram avaliados tanto em termos de Número de Erro de Classificação (NeC) quanto por previsão individual de erros ( $Q^2$ ) definida por:

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_i (y_i - \bar{y})^2}$$

Onde  $y_i$  representa o score da função discriminante da amostra  $i$ ,  $\hat{y}_i$  o valor previsto para o grupo da amostra  $i$ ,  $\bar{y}$  refere-se a média de todas as amostras. Em resumo, quanto mais próximo de 1 os valores de  $Q^2$  obtidos, melhor será a capacidade de previsão do modelo em relação às expectativas de agrupamento para cada classe.

### 4.3 Materiais e métodos

#### 4.3.1 Amostras de Café

As seis amostras de *C. arabica* foram escolhidas para a construção de um banco de dados de cafés torrados e estão apresentadas na Tabela 4. Estas amostras têm origem em países de diferentes origens como a Etiópia, Nicarágua e Indonésia (17) e Etiópia, Tanzânia e Guatemala (16).

As amostras de Moon e Shibamoto (17) foram torradas com um torrador Gene Coffee (Inc., Park City, UT) a 230°C por 12 min (torra clara), a 240°C por 14 min (torra média), a 250°C por 17 min (torra *City*, isto é, escura) e a 250°C durante 21 min (torra francesa ou muito escura). Após a torra os grãos de café foram triturados com um moedor de café Starbucks Barista (Seattle, WA).

As amostras de Akyarama (16) foram torradas usando 3 graus de torra identificados pela escala L26 para clara, L23 para médio e L18 para escura usando um torrador Probat (Emmerich, Alemanha). O grau de torra foi representado como um valor de L, que foi determinado medindo a reflectância do café torrado (com partículas <500  $\mu\text{m}$ ) usando um medidor de cor ZE-2000 (Nippon Denshoku Industries Co. Ltd., Tóquio, Japão).

Para este estudo de metaanálise as amostras de café torrado acima mencionadas foram agrupadas em quatro classes (mostrados na Tabela 4): torras Clara, Média, Escura e Francesa (muito escura).

#### 4.3.2 Caracterização química

Os compostos voláteis das amostras de café estudadas nestes ensaios foram obtidos por dois modos distintos: *Headspace* (HS) micro extração em fase sólida (SPME) no caso do trabalho de Akiyama et al. (16) e extração via Soxhlet com diclorometano de acordo com Moon e Shibamoto (17). Apesar das diferentes técnicas de extração dos voláteis, em ambos os casos os extratos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS). Na etapa de análise Moon e Shibamoto (17) utilizaram o cromatógrafo gasoso Agilent 6890 GC equipado coluna capilar DB-Wax (60 m 0,25 mm, 0,5 µm) (Agilent, Folsom, CA), em interface com um detector seletivo de massas (MS) aplicando ionização de 70 eV e seguida identificação dos espectros de massa dos componentes voláteis. Por sua vez, o GC utilizado por Akiyama *et al.*, (16) foi um Hewlett-Packard (HP) 5973 (Agilent Technologies, Palo Alto, Calif., EUA) com uma coluna capilar de sílica fundida DB-Wax (60 m 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent Technologies).

### 4.4 Resultados e discussão

#### 4.4.1 Normalização preliminar dos resultados

A primeira etapa da nossa abordagem é focada no tratamento dos dados analíticos, a fim de garantir uma base de comparação válida entre os resultados apresentados por diferentes autores em diferentes estudos. Sabe-se que a abundância de compostos voláteis é relacionada com o grau de torra aplicado nas amostras de café cru, e a estratégia para garantir essa comparação era encontrar o melhor composto para normalizar os dados cromatográficos.

Seis compostos foram eleitos para a normalização (2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona, 2-metilpirrol, 2,5-dimetilpirazina, 2-etilpirazina, 2- metilpirazina e piridina) tais resultados estão dispostos na Tabela 5, sob a forma de % dos indicadores de desempenho da variância explicada pelas duas primeiras funções discriminantes e % de classificação correta atingida em termos de classificação com e sem validação cruzada. O composto ideal seria aquele que permitisse a explicação completa da variância exibida pelos dados com o menor número de funções, assegurando também as maiores porcentagens de classificação correta com e sem validação cruzada.

*Tabela 5 - Resultados da adequação compostos para uso como referência para a normalização do banco de dados*

Composto de referência	% da variância explicada por funções discriminantes			Classificação Correta
	$Y_1$	$Y_2$	$Y_1 + Y_2$	
2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	59,8%	26,9%	86,7%	76,2%
2-metilpirrol	91,5%	6,0%	97,5%	85,7%
2,5-dimetilpirazina	73,4%	24,0%	97,4%	100%
2-etilpirazina	88,2%	10,1%	98,3%	100%
2- metilpirazina	93,4%	5,2%	98,6%	100%
Piridina	97,9%	1,5%	99,4%	100%

Neste contexto, os compostos 2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona e 2-metilpirrol claramente não preenchem as expectativas (ver Tabela 5), tais compostos com duas funções são capazes de explicar apenas 86,7% da variância dos dados e ambos falham no critério de classificação correta dos rótulos de classe de torrefação (76,2% e 85,7%, respectivamente). Por outro lado, na parte inferior do quadro de compostos da Tabela 5, isto é, 2,5-dimetilpirazina, 2-etilpirazina, 2-metilpirazina e piridina, todos apresentaram uma variância explicada de mais de 97% além de alcançar a pontuação máxima na classificação correta. Na verdade, eles só diferem na importância da função discriminante principal e secundária para permitir tal explicação de variância. Por conseguinte, a piridina é um dos compostos de referência que pontuaram melhor em ambos os testes: 97,9% variância explicada e atingiu uma pontuação de classificação correta de 100%. Quando considerados em conjunto, nenhum outro composto apresentou um desempenho tão bom. Por esta razão, a piridina foi escolhida como a molécula de referência para normalização dos dados para análise discriminante de graus de torrefação.

#### **4.4.2. Discriminação de amostras de acordo com graus de torrefação**

A fim de explicar 100% da variância das amostras de café, objetivo de nossa modelagem estatística, foram necessárias três funções discriminantes. As funções resultantes são fornecidas na Tabela 6, na qual se pode notar que duas delas são capazes de explicar 99,4% da variância através de uma atribuição bidimensional dos dados. Por esta razão, a terceira função foi considerada desprezível para o objetivo da diferenciação das amostras de café.

*Tabela 6 - Desempenho das funções discriminantes e respectiva explicação de variância*

Função	Varição Explicação (%)	Variância Explicada Acumulada (%)	Correlação Canónica
$Y_1$	97,9	97,9	0,995
$Y_2$	1,5	99,4	0,787
$Y_3$	0,6	100,0	0,608

As funções discriminantes geradas contam com um total de 10 compostos voláteis (ver Tabela 7) a partir de uma lista completa de 53 compostos orgânicos voláteis (COVs) detectados/identificados por GC-MS por Moon e Shibamoto (17) e 80 COVs detectado/identificados através HS-SPME/GC-MS por Akiyama et al. (16) (ver Tabela 4). Os respectivos coeficientes também são fornecidos para cada função. Vale ressaltar que metade dos compostos do modelo pertencem à família das pirazinas, compreendendo um conjunto de moléculas conhecidas por conferir notas sensoriais relacionadas às avelãs torradas e amendoim tostado. Por outro lado, os compostos 2-metilpirazina e 2,3-dimetilpirazina são altamente ligados a torras intensas, tais como as classes de torra escura e francesa, enquanto que o composto di-hidro-2-metil-3(2H)-furanona está mais ligado as torras claras.

*Tabela 7- Coeficientes não-padronizados ( $\beta_i$ ) das duas funções discriminantes para os graus de torrefação de amostras de café*

Compostos ( $V_i$ )	$Y_1$	$Y_2$
(Constante)	-10,305	-4,664
Pirazina	1,313	108,167
2-metilpirazina	-16,195	2,492
2,5-dimetilpirazina	19,100	5,613
2-etilpirazina	24,526	-24,077
2,3-dimetilpirazina	-53,733	-37,723
Di-hidro-2-metil-3 (2H) -furanona	33,981	-1,656
5-metil-2 (5H) -furanona	1,900	1,287
Furfural	-1,241	1,291
2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-ona	8,586	106,019
Ácido acético	1,586	1,708

A representação gráfica das funções discriminantes de torrefação é apresentada na Figura 6. Para cada grupo de torrefação, os pontos de dados de amostras são representados

graficamente em suas coordenadas individuais e conectados por uma linha ao centróide do respectivo grupo. Para enfatizar as áreas pertencentes aos diferentes grupos, foram desenhados círculos coloridos em torno de cada classe de torrefação.

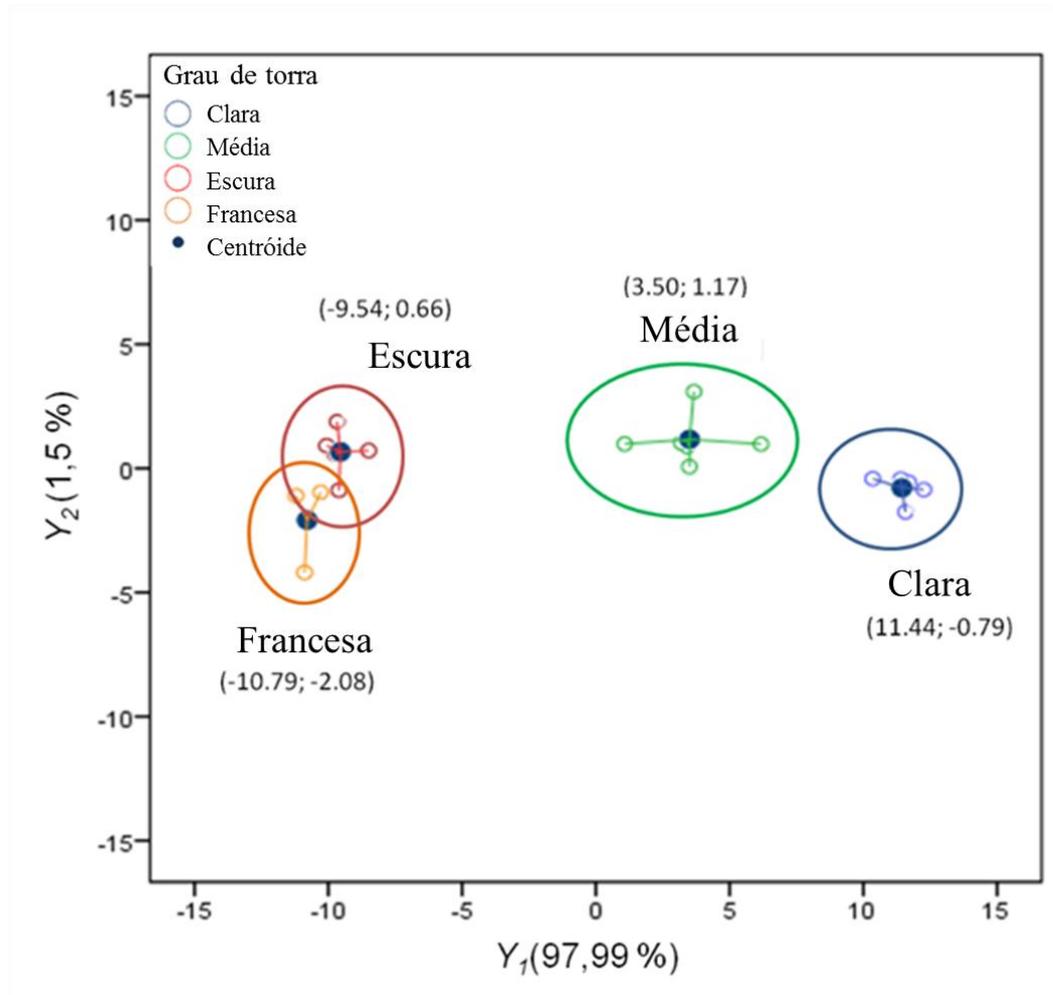


Figura 6 - Pontuações discriminantes e valores centroides do modelo de DA para os quatro graus de torrefação de café

Torna-se claro, a partir desta figura, que as classes de torrefação são classificadas por uma função de forma inversa à respectiva intensidade de torra: com os escores mais altos e decrescendo na seguinte ordem: torra Francesa, Escura, Média e Clara, no entanto, nenhuma hierarquia clara é encontrada, como pode ser observado na Figura 6, as classes Escura e Francesa exibem uma sobreposição parcial, com um possível engano na distinção entre esses dois graus de torra. Embora distintos em termos de processamento, os resultados da DA evidenciam que a torra Escura e Francesa são muito próximas uma da outra a partir de uma perspectiva de marcadores químicos. Por outro lado, os resultados também apontam que a

classe torra média está mais próxima da classe torra clara do que da classe torra escura, o que destaca a existência de uma lacuna entre a torra escura e a média.

Também vale a pena salientar que a dispersão de pontos de dados dentro de cada grupo de torrefação pode ser devida a dois fatores específicos além dos erros experimentais: (i) a proveniência geográfica diferente das amostras (por exemplo, lugares como Indonésia ou Nicarágua); (ii) os diferentes métodos de torrefação adotados, que podem dar origem a flutuações nos perfis de compostos voláteis e conseqüentemente uma variação na fração aromática da amostra de café. No entanto, tais dispersões intragrupo são de pequena magnitude em comparação com as variações devidas a mudanças nos graus de torra (entre grupos), o que demonstra a influência predominante dos graus de torrefação sobre os valores dos marcadores químicos.

Com referência à qualidade e robustez do modelo de DA proposto, uma avaliação do desempenho da classificação é fornecida na Tabela 8, em que os resultados não validados transversais são contrastados com as previsões de quando a validação cruzada (VC) é efetuada utilizando os dados de treinamento.

*Tabela 8 - Desempenho geral de classificação (unidades e %) do modelo de DA, com e sem validação cruzada (VC)*

<i>Original Classe</i>	<i>Previsão de Classes (Modelo de DA)</i>							
	Clara		Média		Escura		Francesa	
	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC
Clara	6 (100%)	3 (50,0%)	0 (0%)	3 (50,0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Média	0 (0%)	2 (33,3%)	6 (100%)	1 (16,7%)	0 (0%)	1 (16,7%)	0 (0%)	0 (0%)
Escura	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (33,3%)	6 (100%)	5 (83,3%)	0 (0%)	0 (0%)
Francesa	0 (0%)	1 (16,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (100%)	3 (100%)

Sem validação cruzada o modelo proposto é capaz de prever corretamente todos os rótulos de classe de amostras de café, que é uma importante conquista inicial. Mesmo sob validação cruzada, o modelo DA foi capaz de prever corretamente as amostras com Torra Francesa e

também para a classe Torra Escura, sendo que apenas 1 amostra de café em 6 foi classificada erroneamente. No caso da Torra Clara, as contagens bem-sucedidas caíram para 50%, com os piores resultados obtidos para a classe de Torra Média cujas classificações corretas caíram para 16,7%. Estes resultados sugerem que a futuras atualizações do banco de dados devem privilegiar a adição de amostras de café com torras médias e claras, apesar de todo o potencial da abordagem DA ser demonstrado com sucesso.

A avaliação do significado estatístico do modelo de DA foi realizada através de um teste de permutação da função principal do modelo. Os resultados desta avaliação são representados graficamente na Figura 7, sob a forma de histogramas de frequência de erros de previsão (Figura 7A) e o número de erros de classificação (NeC), (Figura 7B).

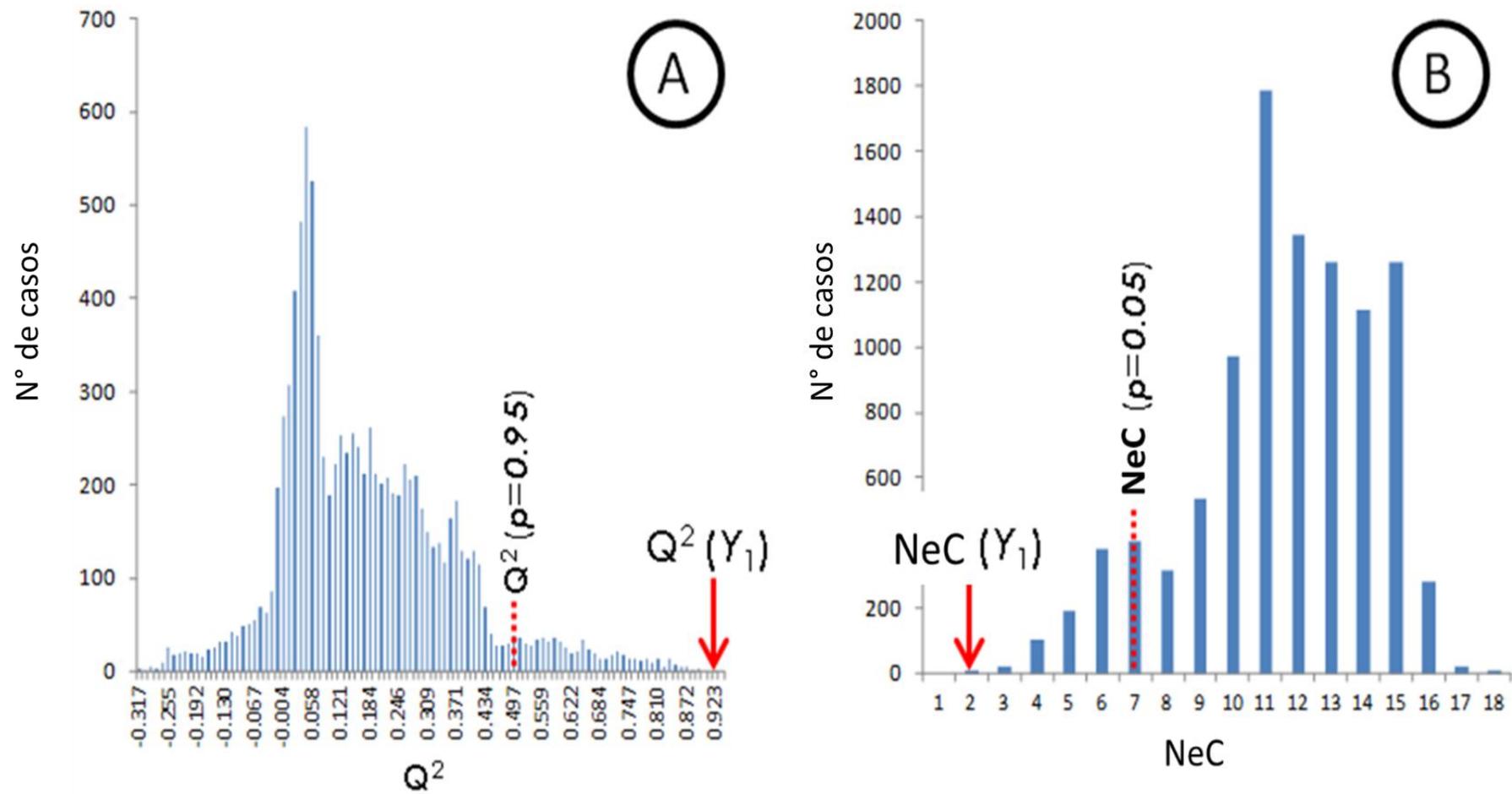


Figura 7 - Resultados do teste de permutação: total de 10.000 permutações dos dados originais: (A) Erro de previsão individual ( $Q^2$ ) e (B) Número de Erros de Classificação (NeC)

Após o cálculo dos intervalos de confiança de 95% para os modelos baseados em dados permutados, a significância estatística da função original foi demonstrada. Este limiar é representado por linhas tracejadas verticais no lado direito do histograma (Figura 7A) e do lado esquerdo para a resposta de NeC (Figura 7B). A função do modelo proposto levou a pontuação que ultrapassa claramente as pontuações *p-valor*, ou seja, maior pontuação de previsão e menor Número de Erros de Classificação (NeC) da função, como é desejável para uma boa performance de discriminação. Como resultado, o teste de permutação permite concluir que a função do modelo de DA proposto possui um bom desempenho, que não se deve aleatoriedade e/ou devido a problemas de *overfitting*.

Em conclusão, este ensaio revela que a DA pode ser um método eficaz para diferenciar a torra de amostras de café, o que demonstra a sua utilidade como potencial ferramenta de controle de qualidade para o café.

#### 4.5. Conclusões

Neste capítulo foram estudadas 21 amostras de café com diferentes graus de torrefação por Análise Discriminante (DA), através da modelação dos resultados cromatográficos obtidos por HS-SPME-GC/MS e /ou GC-MS. O objetivo foi atingir uma diferenciação dessas amostras através de marcadores químicos discriminantes.

Uma normalização previa dos cromatogramas foi realizada, onde a área de pico de piridina é proposta como composto de referência. Usando três funções discriminantes que dependem apenas 10 marcadores químicos, foi possível explicar completamente a variância dos dados experimentais. Metade destes marcadores pertence à família das pirazinas, que são conhecidas por concederem notas sensoriais relacionadas à avelã e amendoim torrados. Além disso, a função principal do modelo explica 97,5% da variância dos dados, sugerindo a relação entre o valor numérico do grau correspondente de torra, ou seja, quanto maior a pontuação da função global mais suave o grau torra.

A função principal passou por um teste de permutação visando a validação estatística complementar do modelo de DA, mostrando que o mesmo não sofre *overfitting*. Além disso, o modelo proposto também foi *cross-validado*, concluiu-se que o modelo é robusto na classificação de torras escuras e de torra Francesa, sendo mais sensível a amostras de café das classes de torra médias e claras.

Em geral, o estudo demonstra a utilidade da DA como uma ferramenta para o controle de qualidade do tratamento de torrefação de amostras de café. Futuramente, a ferramenta DA proposta pode ser estendida com vantagem para a diferenciação dos oito graus de torrefação do na escala de torra Agtron, assim que um maior banco de dados estiver disponível.

#### 4.6. Referências

- 1 Somporn, C.; Kamtuo, A.; et al. Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 11, p. 2287–2296, 2011.
- 2 Barbosa, H.M.A.A.; Melo, M.M.R.R. de; et al. Optimization of the supercritical fluid coextraction of oil and diterpenes from spent coffee grounds using experimental design and response surface methodology. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 85, p. 165–172, 2014.
- 3 Salinas-Vargas, M.E.; Cañizares-Macías, M.P. On-line solid-phase extraction using a C<sub>18</sub> minicolumn coupled to a flow injection system for determination of caffeine in green and roasted coffee beans. **Food chemistry**, v. 147, p. 182–8, 2014.
- 4 Tsukui, A.; Santos Júnior, H.M. Microwave-assisted extraction of green coffee oil and quantification of diterpenes by HPLC. **Food chemistry**, v. 164, p. 266–71, 2014.
- 5 Mancha Agresti, P.D.C.; Franca, A.S. Discrimination between defective and non-defective Brazilian coffee beans by their volatile profile. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 787–796, 2008.
- 6 Costa, L.; Toci, A.T.; Silveira, C.L.P.; Herszkowicks, N.; Pinto, M.; Farah, A. Discrimination of Brazilian *Coffea canephora* by region using mineral composition. In: **Proc. 23rd International Colloquium on the Chemistry of Coffee**. Bali, Indonesia: 2010,
- 7 Moeenfarid, M.; Silva, J.A. Diterpenes in espresso coffee: impact of preparation parameters. **European Food Research and Technology**, v. 240, n. 4, p. 763–773, 2014.
- 8 Toci, A.T.; Farah, A. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. **Food Chemistry**, v. 153, p. 298–314, 2014.
- 9 Melo, M.M.R. de; Barbosa, H.M.A. Supercritical fluid extraction of spent coffee grounds: Measurement of extraction curves, oil characterization and economic analysis. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 86, p. 150–159, 2014.
- 10 Campos-Vega, R.; Loarca-Piña, G. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 1, p. 24–36, 2015.
- 11 Low, J.H.; Rahman, W.A.W.A. The influence of extraction parameters on spent coffee grounds as a renewable tannin resource. **Journal of Cleaner Production**, v. 101, p. 222–228, 2015.
- 12 Whistler, R.L.; BeMiller, J.N. Carbohydrate chemistry for food scientists. 1997.
- 13 Rizzi, G.P. Formation of strecker aldehydes from polyphenol-derived quinones and  $\alpha$ -amino acids in a nonenzymic model system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1893–1897, 2006.
- 14 Damodaran, S. Amino Acids, Peptides, and Proteins. In: **Fennema's food chemistry**. 2007, p. 217.
- 15 Eggers, R.; Pietsch, A. Technology I: roasting. **Coffee: recent developments**, p. 90–107, 2001.

- 16 Akiyama, M.; Murakami, K.; et al. Characterization of *Headspace* Aroma Compounds of Freshly Brewed Arabica Coffees and Studies on a Characteristic Aroma Compound of Ethiopian Coffee. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 5, p. C335–C346, 2008.
- 17 Moon, J.K.; Shibamoto, T. Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 13, p. 5823–5831, 2009.
- 18 Franca, A.S.; Oliveira, L.S.; et al. A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 3, p. 345–352, 2009.
- 19 Morais, S .A. L., Aquino, F. J. T., Chang, R., Nascimento, E. A., Oliveira, G. a.; Santos, N.C. Chemical analysis of Arabica coffee ( *Coffea arabica* L.) and defective beans submitted to different degrees of roasting. **Coffee Science**, v. 2, n. 2, p. 97–111, 2007.
- 20 Nascimento, E.A. Do; Morais, S.A.L. De; et al. Constituintes voláteis de cafés “gourmet” e mole do cerrado do triângulo mineiro em função da torra. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 282–284, 2003.
- 21 Ribeiro, J.S.; Teófilo, R.F.; et al. Exploratory and discriminative studies of commercial processed Brazilian coffees with different degrees of roasting and decaffeinated. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, p. 198–206, 2013.
- 22 Toci AT, Silva CM, Fernandes F, F.A. Effect of roasting speed on the volatile composition of different quality coffee blends roasted in an industrial semi-fluidized bed roaster and in a small scale fluidized bed roaster. In: **25nd International Conference on Coffee Science**. 2014,
- 23 Vasconcelos, A.L.S.; Franca, A.S.; et al. A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 26–32, 2007.
- 24 McLachlan, G. **Discriminant Analysis and Statistical Pattern Recognition**. 2004.
- 25 Powers, J.J.; Keith, E.S. Stepwise Discriminant Analysis of Gas Chromatographic Data as an Aid in Classifying the Flavor Quality of Foods. **Journal of Food Science**, v. 33, n. 2, p. 207–213, 1968.
- 26 Murota, A. Canonocal discriminant analysis applied to the *Headspace* GC profiles of coffee cultivars. **Biosci.Biotech.Biochem.** v. 57, n. 7, p. 1043–1048, 1993.
- 27 Maeztu, L.; Sanz, C.; et al. Characterization of espresso coffee aroma by static *Headspace* GC-MS and sensory flavor profile. **Journal of Agricultural** v. 49, n. 11, p. 5437–5444, 2001.
- 28 Toledo, P.R.A.B. de; Melo, M.M.R. de; et al. Discriminant analysis for unveiling the origin of roasted coffee samples: A tool for quality control of coffee related products. **Food Control**, v. 73, p. 164–174, 2017.
- 29 Westerhuis, J.A.; Hoefsloot, H.C.J.; et al. Assessment of PLS-DA cross validation. **Metabolomics**, v. 4, n. 1, p. 81–89, 2008.

## **Capítulo 5- Análise discriminante para desvendar a origem de amostras de café torrado: Uma ferramenta para o controle de qualidade de produtos relacionados ao café.<sup>5</sup>**

---

<sup>5</sup> O presente capítulo foi transcrito da seguinte publicação: Toledo, P. R.A.B., de Melo, M. M., Pezza, H. R., Toci, A. T., Pezza, L., & Silva, C. M. (2017). Discriminant analysis for unveiling the origin of roasted coffee samples: A tool for quality control of coffee related products. *Food Control*, 73, 164-174. Fator de impacto 3.58.

## 5.1. Introdução

O café é um dos mais ubíquos produtos alimentícios consumidos em todo o mundo, desempenhando um papel econômico central em vários países onde é produzido e exportado. Desde suas origens ancestrais na África, o cultivo do café permeou o leste e oeste, formando aproximadamente um cinturão delimitado pelos trópicos de Câncer e Capricórnio (1). Hoje em dia, os dez principais países produtores de café são o Brasil, Vietnã, Colômbia, Indonésia, Etiópia, Honduras, Índia, Uganda, México e Guatemala. Na safra de 2014/2015, o Brasil foi responsável por mais de um terço da produção global de café em escala mundial, seguido pelo Vietnã, com 19,3% (ver Figura 8). No total, um grupo de mais de vinte países produzem café em uma base regular e de forma relevante.

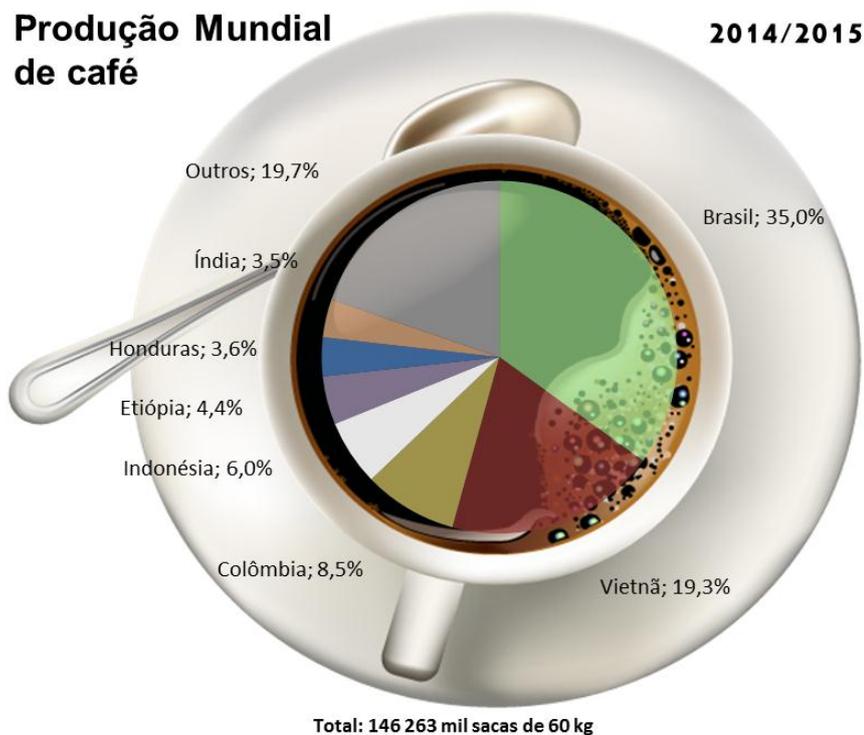


Figura 8- Produção mundial de café em 2014/2015 (USDA, 2015).

À luz da oferta diversificada e ao fato de que os consumidores começaram a procurar produtos alimentícios de valor agregado e com certificação de origem, a confirmação da autenticidade de cafés através de análises físico/químicas é de grande relevância. Cooperativas, importadores ou vendedores tem grande interesse no desenvolvimento de métodos analíticos capazes de identificar adulterações de cafés ao longo da cadeia comercial, ou de verificar a

veracidade corresponde às especificações de origem e de qualidade rotuladas. Tal desafios representam oportunidades de investigação dentro do campo de pesquisa café.

Vários países adotaram uma certificação denominada Designação de Origem Protegida (DOP), a fim de proteger e controlar a qualidade e a proveniência do seu café, bem como aumentar seu valor agregado. Esse fator se deve ao fato da ligação de que a certificação do produto, o qual pertence a cultivos específicos e as condições ambientais intrínsecas conferem ao produto uma qualidade única, além disso, para os consumidores, produtos com DOP possuem características organolépticas distintas (característicos de uma dada proveniência). Porém o espectro sensorial que define o *flavor* do café pode ser bastante complexo e subjetivo, o que pode levar a uma confirmação inequívoca da origem amostras. Tais dificuldades podem ser contornadas usando-se métodos analíticos confiáveis e robustos para a avaliação desses parâmetros de qualidade de café.

A maneira mais eficaz de manter o controle de qualidade do café e sua proveniência é através da análise de sua composição volátil, que está diretamente ligada ao aroma final experimentado pelo consumidor. Notavelmente, o café torrado é um dos produtos alimentares mais aromáticos e é consumido principalmente pelo seu sabor aliado ao prazer fornecido pelos seus componentes voláteis e seu efeito estimulante. A concentração de compostos aromáticos presentes no café torrado pode atingir 1 g/kg (2,3) e a sua caracterização tem sido extensivamente estudada ao longo dos anos (4–7).

A composição química dos grãos e conseqüentemente, a sua qualidade, é diretamente afetada por uma vasta gama de parâmetros, incluindo espécies e variedade de café, o clima, solo, qualidade do grão, tipo de mistura, processamento pós-colheita, tipo de torra e armazenamento (8). O aroma do café desejável é produzido por um delicado equilíbrio na composição desses produtos voláteis e acredita-se que apenas cerca de 5% destes compostos são, na verdade, odoríferos e capaz de impactar no *flavor* do café (9) (ver Tabela 9). Entre estes compostos destacam-se pirazinas, seguido de furanos, aldeídos, cetonas, fenóis e compostos de enxofre (10–13).

Tabela 9 - Compostos odorizantes de impacto e respectivas notas sensoriais encontrados em grãos de café torrado.

N.º	Odorante de impacto	Concentração média (mg / kg)	Limiar de odor em água (µg / kg)	OAV (Valores de atividade odorífera)	Nota sensorial
Notas Ácidas					
1	2-Metilbutanóico	2,5-4 <sup>*(2)</sup>	740 <sup>(1)</sup>	5	Pungente / ácida / azedo, abacaxi fermentada <sup>(3)</sup>
2	3-Metilbutanóico	21 <sup>*(2)</sup>	540 <sup>(1)</sup>	13	Doce / Ácido <sup>(4)</sup>
3	Ácido acético	2520 <sup>(4)</sup>	Nd	-	Azedo / Vinagre <sup>(3)</sup>
Notas Amanteigada / Caramelo					
4	2-Metil-propanal	0,76 <sup>(5)</sup>	2,3 <sup>(5)</sup>	330	Maltado / Frutado <sup>(5)</sup>
5	2-Metilbutanal	0,87 <sup>(5)</sup>	1,9 <sup>(5)</sup>	460	Amanteigado <sup>(5)</sup>
6	3-Metilbutanal	0,57 <sup>(5)</sup>	0,4 <sup>(5)</sup>	1430	Amanteigado <sup>(5)</sup>
7	2,3-Butanodiona	2,10 <sup>(5)</sup>	15 <sup>(5)</sup>	140	Amanteigado <sup>(5)</sup>
8	2,3-Pentanodiona	1,60 <sup>(5)</sup>	30 <sup>(5)</sup>	53	Amanteigado / Doce <sup>(3)</sup>
9	Hexanal	0,53 <sup>*(2)</sup>	4,5-5,5 <sup>(6)</sup>	96-117	Ranço, verde, gramínea <sup>(3)</sup>
10	Ácido butanóico	3,5 <sup>*(2)</sup>	240 <sup>(2)</sup>	14	Óleo de rícino <sup>(3)</sup>
11	4-hidroxi-2,5-dimetil-3 (2H) - furanona (Furaneol)	7,2 <sup>(5)</sup>	10 <sup>(5)</sup>	720	Caramelo / Doce <sup>(2)</sup>
12	(E) -2-nonenal	0,040 <sup>*(2)</sup>	0,5 <sup>(2)</sup>	80 (2)	Oleosa / Pepino, Amanteigado <sup>(3)</sup>
13	2-etil-4-hidroxi-5-metil-3 (2H) - furanona (Homofuraneol)	0,8 <sup>*(2)</sup>	1,15 <sup>(2)</sup>	695	Caramelo / Doce <sup>(2)</sup>
14	2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	0,21 <sup>*(2)</sup>	300 <sup>(2)</sup>	~ 1	Doce / Caramelo <sup>(5)</sup>
15	2-Furancarboxaldeído (Furfural)	60 <sup>*(2)</sup>	3000 <sup>(6)</sup>	20	Doce / Queimado / Nozes / Caramelo <sup>(3)</sup>
16	3-Hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona (Maltol)	40-400 <sup>*(2)</sup>	20,000-35,000 <sup>(1,5)</sup>	2-11	Doces / Caramelo <sup>(1,5)</sup>
Notas Terrosas					
17	2-etil-3,5-dimetilpirazina	0,017 <sup>(5)</sup>	0,16 <sup>(5)</sup>	106	Terrosa <sup>(5)</sup>
18	2-metoxi-3- (1-metil-etil)pirazina	0,0024 <sup>(5)</sup>	0,1 <sup>(5)</sup>	24	Terrosa <sup>(5)</sup>
19	3-etil-2,5-dimetilpirazina	0,80 <sup>(5)</sup>	43,000 <sup>(5)</sup>	<1	Terrosa <sup>(5)</sup>
20	3-isopropil-2-metoxipirazina	0,024 <sup>*(2)</sup>	0,01 <sup>(2)</sup>	2400	Terrosa <sup>(5)</sup>
21	2-metoxi-3- (1-metilpropil) pirazina	0,0004 <sup>*(2)</sup>	0,001 <sup>(2)</sup>	400	Terrosa <sup>(2)</sup>
22	2-etenil-3-etil-5-metilpirazina	0,002 <sup>*(2)</sup>	Nd	Nd	Terrosa <sup>(2)</sup>
23	2-isobutil-3-metoxipirazina	0,001 <sup>(7)</sup>	0,005 <sup>(7)</sup>	300	Terrosa <sup>(2)</sup>
24	2-etenil-3,5-dimetilpirazina	0,001 <sup>(5)</sup>	Nd	Nd	Terrosa <sup>(2)</sup>
Notas Torradas / defumadas					
25	2,3-Dimetilpirazina	2,48 <sup>*(2)</sup>	2500 <sup>(2)</sup>	1	Avelã / Torrada <sup>(3)</sup>
26	2,5-Dimetilpirazina	30 <sup>*(2)</sup>	3500 <sup>(2)</sup>	9	Avelã / Torrada <sup>(2)</sup>
27	2-Etilpirazina	13,5-16,5 <sup>*(2)</sup>	62 <sup>(1)</sup>	217-266	Amendoim / Torrado <sup>(2)</sup>
28	2,3,5-Trimetilpirazina	8-10 <sup>*(2)</sup>	9 <sup>(1)</sup>	890-1100	Noz torrada <sup>(2)</sup>
29	2-etil-3,6-dimetilpirazina	2 <sup>*(2)</sup>	86 <sup>(1)</sup>	23	Queimado / Café / Noz / Torrado <sup>(3)</sup>
30	2-etil-6-metilpirazina	7,53 <sup>(5)</sup>	Nd	-	Amendoim / Torrado <sup>(2)</sup>

Continua...

N <sup>o</sup>	Odorante de impacto	Concentração média (mg / kg)	Limiar de odor em água (µg / kg)	OAV (Valores de atividade odorífera)	Nota sensorial
31	6,7-di-hidro-5H-ciclopentapirazina	0,25*(2)	4000 (2)	<1	Avelã / Torrada (5)
32	6,7-di-hidro-5-metil-5H-ciclopentapirazina	0,50*(2)	6000 (2)	<1	Avelã / Torrada (5)
33	2,3-dietil-5-metilpirazina	0,0036(5)	0,09 (5)	40	Avelã / Torrada (2)
34	1- (3,4-Di-hidro-2H-pirrol-5-il) -etanona	Nd	Nd	Nd	Noz / Torrada (3)
35	3-metil-2-buten-1-tiol	0,0006(5)	0,0003 (5)	2000	Fumo / Torrado (2)
36	3,5-di-hidro-4 (2H) -tiofenona	Nd	Nd	Nd	Fumo / Torrado (5)
37	2-acetil-2-tiazolina	Nd	Nd	Nd	Torrado (2)
38	2-furfuriltiol	0,017(5)	0,01 (5)	1700	Café / Torrado (2)
Notas de Vegetais Cozidos					
40	2-metil-hidro- 3- furanotiol	0,001(5)	0,007 (5)	143	Carne / peixe / frango torrado (9)
41	Metional	0,01-0,06(5,7)	0,2 (5)	50-300	Batata cozida (2)
42	3- (metiltiol) propanal	0,213*(2)	0,2 (2)	1065	Molho de soja (8)
43	2- (metiltio-metil) furano	0,35(5)	Nd	Nd	Fumo / torrado (2)
44	3-mercapto-3-metil-butanol	0,0057(2)	0,0035 (2)	1630	Avelã / Torrada (2)
45	5-dimetil-trissulfureto	0,001-0,1*(2)	0,01 (2)	100-10000	Cebola fresca (6)
46	Metanotiol	0,17-0,21(5,7)	0,2	850-1050	Batata cozida (2)
Notas Fenólicas					
47	2-metoxifenol (guaiaicol)	0,12-0,17(7)	3-25 (1,5)	7-40	Fenólico / Torrado (2)
48	4-metoxifenol	0,7*(2)	68 (2)	10	Fenólico (8)
49	4-etilguaiaicol	0,048(5)	50 (5)	1	Fenólico (8)
50	4-etenil-guaiaicol	0,02(5)	Nd	Nd	Fenólico (8)
51	3-metil-1H-indol	0,10*(2)	Nd	Nd	Fenólico (2)
52	4-vinilguaiaicol	0,16-0,74(5,7)	20 (5,7)	8-40	Fenólico / Cravo (8)
Notas frutadas e florais					
53	Etanal	4,7*(7)	10 (7)	470	Frutado (3)
54	4-hidroxi-3-metoxibenzaldeo (Vanilina)	0,210(2)	25	8	Baunilha (5)
55	Propanal	6-11(2)	10	600-1100	Torrado / Frutado (3)
39	(E) -2-metil-2-butenal	Nd	500	-	Doce frutado / floral / Mel (5)
56	2-metil-propanal	0,20-0,80(2,7)	0,9 (2,7)	220-890	Cacau / Torrado (2)
57	3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol (linalol)	Nd	6	-	Florado (2)
58	Feniletanal	1,5-2,0 *(2)	4 (1)	375-500	Floral / Doce (1)
59	(E) -1- (2,6,6-trimetil-1-ciclo-hexa-1,3-dienil) but-2-en-1-ona ((E) -β-damascenona)	,0013-,0016 (5,7)	0,001 (5)	1300-1600	Maça cozida / Doce / Frutado (3)
60	E, E-2, 4-decadienal	Nd	0,07 (1)	-	Cítrico / Oleoso (3)
61	3-metil-etil-butanoato	Nd	Nd	-	Frutado (3)
62	3-mercapto-3-metilbutil formiato)	0,0055(7)	0,0035 (7)	1570	Urina de gato/ Cassis (2)

Continua...

N <sup>o</sup>	Odorante de impacto	Concentração média (mg / kg)	Limiar de odor em água (µg / kg)	OAV (Valores de atividade Odorífera)	Nota sensorial
63	3-Metil-1-butanol, formiato	0,13 <sup>*(2)</sup>	2,5 <sup>*(2)</sup>	52	Doce / Ameixa / frutado <sup>(3)</sup>
Notas picantes					
64	3-hidroxi-4,5-dimetil-2 (5H) - furanona (Sotolon)	0,08 <sup>(5,7)</sup>	20 <sup>(5)</sup>	4	Picante <sup>(5)</sup>
65	5-etil-3-hidroxi-4-metil-2 (5H) - furanona (Abhexon)	,008-,16 <sup>(5,7)</sup>	7,5 <sup>(5)</sup>	1-21	Picante <sup>(5)</sup>

\*6

O presente capítulo propõe a discriminação de amostras de café (principalmente *Coffea arabica*) de diferentes países e continentes, definindo sua composição aromática como critério de avaliação. Após a aplicação da análise discriminante (DA) aos dados, as equações válidas para rotulagem da origem geográfica são encontradas como ferramentas para validar a origem das amostras de café. Compilando e usando um banco de dados contendo 25 amostras de cafés, esta é a primeira tentativa na literatura para alcançar tal classificação global através do método de DA.

Este capítulo é estruturado da seguinte forma: seção 5.2 é dedicada modelagem; seção 5.3 compreende as informações do banco de dados, nomeadamente as amostras de café (5.3.1) e a caracterização do café (5.3.2). Os resultados são apresentados na seção 5, obedecem a seguinte sequência: normalização preliminar dos resultados (5.4.1), discriminação das amostras de acordo com as suas origens geográficas (5.4.2), diferenciação específica de amostras de café brasileiras (5.4.3), fatores geográficos e ambientais correlacionados com aroma do café (5.4.4) e finalmente, as principais conclusões são elaboradas na seção 5.5.

## 5.2. Modelagem

Tendo em vista a grande quantidade e variedade de compostos voláteis identificados em amostras de café torrado, abordagens estatísticas podem ser de utilidade especial no tratamento e interpretação de dados experimentais. Dentro deste contexto, a análise multivariada é uma ferramenta poderosa, uma vez que não só considera o impacto direto individual dos compostos

6:

1- Fisk et al. (29) / 2- Flament e Bessièrre-Thomas(2) / 3- Chin et al. (30) / 4- Yeretzián et al. (9) / 5 - Mayer et al. (31) / 6 - Burdock (32) / 7 - Semmelroch e Grosch (33) / 8 - Akiyama et al. (18)

voláteis, mas também leva em conta eventuais correlações entre eles. Dois dos métodos mais populares são Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Discriminante (DA).

A PCA compreende uma técnica para a redução da quantidade de dados de um conjunto, para isso, o número de variáveis é reduzido a um mínimo (componentes com maior variância), chamado de componentes principais, que guardam a informação do conjunto de dados original. Uma particularidade da PCA depende do fato de que é um método totalmente automatizado onde se identificam os componentes principais sem especificação do usuário. Neste sentido, a PCA é bastante adequada para a análise exploratória de dados multidimensionais onde as correlações cruzadas (redundâncias) podem estar presentes (14).

Tendo em conta que o conjunto de dados deste capítulo não são apenas multidimensionais (razões das áreas dos picos) e que um agrupamento deliberado de amostras é necessário (por exemplo, regiões geográficas ou países), a DA foi adotada para a modelagem estatística. Do mesmo modo que a PCA, este método é capaz de reduzir a redundância de dados (15), através da geração de funções discriminantes, que classificam a distribuição de cada ponto de dados no interior do agrupamento escolhido (classes). Assim, na abordagem de DA, o processo de transformação é dito ser *human guided* e dependente de classes, que fornece modelos que podem não ser o melhor absoluto considerando outras soluções de agrupamento, mas são aqueles que melhor correspondem às expectativas do usuário. No entanto, ao permitir que o usuário esteja presente nos cálculos matemáticos, melhores desempenhos de classificação podem ser alcançados através da DA.

Em geral, a aplicação de DA, neste capítulo tem como objetivo identificar os compostos mais relevantes, cujas variações na concentração de determinados compostos voláteis entre amostras de café a partir de diferentes origens geográficas são suficientemente claras para se julgar/confirmar tais origens, permitindo assim um procedimento de controle de qualidade. Exemplos de estudos de investigação sobre amostras de café que empregaram técnica DA foram publicados por Maeztu et al. (11), Murota (16) e Powers e Keith (17).

A modelagem estatística DA foi realizada utilizando os softwares SPSS v.23 e Matlab v.7.8.0. Para um conjunto de dados que compreende os cromatogramas de 25 amostras de café submetidos a torra média, tais dados foram extraídos a partir de várias publicações (ver Tabela 10). Levando em conta que mais de 900 compostos já foram identificados em matrizes de café torrado (2), o modelo ideal seria aquele que se baseasse no número mínimo de compostos que asseguram uma correta distinção entre as amostras. Apesar da vasta gama de moléculas encontradas em amostras de café, esse capítulo foi baseado na caracterização de GC-MS

relatada em seis diferentes estudos da literatura, que compreendem até 80 compostos voláteis. Além disso, várias moléculas são reconhecidas por conferir uma determinante influência sobre o aroma do café foram considerados (ver Tabela 9), sendo assim, estudadas com diferentes relevâncias para marcadores geográficos.

Tabela 10- Resumo do banco de dados de amostras de café para a análise discriminante.

Amostra	Origem	Espécie	Técnica Analítica	Número de compostos	Referência
1	El Salvador	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC-qMS		
2	Costa Rica	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC-qMS		
3	Brasil	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC-qMS		
4	Togo	<i>C. robusta</i>	HS-SPME-GC-qMS	73	Mondello et al.(6)
5	Índia	<i>C. robusta</i>	HS-SPME-GC-qMS		
6	Vietnã	<i>C. robusta</i>	HS-SPME-GC-qMS		
7	Etiópia	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
8	Tanzânia	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS	80	Akiyama et al. (18)
9	Guatemala	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
10	Etiópia	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
11	Nicarágua	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS	53	Moon e Shibamoto (19)
12	Sumatra	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
13	Iémen	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
14	Indonésia	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
15	Tanzânia	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
16	Colômbia	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS	17	Murota et al., (16)
17	Brasil	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
18	Guatemala	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
19	Tailândia	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
20	Indonésia	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
21	China	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS	62	Cheong et al. (20)
22	Indonésia	<i>C. arabica</i>	HS-SPME-GC / MS		
23	Brasil	<i>C. arabica</i>	HS-PTR-TOF-MS		
24	Etiópia	<i>C. arabica</i>	HS-PTR-TOF-MS	73	Yener et al. (7)
25	Guatemala	<i>C. arabica</i>	HS-PTR-TOF-MS		

Primeiramente, um tratamento preliminar dos dados foi realizado para possibilitar uma comparação entre os dados cromatográficos de diferentes artigos. Daí a normalização dos picos individuais por meio de proporções com um composto comum para todos os estudos, com o objetivo de encontrar a molécula de referência que poderia levar a melhores resultados de discriminação. Neste esforço, as seguintes moléculas foram testadas para a normalização: 2,3-pentanodiona, piridina, 2-metilpirazina, furfural e 2-metoxifenol. Elas foram escolhidas por serem relatadas pela maioria dos trabalhos de pesquisa considerados para a análise.

Ao garantir uma base de comparação robusta, quatro regiões geográficas diferentes foram escolhidas para a DA: América Central, América do Sul, África e Ásia (ver Figura 9). Estas englobam todas as amostras do banco de dados, em seguida, foram desenvolvidas funções discriminantes confiáveis para rotular amostras desconhecidas dentro das quatro categorias anteriores. Além disso, uma DA especial foi realizada para distinguir as amostras brasileiras, o que se justifica, tendo em vista o fato de que o Brasil detém a maior fatia em termos de produção mundial desta matéria-prima. Todos os modelos foram validados por meio de rotação das amostras de café entre os grupos e subconjuntos de validação, com o intuito de verificar uma dependência dos modelos discriminantes para conjuntos de dados de treinamento.



Figura 9 -Regiões geográficas (círculos coloridos) utilizados para agrupar os dados de amostras de café (ícones vermelhos) na Análise Discriminante.

(Figura elaborada à partir do Google maps)

Com referência à validação do modelo de DA, a avaliação da capacidade de previsão dos modelos produzidos também foi verificada através da inclusão de novos dados. Além disso, a fim de demonstrar que o modelo proposto não leva a um bom desempenho de classificação por puro acaso, e que a modelagem não sofre de *overfitting*, testes de permutação foram realizados seguindo o método descrito por Westerhuis et al. (21), sendo as funções de DA permutadas 10.000 vezes para cada caso.

### 5.3. Base de dados compilada

#### 5.3.1. Amostras de café

Como sistematizado na Tabela 10, a partir de 25 amostras de cafés de 15 diferentes localizações geográficas, foram recolhidos dados a partir da literatura neste estudo. Com exceção de três amostras de cafés que são de espécies robusta (a partir de Mondello et al. (6)), todas as outras compreendem cafés da espécie *C. arabica*. Os critérios para a construção do banco de dados abrangem três requisitos: i) amostras de café torrado com procedências do produtor (origem geográfica de cultivo) claramente identificadas; ii) voláteis de café realizados através de amostragem *Headspace* microextração em fase sólida (HS-SPME); iii) resultados analíticos obtidos por espectrometria de massa.

As amostras de café de Mondello et al. (6) foram fornecidas por Mauro Caffè SpA. (Reggio Calabria, Itália) e o processo de torrefação, em todos os casos, foi realizado pela empresa que forneceu a amostra em condições idênticas.

As amostras *de C. arabica* de Akiyama et al. (18) foram fornecidas pela Unicafe Inc. (Tóquio, Japão), torrados com grau de torra L26, utilizando um torrador L-12 Probat. O grau mencionado foi representado como um valor L, o qual foi determinado por medição de cor (partícula < 500 µm) através de um aparelho de reflectância iZE-2000 (Nippon Denshoku Industries Co. Ltd., Tóquio, Japão).

As amostras *de C. arabica* estudados por Moon e Shibamoto (19) foram torradas em um torrador de café da marca Gene Coffee (Inc., Park City, UT) sob diferentes condições, porém, somente os resultados de torra média (240 °C durante 14 min), foram consideradas para este estudo. Depois de torrefação, os grãos de café foram moídos com um moedor de café Starbucks Barista (Seattle, WA).

Murota et al. (16) analisaram seis amostras de *C. arabica*, que foram torradas durante 10 a 15 min sob temperaturas de 160-200°C (torra média). Seguidamente as amostras foram moídas com um moedor de corte de aço (malha de 18-22).

Cheong et al. (20) tomaram diferentes amostras de *C. arabica* de diferentes locais: Tailândia, Indonésia e China, torradas com um torrador de café caseiro (Imex, Coreia), durante 12 minutos a 220 °C (torra média) e em seguida, moídas em um moedor de café (Braun KMM30, Alemanha).

Finalmente, três amostras de *C. arabica* foram analisadas por Yener et al. (7), cujas origens foram Brasil, Guatemala e Etiópia comercializadas por Illy Caffè SPA, (Trieste, Itália), tais amostras já estavam moídas e torradas no grau de torra média.

### 5.3.2. Caracterização Química

Dos seis artigos a partir do qual foram compilados os dados experimentais, três métodos analíticos foram utilizados para a caracterização das amostras: *Headspace*-Micro extração em fase sólida e cromatografia gasosa acoplada espectrometria de –massas (HS-SPME-GC-qMS) (6), *Headspace*-SPME e cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massa (HS-SPME-GC-qMS)(16,18–20) e *Proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometry* (PTR-ToF-MS) (7). Os detalhes específicos, tais como o material e o diâmetro das fibras de SPME, condições cromatográficas e outros podem ser consultadas nas publicações originais.

## 5.4. Resultados e discussão

### 5.4.1- Normalização preliminar dos dados

Tal como referido na seção 2, um tratamento preliminar de dados foi necessário a fim de assegurar uma base de comparação entre os picos de cromatogramas de diferentes autores. Para se entender completamente a importância deste procedimento, deve-se mencionar que, a maioria dos artigos compilados relata a quantificação de compostos voláteis de café em termos de áreas de pico (6,18,19), outros contam com teor médio (16), concentração em ppm (20) e concentração em parte por bilhão em volume (ppbv) (7). Daí a normalização dos picos obtidos por meio de proporções com um composto comum a todos os estudos escolhidos, com o objetivo de encontrar uma molécula de referência que conduz aos melhores resultados de discriminação.

Dois critérios foram adotados para avaliar o desempenho de cada composto de referência sob análise: a % da variância explicada por as duas funções principais resultantes e a % de classificação correta dos casos. Na Tabela 11 o desempenho dos cinco compostos testados para proceder a normalização é descrito, sendo estes: 2,3-pentanediona, piridina, 2-metilpirazina, furfural e 2-metoxifenol.

*Tabela 11-Resultados de adequação para uso de compostos de referência para a normalização do banco de dados*

Composto de referência	% de variância explicada através das funções discriminantes			Classificação correta
	$Y_1$	$Y_2$	$Y_1 + Y_2$	
Furfural	63,1%	22,1%	85,2%	68,4%
2,3-pentanodiona	49,2%	37,6%	86,8%	76,5%
2-metilpirazina	76,6%	13,5%	90,1%	90,9%
2-metoxifenol	53,8%	34,8%	88,6%	93,5%
Piridina	82,7%	14,6%	97,3%	100,0%

Da Tabela 11, pode-se perceber que 2,3-pentanodiona e furfural são as piores escolhas para normalização do banco de dados, já que duas funções só explicam 85,2% e 86,8% da variância dos dados respectivamente, além de serem propensas a maiores erros de classificação (escores de classificação correta 68,4% e 76,5%). Em termos de performances médias de classificação pode-se destacar o 2-metoxifenol, que marcou 93,5% em termos de classificação correta, apesar de uma explicação da variância de apenas 88,6%.

No geral, a 2-metilpirazina e piridina foram os compostos com desempenhos mais eficazes para uso como referência, em particular a piridina permitiu uma classificação correta de 100,0%. Notavelmente, com duas funções discriminantes são capazes de explicar a 97,3% da variância do conjunto de dados compilados. Por esta razão, a piridina foi estabelecida como composto de referência para normalizar todos os resultados experimentais.

#### **5.4.2. Discriminação das amostras de acordo suas origens geográficas**

Sendo a piridina escolhida como composto de referência para normalização, o banco de dados foi em seguida discriminado sobre as quatro regiões continentais (ver Figura 9). O modelo proposto envolve 80 compostos com o objetivo de identificar marcadores em termos de diferenciação de amostras de diferentes procedências. Esta abordagem teve em conta que algumas publicações da Tabela 10 relatam apenas 17 compostos, restringindo assim o modelo em relação aos outros que têm mais moléculas relatadas. Como resultado, três funções discriminantes contando com um total de 18 compostos presentes nas amostras de café foram ajustados à base de dados (ver Tabela 12), explicando 100% da variância. Estas são identificadas na Tabela 13, bem como os coeficientes ( $\beta_i$ ) para cada função discriminante:  $Y_1$ ,  $Y_2$  e  $Y_3$ .

Tabela 12-Desempenho das funções discriminantes obtidos para as “Quatro regiões geográficas”.

Função	Varição Explicação (%)	Explicação da variância acumulada (%)	Correlação canónica
$Y_1$	82,7	82,7	0,990
$Y_2$	14,6	97,3	0,948
$Y_3$	2,7	100,0	0,787

Tabela 13- Coeficientes das funções discriminantes propostos para cada um dos três estudos de discriminação.

Compostos ( $V_i$ )	Coeficientes da função ( $\beta_i$ )				
	“Quatro regiões geográficas”			“Brasil vs. Outros”	“Brasil vs. América”
	$Y_1$	$Y_2$	$Y_3$	$Y_4$	$Y_5$
(Constante)	-15,169	-1,024	-8,256	-3,429	-21,115
2-metilbutanal	-10,985	1,720	-3,751	-1,355	5,057
3-metilbutanal	-4,019	-18,606	0,230	6,952	13,738
2,3-butanodiona	17,054	18,480	7,733	0,749	-28,552
2,3-pentanodiona	-6,305	-0,294	-1,002	-0,200	2,368
2-metil-1 H-pirrol	10,233	-3,429	4,809	6,357	-31,846
Pirazina	75,998	45,763	54,104	11,083	489,508
2-metilpirazina	-3,867	-2,519	7,057	2,881	-5,038
2,5-dimetilpirazina	76,283	6,368	11,547	-2,179	22,431
2,6-dimetilpirazina	-19,994	-17,754	-17,163	-1,709	-
2-etilpirazina	-64,957	-0,781	16,457	7,192	-
2,3-dimetilpirazina	-10,179	-4,642	2,662	-6,017	-
1-hidroxi-2-butanona	12,534	20,875	6,569	7,400	-
2-etil-6-metilpirazina	-1,438	-1,666	-44,529	-1,914	-
2-etil-3-metilpirazina	-12,705	19,236	7,666	8,803	-
Furfural	28,312	22,991	-1,534	4,266	-
5-metilfurfural	-22,335	-13,563	4,400	-4,208	-
2-furfuril-5-metilsulfureto	199,682	44,156	45,226	-	-
2- pirrol carboxaldeído	-7,785	-7,261	-6,501	-	-
2-metoxifenol	-	-	-	-10,069	-
2-acetilpirrol	-	-	-	4,193	-

A discriminação de amostras de café de acordo com suas origens geográficas é representada graficamente na Figura 10 usando apenas as funções  $Y_1$  e  $Y_2$ , que juntas explicam 97,3% (82,7% + 14,6%) da variância dos dados (ver Tabela 12). Para cada grupo geográfico considerado o centróide traçado, enquanto que os pontos de dados são representados

graficamente nas suas coordenadas individuais ligados a uma linha com o respectivo grupo centróide. Para enfatizar as áreas pertencentes a diferentes grupos, círculos coloridos foram desenhados em torno de cada grupo geográfico.

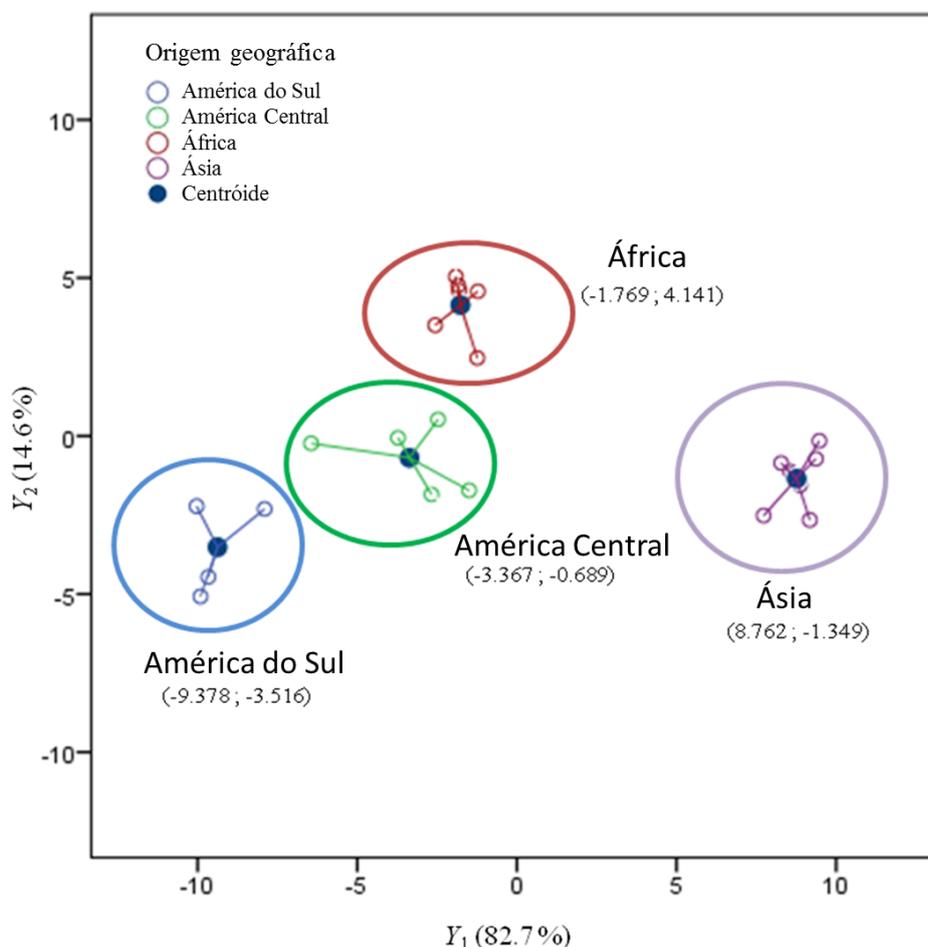


Figura 10- Pontuações discriminantes e valores centroides do modelo de DA para as quatro regiões geográficas.

No que se refere à diferenciação de grupos geográficos, a Ásia destoa claramente dos restantes, enquanto a África, América Central e América do Sul partilham regiões próximas no gráfico, embora sem sobreposição na representação bidimensional. No entanto, enquanto a função  $Y_1$  é suficiente para distinguir amostras asiáticas, a combinação de  $Y_1$  e  $Y_2$  é necessária para diferenciar claramente as duas classes América Central e a África.

Dispersão dos pontos de dados dentro de um determinado grupo é um parâmetro chave para a avaliação da qualidade da discriminação alcançada através de DA. A este respeito, deve ser dada atenção à categoria América Central, onde a maior dispersão relativa entre as amostras é observada (ver Figura 10), sendo a maior distância ao centroide fornecida pela amostra a partir de El Salvador. Desvios internos seriam esperados de menor intensidade nesse grupo do que

nas regiões de maior dimensão como a África ou na Ásia, que por sua vez apresentam uma dispersão moderada dos escores discriminantes dentro de cada grupo. A dispersão da América Central aproxima-se do grupo da África (acima) e América do Sul (abaixo), neste sentido, a partir de uma compreensão de DA, estas amostras de café parecem possuir composições intermediárias dos compostos discriminantes em relação às outras duas classes.

No que se refere à dispersão intragrupo das pontuações, a respeito do grupo África (Figura 10) é importante notar as duas amostras possuem um grande desvio do centróide tais amostras pertencem a Togo e Iêmen. Com relação ao café de Togo, duas características devem ser sublinhadas: compreende a única amostra que pertence à costa Atlântica da África e também é um de café da espécie robusta que foi utilizada intencionalmente neste estudo para verificar se as diferentes espécies de cafés poderiam perturbar significativamente o modelo. Com referência à dispersão associada à amostra de Iêmen, deve-se notar que este café foi incluído na categoria da África, enquanto que rigorosamente, pertenceria a categoria Oriente Médio, essa inclusão é devido a uma falta de amostras de origens idênticas que justifiquem uma categoria independente para o Oriente Médio.

Fica claro que  $Y_1$  é suficiente para diferenciar as amostras de café dos grupos asiáticos, enquanto que  $Y_1$  e  $Y_2$  são necessários para discriminar as três regiões restantes. A dispersão observada no grupo da Ásia (ver Figura 10) parece estar interligada com a distância física entre países como China, Indonésia, Índia e Tailândia, que implicam diferenças relativas às condições ambientais onde o café foi cultivado. Por outro lado, apesar de duas amostras robusta estarem presentes nesta categoria, nenhuma evidência de marginalização clara das outras amostras foi notada. Por isso, a dispersão eventual causada pelas espécies de café parece ter sido absorvida pela dispersão diretamente relacionada a fatores geográficos.

Com referência à América do Sul, a dispersão observada na Figura 10 é causada por amostras brasileiras, enquanto que, mais pontos de dados seriam necessários para confirmar esta observação, os resultados disponíveis sugerem que as amostras do Brasil são de particular complexidade dentro desse grupo.

A Tabela 14 resume o desempenho dos modelos discriminantes sobre a classificação de amostras do banco de dados de treinamento. Por conseguinte, uma classificação absolutamente correta foi atingida sem validação cruzada (utilizando todas as amostras de café) que pode ser atribuída a adequabilidade dos compostos da base de dados para ser utilizados como fatores discriminantes, mas também pela normalização preliminar que permitiu a seleção de uma molécula padrão de confiança.

*Tabela 14 - Desempenho geral de classificação (contagem e %) do modelo de DA, com e sem a validação cruzada (VC), para o estudo diferenciação das quatro regiões geográficas*

<i>Classe Original</i>	<i>Previsão de Classe (Modelo de DA)</i>							
	<i>América do Sul</i>		<i>América Central</i>		<i>África</i>		<i>Ásia</i>	
	<i>Sem VC</i>	<i>Com VC</i>	<i>Sem VC</i>	<i>Com VC</i>	<i>Sem VC</i>	<i>Com VC</i>	<i>Sem VC</i>	<i>Com VC</i>
<i>América do Sul</i>	4 (100%)	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>América Central</i>	0 (0%)	1 (16,7%)	6 (100%)	3 (50,0%)	0 (0%)	1 (16,7%)	0 (0%)	1 (16,6%)
<i>África</i>	0 (0%)	2 (28,5%)	0 (0%)	2 (28,5%)	7 (100%)	3 (43,0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Ásia</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (25,0%)	0 (0%)	1 (12,5%)	8 (100%)	5 (62,5%)

No entanto, a aplicação de uma validação cruzada (VC) expôs alguns erros de classificação envolvendo as amostras da América Central, África e Ásia. Nessas classes o sucesso de classificação foi reduzido para 50,0%(América Central), 43,0% (África) e 62,5% (Ásia) após a validação cruzada, no caso da América do Sul, alcançou-se 100% do sucesso.

De modo a verificar a confiabilidade do modelo proposto realizada acima, novos dados foram recolhidos a partir da literatura para a realização de testes de validação além da base de dados original. A Tabela 15 lista as amostras utilizadas para validação, que pode ser prontamente notado que as amostras das quatro regiões continentais são apresentadas para os testes de validação.

Tabela 15- Testes de validação para os estudos "Quatro Regiões Geográficas" (VT1-4), "Brasil vs. Outros" (VT5-6) e "Brasil vs. América" (VT7-8). VTi = sigla do número do teste de validação.

Teste	Referência	Origem	Espécies	Distância para o centróide				Classificação	
				América do Sul	América Central	África	Ásia		
VT1	Akiyama et al. (13))	Vietnã	<i>C. robusta</i>	12,78	7,83	10,23	<b>6,38</b>	Ásia	
VT2	Akiyama et al. (13)	Indonésia	<i>C. robusta</i>	16,62	13,47	16,61	<b>9,92</b>	Ásia	
VT3	Rocha et al. (5)	Colômbia	<i>C. arabica</i>	<b>10,06</b>	10,90	<b>10,23</b>	21,90	América do Sul ou África	
VT4	Amstalden et al.(22)	Brasil	<i>C. arabica</i>	<b>4,03</b>	9,80	11,42	22,65	América do Sul	
Teste	Referência	Origem	Espécies	Distância para o centróide "Brasil vs. outros"		Classificação	Distância para o centróide "O Brasil vs. América"		Classificação
VT5	Akiyama et al. (13)	Vietnã	<i>C. robusta</i>	6,21	<b>3,87</b>	Outras	-	-	-
VT6	Akiyama et al. (13)	Indonésia	<i>C. robusta</i>	2,78	<b>0,44</b>	Outras	-	-	-
VT7	Rocha et al. (5)	Colômbia	<i>C. arabica</i>	3,88	<b>1,54</b>	Outras	10,61	<b>4,21</b>	América
VT8	Amstalden et al.(22)	Brasil	<i>C. arabica</i>	<b>0,39</b>	1,15	Brasil	<b>2,53</b>	12,29	Brasil

Do ponto de vista computacional, o procedimento consistiu na compilação da composição química das amostras, a normalização pelo pico de piridina e em seguida, aplicando os coeficientes resultantes de cada função discriminante para as respectivas proporções, de modo que as notas finais foram obtidas. A mesma tabela contém os escores dos testes de validação para quatro regiões geográficas. A este respeito o critério para a classificação final foi a distância entre as pontuações discriminantes de uma dada amostra ao centróide de grupo de cada região geográfica considerada. A decisão da classificação é baseada na menor distância para o centroide do grupo. Por exemplo, no caso da amostra vietnamita feita a partir de Akiyama et al. (13), as pontuações discriminantes ( $Y_1$  e  $Y_2$ ) foram de 6,38 unidades de distancia euclidiana do centróide da Ásia e quando comparada a outros centroides temos as seguintes distâncias 7,83, 10,23 e 12,78 unidades para América Central, África e América do Sul, respectivamente. Assim, o modelo discriminante afirma que essa amostra pertence ao grupo Ásia, que é a classificação exata. Os testes de validação foram capazes de classificar adequadamente três das quatro amostras de café utilizadas para esse fim. Na realidade, a amostra da Colômbia relatado por Rocha et al. (2004) levou a uma classificação duvidosa envolvendo os grupos da América do Sul e África, já que a distância a estes centróides foram 10,06 e 10,23, respectivamente. Tal proximidade das distâncias é uma declaração incontestável de origem da amostra, embora permitindo a descartar corretamente duas outras procedências.

Um aspecto notável nos testes de classificação compreende o fato de que nem todos os compostos necessários para as funções discriminantes são relatados nos trabalhos utilizados para os testes de validação. Este fato é responsável por amostras onde a distância ao centróide é particularmente alta (por exemplo, 20 unidades) como no caso da amostra duvidosa da Colômbia. Obstante aos resultados da Tabela 15 temos a evidência de que o modelo discriminante tende a manter sua capacidade de classificação correta apesar da eventual falta de informação de alguns compostos chave.

Finalmente, um teste de permutação foi aplicado, a Figura 11 apresenta os resultados deste teste de permutação, cujos resultados são representados por dois parâmetros: o número de erros de classificação (NeC gráfico A1 na Figura 11) e através da medida de erro de previsão individual ( $Q^2$ : gráfico A2 na Figura 11).

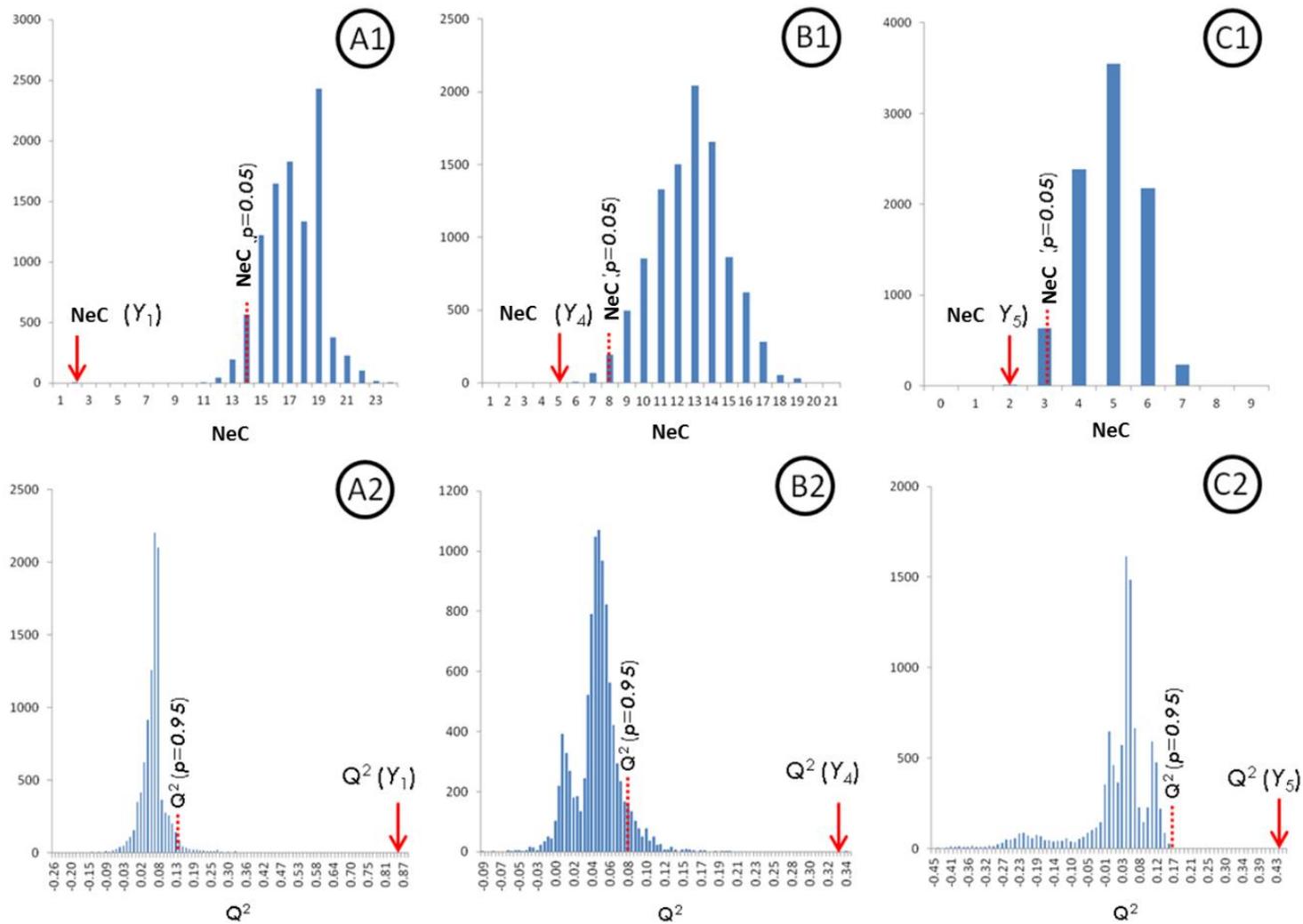


Figura 11- Resultados dos testes de permutação dos dados: A, B e C referem-se a “Quatro regiões geográficas”, “Brasil vs. Outros” e “Brasil vs. América” respectivamente. Os quadrantes superiores (A1, B1 e C1) referem-se ao Número de Erros de Classificação (NeC), e os inferiores (A2, B2, C2) compreendem as Medidas de erro de Previsão Individual ( $Q^2$ ).

Os resultados são representados em termos de histogramas de frequência, a permutação revelou que  $Y_1$  está fora das regiões mais densas que são resultantes das funções integradas aleatoriamente (ver gráficos A1 e A2 na Figura 11) e dentro do limite estatístico (nível de confiança de 95%), onde significância estatística é assegurada. No caso de  $Q^2$  temos uma pontuação de  $Y_1$  significativamente maior do que o valor médio obtido por permutação aleatória. Em relação a NeC,  $Y_1$  leva poucos erros de classificação e claramente está a esquerda do limiar estatístico para  $p\text{-valor} = 0,05$ . Em geral os resultados do teste de permutação demonstram que a função discriminante proposta consegue um bom desempenho de classificação que não se deve ao fato da aleatoriedade ou problemas de sobreajustamento, estes resultados apoiam a validade do modelo desenvolvido para a diferenciação das quatro principais regiões produtoras de café.

#### **5.4.3- Diferenciação específica de amostras de café brasileiras**

À luz da importância social do Brasil no contexto da produção mundial de café (35%, ver Figura 8), foi desenvolvida uma DA especificamente para discriminação das amostras de cafés brasileiros frente as amostras de outras origens listadas no banco de dados, bem como de “vizinhos” continentais da América. Adequadamente nossa base de dados foi reprocessada, mas para apenas duas categorias: “Brasil” e “Outros”. Os resultados mostraram que apenas uma função discriminante foi necessária para diferenciar amostras de café brasileiro a partir de amostras com diferentes proveniências. A função única resultante é capaz de explicar 100% dos dados e conta com 18 compostos, que são listados na Tabela 13. Em comparação com os fatores discriminantes da Seção 4.2, a diferenciação “Brasil” vs. “Outros” baseia-se os mesmos compostos com a exceção do 2-metoxifenol e 2-acetilpirrol que foram substituídos por duas novas moléculas: 2-etil-3-metilpirazina e 2-carboxaldeídropirrol. Assim, o modelo foi reformulado para distinguir especificamente amostras de café brasileiro envolvidas numa grande extensão, ocorrendo na maior parte uma remontagem dos coeficientes do modelo anterior do que uma substituição significativa de compostos discriminantes.

No que se refere à discriminação de amostras de café brasileiro das outras do mesmo continente, “Brasil” vs “América” os resultados da diferenciação também estão listadas na Tabela 13. Mostrou-se que uma função também foi suficiente para discriminar as amostras, notavelmente, o modelo discriminante resultante para esta diferenciação só precisa de 8 compostos: 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, 2,3-pentanediona, 2,3-butanodiona, 1H-

metilpirrol, pirazina, 2-metilpirazina e 2,5- dimetilpirazina. Na verdade, uma vez que menos amostras foram usadas para esta classificação, tendo uma função discriminante que depende de menos marcadores voláteis está de acordo com nossas expectativas.

A Figura 12 ilustra as taxas de pontuações discriminantes para ambas as análises, onde fica claro o bom desempenho de classificação dos modelos.

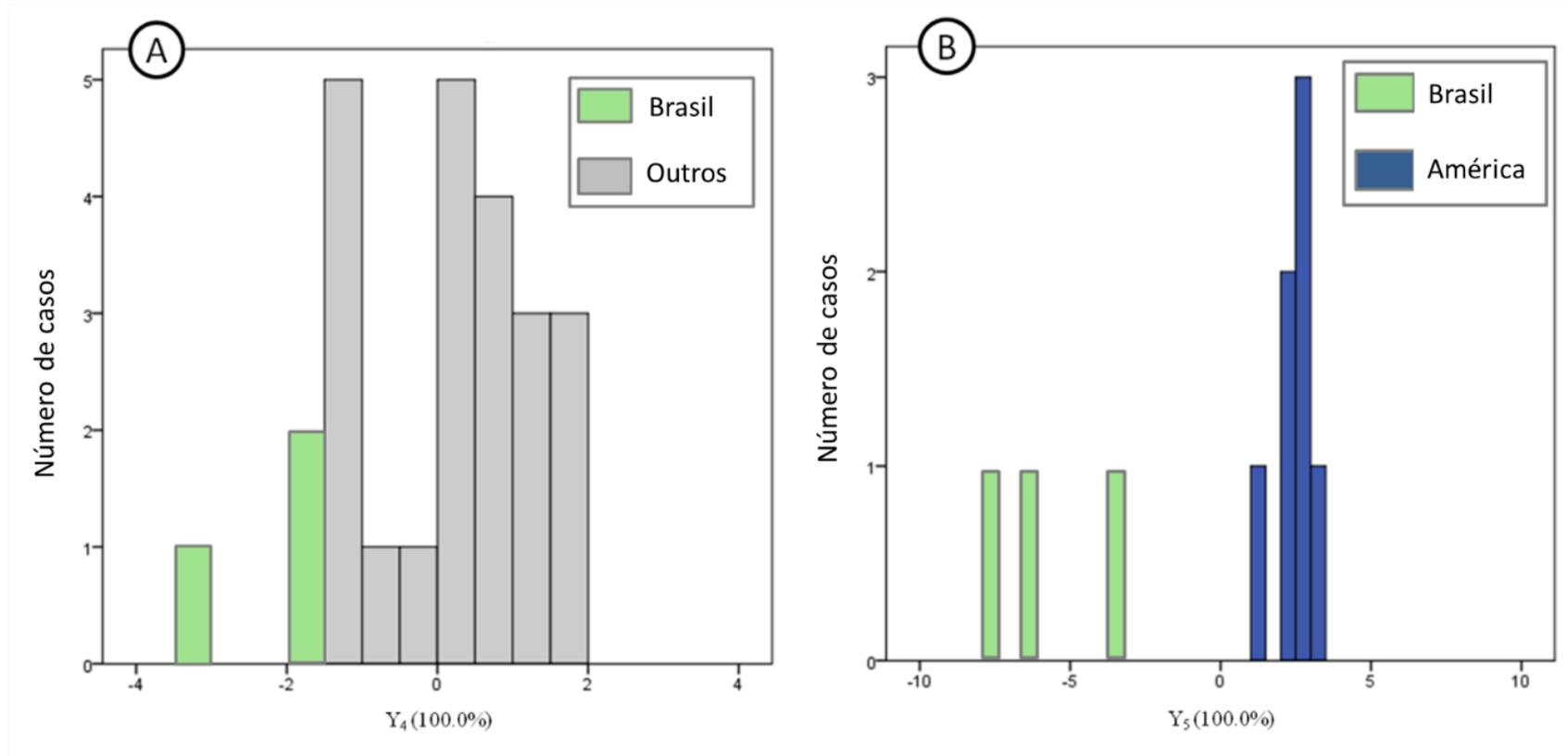


Figura 12- Pontuações discriminantes para (A) "Brasil vs. Outros" e (B) "Brasil vs. América". Os centroides de grupo em (A) são -2,062 para o Brasil e 0,281 para Outros Produtores, em (B) são -5.655 para o Brasil e 2.424 para América.

Tendo em conta o mais complexo desafio de discriminar amostras de café brasileiros de em grupo de amostras que incluem uma vasta diversidade de origem (“Brasil vs. Outros”), torna-se mais estreito a característica evidenciada pela distância absoluta entre os centroides dos grupos:  $|-2.062| - 0.281| = 2.343$  unidades no “Brasil vs. Outros”, contra 8.079 unidades em “Brasil vs. América”.

Do mesmo modo feito na Seção 5.4.2, o desempenho global classificação dos modelos foram avaliados, com e sem a validação cruzada. Estes resultados estão presentes nas Tabelas 16 e 17, onde pode ser observado que através da realização de uma validação cruzada a atribuição correta dos dados é reduzida para 62% no caso do modelo “Brasil vs. Outros” e para 71% no caso do “Brasil vs. América”.

*Tabela 16- Desempenho de classificação geral (unidade e %) do modelo de DA, com e sem validação cruzada (VC), para o estudo “Brasil vs. outros”.*

<i>Classe original</i>	<i>Previsão de classes (Modelo de DA)</i>			
	Brasil		Outros	
	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC
Brasil	3 (100%)	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Outros	0 (0%)	8 (38%)	21 (100%)	13 (62%)

Tabela 17- Desempenho da classificação geral (unidade e %) do modelo de DA, com e sem validação cruzada (VC), para o estudo “Brasil vs. América”.

Classe original	Previsão de classes (Modelo de DA)			
	Brasil		América	
	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC
Brasil	3 (100%)	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
América	0 (0%)	2 (29%)	7 (100%)	5 (71%)

Com referência aos dois estudos de diferenciação para as amostras brasileiras a Tabela 15 fornece os resultados dos ensaios de validação, onde as performances classificação perfeitas foram alcançadas. As funções foram capazes de atribuir corretamente a origem da amostra de café da Colômbia para o grupo “Outros” e grupo “América” em vez do grupo “Brasil”.

Seguindo a mesma linha de estudo discriminante das quatro regiões (Seção 4.2), testes de permutação foram realizados para as funções  $Y_4$  e  $Y_5$ , sendo os resultados apresentados nas nos gráficos B1 e B2, e C1 e C2, da Figura 11, respectivamente. Em ambos  $Y_4$  e  $Y_5$  levam pontuações fora das regiões mais densas que são formadas pelas funções integradas aleatoriamente, exibindo assim significância estatística sobre o NeC. Adicionalmente, tanto  $Y_4$  e  $Y_5$  encontram-se claramente no lado esquerdo da limiar  $p = 0,05$ ; no caso de  $Q^2$ , é expressamente localizado no lado direito da referência limite  $p = 0,95$ , a partir daí, idênticas conclusões podem ser tiradas dos resultados obtidos: as funções que compõem os modelos de DA de diferenciação específica de amostras de café brasileiro, sendo os modelos propostos robustos não por acaso ou por *overfitting*. Globalmente os resultados mostram que as amostras de café brasileiro possuem composições suficientemente distintas o que torna possível distingui-las unicamente com base em um pequeno grupo de compostos de chaves utilizando a função discriminante proposta.

#### 5.4.4-Fatores Geográficos e Ambientais e Aroma do Café

Até agora, vários estudos têm demonstrado que as composições de várias classes de compostos voláteis do café são influenciadas por fatores geográficos e climáticos, incluindo altitude, longitude, latitude, flutuações diárias de temperatura, precipitação e a radiação solar.

Estes fatores encontrados afetam os níveis de compostos odoríferos, incluindo 2-furfuriltiol, 2,3-butanodiona, 2,3-pentanodiona, 2-metilbutanal, 2,3-dimetilpirazina, 2-etil-6-metilpirazina, e guaiacol (4,6,20,23–26). Notavelmente, o nosso estudo revelou que o 2,3-butanodiona, 2,3-pentanodiona, 2-metilbutanal, 2-etil-6-metil-pirazina, 2,3-dimetilpirazina são de fato estatisticamente relevante para avaliar a proveniência de amostras de café, além de serem compostos de impacto odorífero.

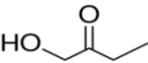
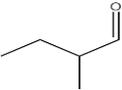
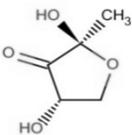
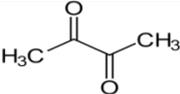
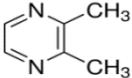
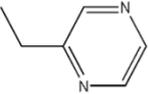
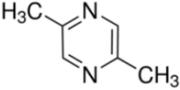
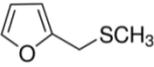
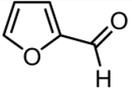
Além disso, *insights* valiosos podem ser tomados a partir do grupo de 18 compostos considerados como mais apropriados para discriminar a origem amostras de café. Por exemplo, sete destes compostos pertencem a uma classe de impacto com elevados valores de atividade odorífera (OAV) nomeadamente, 2-metilbutanal, 2,3-butanodiona e 2,3-pentanodiona, conhecido por conferir notas amanteigadas (Tabela 9); 2,5-dimetilpirazina e 2,6-dimetilpirazina, que induzem a notas de avelãs torradas e finalmente a 2-etilpirazina e 2-etil-6-metilpirazina, conferindo notas de castanhas torradas. Todos dos referidos compostos possuem OAV elevados e são de impacto organoléptico positivo na qualidade do café, porém a presença de 1-metilpirrol revela também notas negativas (conhecida como marcador de grãos defeituosos) sendo também relevante para distinguir amostras de café. Assim, os modelos de DA propostos neste capítulo dependem de moléculas discriminantes que conferem notas positivas e negativas para o café.

No caso específico de diferenciação de amostras brasileiras os compostos 2-etil-3-metilpirazina e 2-carboxaldeídropirrol foram incluídos no modelo em substituição do 2-metoxifenol e 2-acetilpirrol, enquanto os novos compostos não são de grande impacto odorante em comparação com os outros dois descartados. Além disso, o modelo desenvolvido para diferenciar amostras “Brasil vs. América” possui compostos anteriormente mencionados que conferem notas amanteigadas, nomeadamente, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, 2,3-butanodiona e 2,3-pentanodiona, bem como moléculas com notas torradas como a pirazina e metilpirazina. Os resultados obtidos estão de acordo com avaliações sensoriais existentes de amostras de café com torra americana, ou seja, conclui-se que, devido à sua menor altitude (em comparação aos cafés da Colômbia) o café brasileiro exibe notas sensoriais torradas e amargas (27), em contraste com os cafés da Guatemala que por exemplo evidenciam uma acidez refinada e notas mais doces (16).

A Tabela 18 apresenta dez marcadores propostos pelos modelos analíticos, tais compostos mostraram-se influentes para discriminar amostras de café. Destes, 2-metilbutanal é, talvez, o marcador mais versátil encontrado, por ser considerado importante em todos os

testes de discriminação geográficas ("Quatro regiões geográficas", "Brasil vs. Outros", "Brasil vs. América" e "Graus de torras"). Esta molécula pertence ao grupo de compostos voláteis de impacto no aroma do café, tais compostos possuem altos valores de atividade odorífera (OAV). Compostos como a 2-etilpirazina e 2,5-dimetilpirazina são importantes marcadores para ambas as avaliações de origem geográfica e de grau de torra. Do ponto de vista sensorial, os dois compostos estão ligados a notas sensoriais de amendoins e avelã torrada.

Tabela 18- Principais marcadores voláteis para a diferenciação de cafés de acordo com origem geográfica e grau de torra.

Composto volátil	Fórmula Estrutural	Nota Sensorial	Marcador
1-hidroxi-2-butanona		Torrada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Quatro regiões”</li> <li>• “Brasil vs. Outros”</li> </ul>
2-metilbutanal		Amanteigada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Quatro regiões”</li> <li>• “Brasil vs. Outros”</li> <li>• “Brasil vs. América”</li> <li>• “Grau de torra”</li> </ul>
dihidro-2-metil-3(2H)-furanona		Café	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Grau de torra”</li> </ul>
2,3-butanodiona		Amanteigada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Brasil vs. América”</li> </ul>
2,3-dimetilpirazina		Avelã Torrada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Grau de torra”</li> </ul>
Pirazina		Torrada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Quatro regiões”</li> <li>• “Brasil vs. Outros”</li> <li>• “Brasil vs. América”</li> <li>• “Grau de torra”</li> </ul>
2-etilpirazina		Amendoim Torrado	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Quatro regiões”</li> <li>• “Grau de torra”</li> </ul>
2,5-dimetilpirazina		Avelã Torrada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Quatro regiões”</li> <li>• “Brasil vs. América”</li> <li>• “Grau de torra”</li> </ul>
2-furfuril-5-metilsulfito		Sulfurosa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Quatro regiões”</li> </ul>
Furfural		Castanha Amarga	<ul style="list-style-type: none"> <li>• “Quatro regiões”</li> </ul>

Transcrito de Control of Coffee Samples Quality - Geographic and Roasting Factors (28)

## 5.5. Conclusão

Neste capítulo foi aplicada análise discriminante (DA) em 25 amostras de café, cuja caracterização (por HS-SPME-GC/MS e /ou HS-PTR-ToF-MS) é relatada na literatura, tendo em vista a identificação dos principais compostos para diferenciar as amostras de acordo com sua origem continental ou país (Brasil). Um estudo preliminar sobre a identificação/seleção de um composto adequado para ser usado como padrão para a normalização dos resultados foi realizado mostrando que a piridina é a melhor escolha.

Um modelo que inclui três funções discriminantes baseado em 18 compostos foi construída para classificar amostras de café de acordo com os seguintes grupos: África, Ásia, América do Sul ou América Central. O modelo baseia-se em moléculas como 2,3-butanodiona, 2,3-pentanodiona, 2-metilbutanal e 2-etil-6-metilpirazina, que são conhecidos por possuir altos valores de atividade odorífera (OAV) e, portanto, possuem um grande impacto organoléptico sobre o café.

Outro modelo de função única com base em 18 compostos foi construído para diferenciar especificamente amostras de cafés brasileiras de diferentes produtores. Os compostos eram quase os mesmos dos incluídos no modelo anterior, com apenas um rearranjo da sua importância relativa para este tipo de discriminação. Finalmente, um modelo para diferenciar amostras brasileiras do continente americano foi também desenvolvido, com apenas 8 compostos dos anteriores, porém com preferência para moléculas com OAV elevados.

Os modelos propostos foram validados e *cross-validados* com novos e independentes dados da literatura, e sua capacidade de previsão foi demonstrada. Além disso, foram realizados testes de permutação para uma validação estatística complementar dos modelos de DA. Além disso, foi verificada a robustez das funções discriminantes propostas em casos de caracterização insuficiente (falta de dados), sendo possível concluir-se que os nossos modelos estatísticos toleraram a falta de dados, sendo ainda assim capaz de classificar corretamente amostras de cafés de diferentes proveniências.

Tendo em vista a aplicação bem-sucedida de DA a base de dados, este capítulo fornece argumentos convincentes para o desenvolvimento da ferramenta DA com o objetivo de avaliar a qualidade do café em termos de suas origens continentais e/ou nacionais.

## 5.6. Referências

- 1 Smith AW Smith 1985. In: **Coffee. Vol 1 Chemistry**. London: 1985, p. 1–41.
- 2 Flament, I.; Bessi re-Thomas, Y. **Coffee Flavor Chemistry**. 2002.
- 3 Toci, A.T.; Farah, A. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. **Food Chemistry**, v. 153, p. 298–314, 2014.
- 4 Freitas, A.M.C.; Parreira, C. The Use of an Electronic Aroma-sensing Device to Assess Coffee Differentiation c Comparison with SPME Gas Chromatography 9 Mass Spectrometry Aroma Patterns. 2001.
- 5 Rocha, S.; Maeztu, L. Screening and distinction of coffee brews based on *Headspace* solid phase microextraction/gas chromatography/principal component analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 1, p. 43–51, 2004.
- 6 Mondello, L.; Costa, R. Reliable characterization of coffee bean aroma profiles by automated *Headspace* solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry with the support of a dual-filter mass spectra library. **Journal of Separation Science**, v. 28, n. 9–10, p. 1101–1109, 2005.
- 7 Yener, S.; Romano, A.; et al. PTR-ToF-MS characterisation of roasted coffees (*C. arabica*) from different geographic origins. **Journal of mass spectrometry : JMS**, v. 49, n. 9, p. 929–35, 2014.
- 8 Toledo, P.; Pezza, L.; et al. Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. **Reviews in Food Science e Food Tecnology**, 2016.
- 9 Yeretizian, C.; Jordan, A. Analysing the *Headspace* of coffee by proton-transfer-reaction mass-spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 223–224, p. 115–139, 2003.
- 10 Czerny, M.; Grosch, W. Potent odorants of raw Arabica coffee. Their changes during roasting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 868–872, 2000.
- 11 Maeztu, L.; Sanz, C.; et al. Characterization of espresso coffee aroma by static *Headspace* GC-MS and sensory flavor profile. **Journal of Agricultural ...**, v. 49, n. 11, p. 5437–5444, 2001.
- 12 Sanz, C.; Maeztu, L.; et al. Profiles of volatile compounds and sensory analysis of three blends of coffee: influence of different proportions of Arabica and Robusta and influence of roasting coffee with sugar. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, n. 8, p. 840–847, 2002.
- 13 Akiyama, M.; Murakami, K.. Characterization of Flavor Compounds Released During Grinding of Roasted Robusta Coffee Beans. **Food Science and Technology Research**, v. 11, n. 3, p. 298–307, 2005.
- 14 Jackson, J.E. Front Matter -- A User’s Guide to Principal Components. In: **A User’s Guide to Principal Components**. 1991, p. i–3.
- 15 McLachlan, G. **Discriminant Analysis and Statistical Pattern Recognition**. 2004.
- 16 Murota, A. Canonocal discriminant analysis applied to the *Headspace* GC profiles of coffee cultivars. **Biosci.Biotech.Biochem.**, v. 57, n. 7, p. 1043–1048, 1993.
- 17 Powers, J.J.; Keith, E.S. Stepwise Discriminant Analysis of Gas Chromatographic Data as an Aid in Classifying the Flavor Quality of Foods. **Journal of Food Science**, v. 33, n. 2, p. 207–213, 1968.
- 18 Akiyama, M.; Murakami. Characterization of *Headspace* Aroma Compounds of Freshly Brewed Arabica Coffees and Studies on a Characteristic Aroma Compound of Ethiopian Coffee. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 5, p. C335–C346, 2008.

- 19 Moon, J.K.; Shibamoto, T. Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 13, p. 5823–5831, 2009.
- 20 Cheong, M.W.; Tong, K.H.; et al. Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 388–396, 2013.
- 21 Westerhuis, J.A.; Hoefsloot, H.C.J.; et al. Assessment of PLS-DA cross validation. **Metabolomics**, v. 4, n. 1, p. 81–89, 2008.
- 22 Amstalden, L.C.; Leite, F. Identificação e quantificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução / espectrometria de massas empregando um amostrador automático de *Headspace*, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 123–128, 2001.
- 23 Freitas, A.; Mosca, A. Coffee geographic origin—an aid to coffee differentiation. **Food research international**, 1999.
- 24 Zambonin, C.; Balest, L. Solid-phase microextraction–gas chromatography mass spectrometry and multivariate analysis for the characterization of roasted coffees. **Talanta**, 2005.
- 25 Risticvic, S.; Carasek, E.; et al. *Headspace* solid-phase microextraction–gas chromatographic–time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. **Analytica chimica acta**, 2008.
- 26 Bertrand, B.; Boulanger, R.; et al. Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2575–2583, 2012.
- 27 Sandalj, V.; Eccardi, F. **O café: ambientes e diversidade**. 2003.
- 28 Toledo, P.R.A.B., de Melo, M. M.R., Pezza H.R., Toci, A.T., Pezza L., S.C.M. Control of coffee samples quality - Geographic and Roasting Factors. In: N Publications (Ed.); **Coffee: Production, Consumption and Health Benefits**. 2016, p. 51–66.
- 29 Fisk, I.D.; Kettle, A.; et al. Discrimination of roast and ground coffee aroma. **Flavour**, v. 1, n. 1, p. 14, 2012.
- 30 Chin, S.T.; Eyres, G.T.; et al. Identification of potent odourants in wine and brewed coffee using gas chromatography-olfactometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 42, p. 7487–7498, 2011.
- 31 Mayer, F.; Czerny, M. Sensory study of the character impact aroma compounds of a coffee beverage. **European Food Research and Technology**, v. 211, n. 4, p. 272–276, 2000.
- 32 Burdock, G.A. **Fenaroli's handbook of flavor ingredients**. 2010.
- 33 Semmelroch, P.; Grosch, W. Studies on character impact odorants of coffee brews. **J Agric Food Chem**, v. 44, n. 2, p. 537–543, 1996.

**Capítulo 6- Discriminação de amostras de cafés de acordo com origem geográfica em escala nacional e através de selos de qualidade**

## 6.1 Introdução

A abertura dos mercados devido à globalização aumentou a disponibilidade de uma grande variedade de alimentos, permitindo aos consumidores experimentar sabores e aromas de alimentos de diferentes proveniências. Embora isso ofereça muitas oportunidades comerciais, os produtores têm se esforçado para preservar suas posições no mercado adotando políticas econômicas protetoras. Alguns países utilizam terminologias de rotulagem, como "Produto Típico", "IGP" (Indicação Geográfica Protegida) e "DOC" (Denominação de Origem Controlada), entre outros, afim de agregar valor ao produto (1). Isso se deve devido ao fato de que esses cafés têm características organolépticas particulares que não são reproduzíveis em cafés produzidos em outras regiões. Somente na última década o Brasil começou a implementar programas de controle de qualidade do café por meio de parcerias privadas. Em 2004, a Associação Brasileira das Indústrias do Café (ABIC), juntamente com o Conselho Deliberativo para a Política do Café (CDPC), criou a certificação "Programa de Qualidade do Café" (PQC), além dos Selos da Qualidade e Pureza já existentes (2). No entanto, essa certificação ainda está longe de incluir todo o mercado nacional; esta iniciativa privada não é implementada por muitas indústrias de torrefação, principalmente aquelas de marcas líderes no mercado que não precisam de certificação para manter posições de mercado. Uma consideração adicional é que, além das designações geográficas, é cada vez mais importante identificar produtos rotulados de forma fraudulenta que atingem os mercados nacionais e internacionais, tanto por razões econômicas como de saúde pública (3). Uma dificuldade é que existe uma falta de uniformidade entre os países produtores de café em termos do tipo de classificação. No Brasil, as classificações de bebidas são: estritamente moles, mole, suaves, duras, rio e riadas, em ordem decrescente de qualidade. As bebidas de baixa qualidade resultam do uso de grãos defeituosos com imperfeições que ocorrem principalmente durante a colheita e processamento (2,4). As bebidas *gourmet* são preparadas com sementes classificadas como estritamente moles e moles, obtidas de uma única região. Além disso, a qualidade do café (ou dos grãos de café da qual a bebida se origina) é grandemente influenciada pelo solo e clima e, portanto, também pela origem geográfica (5).

Dada a dimensão do território brasileiro, o uso do termo "origem geográfica brasileira" parece muito amplo. Adicionalmente, estudos relataram a distinção de cafés em termos de conteúdo de compostos aromáticos e minerais, tanto em macroescala (país) quanto na microescala (regiões dentro do mesmo país) (6–9). Sendo assim, os fatores geográficos devem ser levados em consideração nas metodologias amplamente aplicáveis desenvolvidas para

avaliar a autenticidade dos cafés. Considerando que os testes sensoriais atualmente usados para classificar bebidas de café podem ser inerentemente subjetivos, sendo assim métodos complementares de avaliação são buscados pelos pesquisadores (10,11). A técnica de *Headspace*-SPME associada à cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (HS-CG-MS), fornece uma metodologia sensível e confiável para diferenciação de amostras de cafés através da sua composição aromática (compostos voláteis) de acordo com sua proveniência, além da discriminação de acordo com o perfil de qualidade das amostras de café (Tradicional, Superior ou *Gourmet*). Até o momento, no melhor do nosso conhecimento, nenhum estudo apresentou uma metodologia abrangente e robusta considerando os vários fatores que podem afetar a qualidade do café (12). Por conseguinte, se faz necessário utilizar a análise multivariada para interpretar os resultados, considerando não apenas as variáveis individuais, mas também possíveis correlações entre elas. Diante disso, o objetivo do presente capítulo é realizar a discriminação e identificação de compostos marcadores presentes na fração aromática de cafés de diferentes regiões (produtores brasileiros) e com diferentes selos de qualidade, utilizando a técnica de HS-SPME-CG-MS associada a estatística multivariada (Análise Discriminante). Espera-se que os resultados ajudem o país a adotar medidas de proteção ao mercado, controle de qualidade e a agregar valor aos produtos em questão.

## **6.2. Materiais e Métodos**

### **6.2.1 Amostras**

Um total de 24 amostras de cafés arábica (*Coffea arabica*), certificados pela Associação Brasileira das Indústrias do Café (ABIC) e por Cooperativas Regionais, foram analisados. Os cafés analisados possuem os selos de qualidade *gourmet*, superior ou tradicional pela classificação da ABIC (baseado na quantidade de grãos defeituosos presentes nas amostras) (2). Estes foram divididos entre os quatro estados brasileiros de maior produção de café arábica: Minas Gerais (MG), Bahia (BA), Paraná (PR) e São Paulo (SP) (Tabela 19).

### **6.2.2 Torra das amostras**

Porções de aproximadamente 100 g das amostras de café foram torradas em um torrador comercial de leito de jorro (i-Roast<sup>®</sup> Modelo No. 40011, Hearthware Home Products, EUA). Cada amostra foi torrada durante aproximadamente 5 minutos usando um programa de temperatura de 3 min a 196 °C e 2 min a 235°C, resultando em um grau de torra média clara de acordo com o Sistema de Classificação AGTRON. Todas as amostras foram trituradas

resultando em partículas  $\leq 300 \mu\text{m}$ . A torrefação foi realizada em duplicata. Após a torra as amostras foram moídas, embaladas, seladas hermeticamente e armazenadas no freezer a  $-30^\circ\text{C}$  até a etapa de análise.

### 6.2.3 Extração por *Headspace*-SPME:

Foi realizado o *Headspace*-SPME de aproximadamente 2 g de pó de café selados em um *vial* de 12 mL, submersos em um banho de água a  $60^\circ\text{C}$  e sujeitos a um pré-equilíbrio de 10 min. A fibra SPME utilizada foi a de tripla fase DVB/Carboxen/PDMS (Divinilbenzeno / Carboxeno / Polidimetilsiloxano) da marca Supelco (Milan, Italy), devido ao fato de adsorver uma ampla gama de compostos presentes na fração aromática das amostras de café. A fibra foi exposta no *Headspace* do *vial* por 40 min a  $60^\circ\text{C}$ . A fibra foi então dessorvida na porta de injeção do GC por um período de 5 min a  $250^\circ\text{C}$  no modo *splitless*. Todos os experimentos foram realizados em duplicata e a mesma fibra foi utilizada em todos os experimentos.

### 6.2.4. Análise por GC-MS:

As análises foram realizadas no cromatógrafo em fase gasosa da marca Agilent 5973 Network, equipado com um injetor *split/splitless* ( $250^\circ\text{C}$ ). A Coluna utilizada foi a DB-FFAP ( $30\text{ m} \times 0.32\text{ mm} \times 0.25\mu\text{m}$ ); a temperatura programada foi a seguinte:  $40^\circ\text{C}$  (5 min), gradiente de  $4^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $230^\circ\text{C}$  e gradiente de  $50^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $250^\circ\text{C}$ . Hélio foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de  $1,4\text{ mL min}^{-1}$ . Os dados foram coletados por GC-MS Chemstation G1701AA (Hewlett-Parckard) injetor e detector (quadrupolo) a  $250^\circ\text{C}$ . A tensão do detector MS foi de 1,2 kV. O intervalo de varredura de aquisição de dados espectrais de massa foi de 1,0 s e os dados foram coletados em uma faixa de massa de 40-400 u.

### 6.2.5 Identificação dos compostos voláteis:

A identificação dos compostos voláteis presentes na matriz foi realizada através da comparação dos espectros com biblioteca Wiley 275, levando-se em conta dois fatores: o maior grau de semelhança espectral e os valores de índice de retenção linear (LRI) calculados para cada composto para a coluna DB-FFAP.

### 6.2.6. Construção de modelos estatísticos:

Todos os modelos estatísticos propostos foram realizados utilizando a ferramenta de análise multivariada DA (Análise Discriminante) com validação cruzada utilizando o software

SPSS v.23 e validando os modelos com testes de permutação através do software Matlab v.7.8.0.

### 6.3. Resultados e discussão:

#### 6.3.1 Detalhamento das amostras analisadas provenientes de diferentes produtores brasileiros

Os cafés analisados possuíam selos de qualidade *Gourmet*, Superior ou Tradicional pela classificação da ABIC. Estes foram divididos entre os quatro estados de maior produção brasileiro de café arábica (Minas Gerais (MG), Bahia (BA), Paraná (PR) e São Paulo (SP)), as amostras processadas estão descritas na Tabela 19.

*Tabela 19-Amostras de cafés analisadas de diferentes produtores brasileiros*

COD. AMOSTRA	ORIGEM GEOGRAFICA	ESTADO PRODUTOR	COD. AMOSTRA	ORIGEM GEOGRAFICA	ESTADO PRODUTOR
A0	FRANCA	SP	A13	VITORIA DA CONQUISTA	BA
A1	FRANCA	SP	A14	POÇOES	BA
A2	GUAXUPÉ	MG	A15	SÃO SEBASTIÃO	SP
A3	GUAXUPÉ	MG	A16	SÃO SEBASTIÃO	SP
A4	CACONDE	SP	A17	SÃO SEBASTIÃO	SP
A5	MARIA CORREIA	SP	A18	VITORIA DA CONQUISTA	SP
A6	MONTE SANTO	MG	A20	TOMAZINA	PR
A7	SUL DE MINAS	MG	A21	TOMAZINA	PR
A8	GUAXUPÉ	MG	A22	TOMAZINA	PR
A9	FRANCA	SP	A23	TOMAZINA	PR
A10	FRANCA	SP	A24	GUAXUPÉ	MG
A11	FRANCA	SP			
A12	FRANCA	SP			

As condições de torra utilizadas foram: torra média (Tempo médio de torra: 5 min., temperatura: de 196°C a 235°C Grau de torra: Média Agtron/SCAA#55), de acordo com o sistema colorimétrico AGTRON.

### 6.3.2 Torrefação das amostras (Cálculo de perda de massa)

A fim de se verificar a uniformidade da torrefação foi calculada a perda de massa percentual (% PM) dos grãos de café após a torrefação usando-se a equação a seguir:

$$\%PM = \frac{(PAT - PDT)}{PAT} \times 100$$

Onde PAT e PDT são as massas da amostra antes e depois da torrefação, respectivamente. As amostras foram analisadas em duplicata e os resultados de perda de massa estão exibidas na Tabela 20.

*Tabela 20- Dados obtidos através da etapa de torrefação das amostras de cafés brasileiros.*

COD. AMOSTRA	Grão cru (g) (PAT)	Grão torrado (g) (PDT)	Tempo	PM%
A1	99,8761	83,2453	5'15''	16,6514
	100,3489	83,6280	5'15''	16,6628
A2	100,4587	88,8020	5'35''	11,6035
	100,4290	89,7871	5'40''	10,5964
A3	100,7014	88,7876	5'05''	11,8308
	99,8301	88,4250	5'19''	11,4245
A4	101,8458	88,0054	4'50''	13,5896
	100,3422	87,3193	4'45''	12,9785
A5	84,5077	74,8850	5'15''	11,3868
	83,5329	73,1918	5'35''	12,3797
A6	75,3490	65,6157	5'45''	12,9176
	75,6836	66,3005	5'47''	12,3978
A7	75,1339	65,3910	5'45''	12,9674
	76,0333	66,4091	5'47''	12,6579
A8	75,4080	66,9120	6'35''	11,2667
	75,7924	67,2250	6'15''	11,3038
A9	75,7613	64,7483	4'50''	14,5364
	74,3619	63,7285	4'45''	14,2995
A10	77,3370	67,8591	6'00''	12,2553
	74,1276	65,1445	6'06''	12,1184
A11	76,3761	66,8740	5'45''	12,4412
	74,4073	64,7859	5'40''	12,9307
A12	75,0334	65,3634	5'40''	12,8876
	75,3545	65,7999	5'35''	12,6795
A13	74,7750	65,8533	5'54''	11,9314
	74,6111	65,8546	5'45''	11,7362
A14	75,3182	66,3275	5'43''	11,9370
	76,7305	67,7690	5'45''	11,6792

Continua...

<b>COD. AMOSTRA</b>	<b>Grão cru (g) (PAT)</b>	<b>Grão torrado (g) (PDT)</b>	<b>Tempo</b>	<b>PM%</b>
A15	74,9629	66,3713	6'15''	11,4611
	75,4725	67,0879	6'20''	11,1095
A16	75,4883	65,7155	6'39''	12,9461
	76,1002	68,9291	6'29''	9,4232
A17	76,8207	67,1480	5'45''	12,5913
	75,7181	66,0840	5'47''	12,7236
A18	74,5424	65,7730	6'00''	11,7643
	75,1031	66,0297	5'50''	12,0813
A19	74,8864	64,9860	5'35''	13,2206
	75,4808	65,4558	5'38''	13,2815
A20	76,2011	66,3450	5'39''	12,9343
	76,6516	65,6610	5'45''	14,3384
A21	74,9311	64,4472	5'50''	13,9914
	75,7011	65,3573	5'53''	13,6640
A22	76,6537	64,7837	5'10''	15,4852
	74,8174	63,9713	5'15''	14,4968
A23	74,6543	65,4328	5'37''	12,3523
	74,8233	65,6754	5'45''	12,2260
A24	78,6768	66,4839	5'23''	13,3894
	79,4505	67,4938	5'47''	13,3894

Após o processo de torrefação as amostras permaneceram em repouso por um período de 12 horas (para liberação de CO<sub>2</sub>) e em seguida foram pesadas novamente para o cálculo de perda de massa. De acordo com a Tabela 20 verifica-se com o grau de torra média há uma variação de perda de massa entre 10,50 – 15,00 %, sendo que esse balanço de massa demonstra uma uniformidade na etapa de torrefação e ressalta como a temperatura final do processo de torra tem influência no produto final, ou seja, em temperaturas mais altas há maior perda de massa e conseqüentemente maior degradação de alguns compostos aromáticos. A torrefação propriamente dita dos grãos de café ocorre a temperaturas em torno de 160 a 245°C, nas quais basicamente ocorrem reações endotérmicas, com energias de ativação de 70 kcal/mol (13). Na etapa de torrefação do presente capítulo, todas as temperaturas enquadram-se nesta faixa.

### 6.3.3 Identificação dos compostos voláteis.

Um total de 91 compostos voláteis foram identificados na fração volátil de cafés brasileiros submetidos a torra média estão identificados na Tabela 21. Na identificação dos compostos foi

levado em conta dois fatores: o maior grau de semelhança espectral para cada pico e adicionalmente os valores de índice de retenção linear (LRI) que foram calculados para cada composto para a coluna DB-FFAP. O grau de semelhança espectral e os índices de retenção são ferramentas importantes para minimizar os erros de identificação de compostos, permitindo uma atribuição de pico mais confiável (Tabela 21).

*Tabela 21- Compostos voláteis identificados no Headspace de cafés brasileiros de diferentes regiões geográficas*

Nº pico	Composto identificado	R (t.r. Alcano menor)	R (t.r. Alcano maior)	Nº (carbonos de r)	LRI <sup>a</sup>	LRI (Ref) <sup>b</sup>	Grau de semelhança espectral (%)
1	2 metilbutanal	2,08	3,16	9	910	913	85
2	3 metilbutanal	2,08	3,16	9	915	916	95
3	2,3-butanodiona	2,09	3,16	9	976	981	72
4	2,3- pentadiona	3,16	5,57	10	1052	1062	78
5	Hexanal	3,16	5,57	10	1071	1079	95
6	Piridina	5,57	9,08	11	1179	1182	91
7	Pirazina	9,08	12,71	12	1240	1215	53
8	2-metilpirazina	9,08	12,71	12	1256	1267	91
9	3-hidroxi-2 butanona	9,08	12,71	12	1273	1289	87
10	1 hidroxi-2-propanona	9,08	12,71	12	1291	1300	85
11	2,5-dimetilpirazina	12,71	16,14	13	1312	1322	91
12	2,6-dimetilpirazina	12,71	16,14	13	1317	1334	91
13	2 etilpirazina	12,71	16,14	13	1323	1338	90
14	2-hidroxi-2metil-ácido propanoico	12,71	16,14	13	1328	N	80
15	2,3-dimetilpirazina	12,71	16,14	13	1337	1345	90
16	1 hidroxi-2 butanona	12,71	16,14	13	1363	1375	72
17	2-etil-6-metilpirazina	12,71	16,14	13	1375	1391	91
18	2-etil-5-metilpirazina	12,71	16,14	13	1381	1411	94
19	2-etil-3-metilpirazina	12,71	16,14	13	1395	1406	78
20	Ácido acético	16,14	19,33	14	1416	1440	90
22	2,6-dietilpirazina	16,14	19,33	14	1449	1433	81
23	Furfural	16,14	19,33	14	1459	1461	94
24	1-(acetiloxi)-2-propanona,	16,14	19,33	14	1468	1470	78
25	2-metil-6-vinil-pirazina	16,14	19,33	14	1477	1490	87
26	5-metil-3,5-dietil-pirazina	16,14	19,33	14	1483	N	76
27	Furaneol	16,14	19,33	14	1489	N	90
28	Acido fórmico	16,14	19,33	14	1493	1501	72
29	Furfuril formato	16,14	19,33	14	1494	1504	67
30	Benzaldeído	19,33	22,34	15	1507	1509	96
31	2,3-dimetil-2-ciclopenten-1- ona	19,33	22,34	15	1522	1573	64

Continua...

Nº pico	Composto identificado	R (t.r. Alcano menor)	R (t.r. Alcano maior)	Nº (carbonos de r)	LRI <sup>a</sup>	LRI (Ref) <sup>b</sup>	Grau de semelhança espectral (%)
32	Ácido propanoico	19,33	22,34	15	1525	1539	73
33	3,3-dimetil-2-butanona	19,33	22,34	15	1529	1540	62
34	Furfuril acetato	19,33	22,34	15	1534	1547	97
35	Linalol	19,33	22,34	15	1543	1557	68
36	5-metil-furfural	19,33	22,34	15	1567	1582	94
37	4-ciclopentene-1,3-diona	19,33	22,34	15	1575	1573	68
38	2-metil-5-(1-propenil)- pirazina	19,33	22,34	15	1582	N	74
39	1-(2-piridinil)-etanona	19,33	22,34	15	1589	N	95
40	Furfuril propionato	19,33	22,34	15	1594	1599	62
41	2-metil-5-vinilthiofeno	19,33	22,34	15	1596	N	65
42	1-metil-1h-pirrol-2- carbaldeído	22,34	25,16	16	1606	1607	63
43	β butirrolactona	22,34	25,16	16	1616	1609	87
44	6,7-dihidro-5-metil-5H- ciclopentapirazina	22,34	25,16	16	1627	1598	67
45	5 etilfurfural	22,34	25,16	16	1630	N	72
46	2-acetilpirazina	22,34	25,16	16	1637	1614	68
47	2-acetil-1-metilpirrol	22,34	25,16	16	1644	1645	75
48	Álcool furfurico	22,34	25,16	16	1664	1668	94
49	1-(5-metil-2-pirazinil)-1- etanona	22,34	25,16	16	1675	N	65
50	1-(6-metil-2-pirazinil)-1- etanona	22,34	25,16	16	1682	1679	91
51	Tiofenecarboxaldeido	25,16	27,87	17	1719	1679	91
52	2(5H)-furano	25,16	27,87	17	1743	1787	82
53	2-heptilfurano	25,16	27,87	17	1750	N	35
54	Ácido benzoico, 2-hidroxi-, metil ester	25,16	27,87	17	1757	N	95
55	2-ácido butenóico	25,16	27,87	17	1762	N	88
56	3-etil-2-hidroxi-2- ciclopenten-1-ona	25,16	27,87	17	1782	1924	70
57	3-metil-2-ácido butenóico	25,16	27,87	17	1786	1819	90
58	Trans-γ.-damascenona	27,87	30,46	18	1802	1797	97
59	2-hidroxi-3-metil-2- ciclopenten-1-ona	27,87	30,46	18	1816	1857	96
60	Furfuril pirrol	27,87	30,46	18	1819	1839	88
61	Ácido hexanóico	27,87	30,46	18	1835	N	80
62	2,3-dihidro-5-hidroxi-6- metil-4(h)-piran-4-one	27,87	30,46	18	1844	1848	72
63	2-metoxifenol (guaiacol)	27,87	30,46	18	1849	1859	93
64	2-formilmetilpirrol	27,87	30,46	18	1855	N	65
65	Álcool benzílico	27,87	30,46	18	1865	1886	96
66	5-metil-2(5H)-furanona	27,87	30,46	18	1869	1707	84

Continua...

Nº pico	Composto identificado	R (t.r. Alcano menor)	R (t.r. Alcano maior)	Nº (carbonos de r)	LRI <sup>a</sup>	LRI (Ref) <sup>b</sup>	Grau de semelhança espectral (%)
67	3-etil-2-hidroxi-2-ciclopenten-1-one	27,87	30,46	18	1880	1924	90
68	Furfurilideneacetona	27,87	30,46	18	1892	N	88
69	Álcool fenilético	27,87	30,46	18	1898	1921	94
70	2-fenil-2-butenal	30,46	32,91	19	1915	N	95
71	2-tiofeno metanol	30,46	32,91	19	1933	N	80
72	3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona (maltol)	30,46	32,91	19	1953	1959	91
73	2-acetilpirrol	30,46	32,91	19	1959	1969	92
74	Éter furfurílico	30,46	32,91	19	1977	1996	65
75	Acido furancarboxílico, metil ester	30,46	32,91	19	1989	N	72
76	Fenol	30,46	32,91	19	1995	2007	90
77	1h-pirrol-2-carbaldeído	32,91	35,25	20	2010	2038	91
78	2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furano	32,91	35,25	20	2023	2062	93
79	4-eti guaicol	32,91	35,25	20	2059	2023	83
80	2,5-dimetil-2-(2-tetraidrofuril)tetraidrofurano	32,91	35,25	20	2085	N	82
81	2,5 dimetilpirrol	35,25	37,80	21	2127	?	57
82	4-vinilguaiaicol	35,25	37,80	21	2177	2187	91
83	5-acetildihidro-2(3H)-furano	35,25	37,80	21	2181	2096	78
84	1-furfuril-2-formil pirrol	37,80	41,25	22	2211	N	72
85	3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-one	37,80	41,25	22	2241	2309	64
86	Ácido 1,2-benzenedicarboxílico, dietil ester	37,80	41,25	22	2290	N	97
87	4-vinilfenol	41,25	43,87	23	2308		87
88	3 piridinol	41,25	43,87	23	2324		86
89	Ácido 2-furancarboxílico	41,25	43,87	23	2335		93
90	2-3H furanone -5 etil -dihidro	41,25	43,87	23	2370		90
91	5-hidroxiacetilfurfural	41,25	43,87	23	2396	2528	92

<sup>a</sup>RI: Índices de retenção linear calculados para coluna capilar DB-FFAP.

<sup>b</sup>Holscher et al. (14), Cantergiani et al.(15), Sanz et al. (16).

Nas seções seguintes estão descritas as discriminações realizadas através da aplicação de ferramentas quimiométricas nos resultados extraídos dos cromatogramas (áreas de pico percentual médio) de todas as amostras de cafés analisadas.

### 6.3.4 Análise Quimiométricas

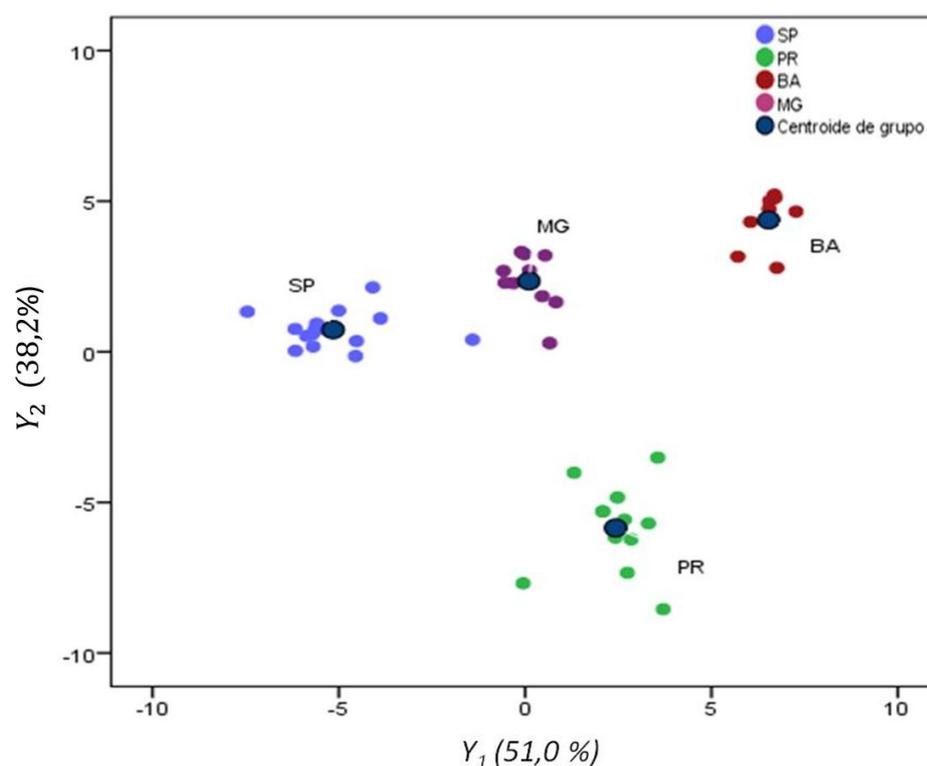
#### 6.3.4.1 Modelos de análise discriminantes: território brasileiro

Devido à vasta extensão do território brasileiro e a possibilidade de cultivos diversificados, o Brasil tem uma grande variabilidade de grãos produzidos, que dará origem a bebidas únicas de acordo com a região de cultivo. Com essa premissa, foi aplicada DA aos resultados obtidos (áreas de pico percentual médio) através da técnica de HS-SPME-GC-MS das amostras de cafés de diferentes produtores brasileiros. O modelo proposto envolve 91 compostos (Tabela 21), com o objetivo de identificar marcadores em termos de diferenciação de amostras com diferentes proveniências (microrregiões – produtores brasileiros). Como resultado, duas funções discriminantes contando com um total de 35 compostos presentes nas amostras de café foram propostas como marcadores (ver Tabela 22), explicando 89,3% da variância. Estes compostos estão identificados na Tabela 22, bem como os coeficientes ( $\beta_i$ ) para cada função discriminante:  $Y_1$  e  $Y_2$ .

Tabela 22- Coeficientes não padronizados das funções discriminantes propostas para discriminação de acordo com origem geográfica (Produtores Brasileiros)

N° Comp.	Composto	Função		N° comp.	Composto	Função	
		Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>			Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>
1	2 metilbutanal	-1,28	-0,3	19	Acido propanoico	-6,51	3,47
2	3 metilbutanal	3,83	4,62	20	Ácido 2 hidróxi-2 -metil- propanóico	-0,94	9,00
3	Piridina	8,96	6,70	21	Pirazina	19,63	1,39
4	1 hidróxi-2-propanona	12,22	3,33	22	2-metilpirazina	-6,02	-2,50
5	2,3-dimetil-2-ciclopenten- 1-ona	0,31	-0,01	23	3-hidróxi-2 butanona	-1,47	4,81
6	3,3-dimetil-2-butanona	3,74	3,27	24	2,5-dimetilpirazina	19,92	-2,08
7	4-ciclopentene-1,3-diona	4,54	0,91	25	2,6-dimetilpirazina	17,31	3,29
8	1 hidróxi-2 butanona	-2,48	-5,61	26	2 etilpirazina	11,21	2,26
9	2,3-butanodiona	2,61	-0,18	27	2,3-dimetilpirazina	-3,24	-1,24
10	2,3-pentadiona	-4,25	-7,08	28	2-etil-6-metilpirazina	-7,04	-4,91
11	Furaneol	-9,84	4,65	29	2-etil-5-metilpirazina	10,66	0,41
12	Formato furfuril	24,11	1,27	30	2-acetilpirazina	5,65	7,39
13	Furfural	12,46	7,67	31	2-etil-3-metilpirazina	-6,77	-1,44
14	Benzaldeído	4,43	3,04	32	2,6-dietilpirazina	-7,88	-3,61
15	5 etilfurfural	-5,05	5,56	33	2-metil-6-vinil-pirazina	10,94	4,11
16	Acetato de furfuril	5,66	6,53	34	5-metil-3,5-dietil-pirazina	-4,79	2,32
17	Ácido acético	12,56	3,28	35	2-metil-5- (1-propenil) - pirazina	-1,46	0,41
18	Ácido fórmico	-0,41	0,53		(Constante)	12,32	2,32

A discriminação de amostras de café de acordo com suas origens geográficas (produtores brasileiros) é representada graficamente na Figura 13 usando apenas as funções  $Y_1$  e  $Y_2$  em um modelo bidimensional, que juntas explicam 89,2% (51,0% + 38,2%) da variância dos dados. Para cada grupo geográfico considerado há um centróide, enquanto que os pontos de dados são representados graficamente nas suas coordenadas individuais. Pode-se notar uma clara diferenciação em microrregiões (estados brasileiros) também é possível perceber que as amostras de SP e MG tem um perfil aromático muito próximo, o que pode ser explicado pela sua proximidade territorial, amostras do PR e BA possuem um perfil aromático mais diferenciado.



entanto, enquanto a função  $Y_2$  é suficiente para distinguir amostras do estado do Paraná, a combinação de  $Y_1$  e  $Y_2$  é necessária para diferenciar claramente as amostras de SP, MG e BA.

Dispersão dos pontos de dados dentro de um determinado grupo é um parâmetro chave para a avaliação da qualidade da discriminação alcançada através de DA. A este respeito, deve ser dada atenção à categoria de amostras do Paraná, onde a maior dispersão relativa entre as amostras é observada (ver Figura 13). Dispersões internas de menor intensidade podem ser observadas no grupo de amostras de Minas Gerais e Bahia.

A Tabela 23 resume o desempenho do modelo discriminante em relação à classificação de amostras de acordo com os maiores estados produtores de café do Brasil. Conseqüentemente, uma classificação inteiramente correta foi alcançada sem validação cruzada (usando todas as amostras de café), o que pode ser atribuído à adequação dos compostos da base de dados a serem utilizados como fatores discriminantes.

*Tabela 23-Desempenho geral da classificação (unidade / %) do modelo DA, com e sem validação cruzada (VC), para o estudo de diferenciação dos quatro maiores estados produtores de café*

Classe Original	Previsão de classes (Modelo DA))							
	SP		PR		BA		MG	
	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC
SP	16 (100%)	7 (43,8%)	0 (0%)	2 (12,5%)	0 (0%)	3 (18,8%)	0 (0%)	4 (25,0%)
PR	0 (0%)	1 (8,3%)	12 (100%)	6 (50,0%)	0 (0%)	3 (25,0%)	0 (0%)	2 (16,7%)
BA	0 (0%)	2 (25,0%)	0 (0%)	2 (25,0%)	8 (100%)	3 (37,5%)	0 (0%)	1 (12,5%)
MG	0 (0%)	3 (30,0%)	0 (0%)	3 (30,0%)	0 (0%)	0 (0%)	10 (100%)	4 (40,0%)

No entanto, a aplicação de uma validação cruzada (VC) expôs algumas classificações incorretas envolvendo amostras da Bahia e Minas Gerais. Nessas classes, o sucesso das classificações foi reduzido para 37,5% (BA), 40,0% (MG) após validação cruzada. No caso das amostras de São Paulo e Paraná obtivemos melhores resultados de validação cruzada.

### 6.3.4.2 Modelo de análise discriminantes de selos de qualidade (Tradicional, Superior e Gourmet)

Devido a importância do controle de qualidade de alimentos a ABIC dispõe de selos de qualidade que são importantes marcadores de qualidade de cafés brasileiros. Na perspectiva de metodologias abrangentes não subjetivas (como testes sensoriais), baseando-se no perfil aromático de amostras de cafés de diferentes produtores brasileiros, foi desenvolvida uma DA especificamente para discriminação destes selos de qualidade de acordo com as classificações Tradicional (nota de 3 a 6), Superior (nota 6,1 a 8) e *Gourmet* (nota 8,1 a 10) (2). Adequadamente a base de dados com a quantificação de compostos da fração aromática das amostras de cafés brasileiros analisadas (Tabela 19) foi reprocessada, mas agora para as categorias: “Tradicional”, “Superior” e “Gourmet” (Figura 14).



Figura 14- Símbolos dos Selos de Qualidade PQC - ABIC, 2017

Por conseguinte, foi construído um modelo para a discriminação por selos de qualidade das amostras analisadas, os resultados da DA mostraram que apenas duas funções discriminantes foram necessárias para diferenciação das amostras de café brasileiro por meio do seu perfil aromático. A discriminação das amostras de café de acordo com seus selos de qualidade usando DA é representada graficamente na Figura 15 usando apenas as funções  $Y_1$  e  $Y_2$  discriminantes lineares, que em conjunto de compostos explicam 100,0% (89,4% + 10,6%) da variância dos dados.

As funções discriminantes geradas contam com um total de 44 compostos voláteis (ver Tabela 24) a partir de uma lista completa de 91 compostos orgânicos voláteis (COVs) identificados por GC-MS. Os respectivos coeficientes também são fornecidos para cada função.

*Tabela 24-Coeficientes não padronizados das funções discriminantes propostas para discriminação de acordo selos de qualidade*

Nº Comp.	Composto	Função		Nº Comp.	Composto	Função	
		Y1	Y2			Y1	Y2
1	2-metilbutanal	3,106	21,009	24	Formato furfuril	34,741	12,005
2	3-metilbutanal	31,75	45,145	25	Benzaldeído	-43825	-31,6
3	Furfural	4,462	6,055	26	2,3-butanodiona	22,086	15,128
4	5-metil-furfural	-5,055	-3,304	27	2,3-pentadiona	-77,221	-53149
5	Piridina	3,675	0,728	28	3-hidróxi-2 butanona	84,923	52,05
6	Pirazina	110601	88,289	29	1 hidróxi-2-propanona	-6579	-5,476
7	2-metilpirazina	1,968	-0,79	30	1 hidróxi-2 butanona	-41,452	55,963
8	2,5-dimetilpirazina	-34781	33,755	31	1- (acetiloxi) -2-propanona,	-34,288	0,6139
9	2,6-dimetilpirazina	54,378	25,161	32	2,5-dimetil-4-hidroxi-3 (2H) -furanona	-7,133	-1168
10	2 etilpirazina	-87,022	-5,923	33	2,3-dimetil-2-ciclopenten-1- ona	73,057	90,584
11	2,3-dimetilpirazina	-22,375	19,29	34	3,3-dimetil-2-butanona	16,704	-0,973
12	2-etil-6-metilpirazina	-37,014	-4917	35	4-ciclopenteno-1,3-diona	-15483	-9212
13	2-etil-5-metilpirazina	9,434	16205	36	1- (2-piridinil) -etanona	56,257	11,9584
14	2-etil-3-metilpirazina	6,094	-0,776	37	3-etil-2-hidroxi-2- ciclopenten-1-ona	-62,827	-10,694
15	2,6-dietilpirazina	3,899	10759	38	Linalol	270117	195,439
16	2-metil-6-vinil-pirazina	-2,611	16,197	39	Furfurilpropionato	40,612	30,997
17	5-metil-3,5-dietil-pirazina	-7,68	-3392	40	2-metil-5-viniltiofeno	-46,625	4,548
18	2-metil-5- (1-propenil) - pirazina	31,262	12,405	41	Acetato de furfuril	0,509	1,837
19	Furaneol	31,389	8,941	42	$\gamma$ -butirolactona	34,388	9,965
20	Ácido 2 hidróxi-2 -metil- propanóico	11,812	41,614	43	2-acetil-1-metilpirrol	28,014	-8,846
21	Ácido acético	5,619	482	44	1-metil-1H-pirrol-2- carbaldeído	-0,14	7,707
22	Ácido fórmico	43,186	-6,89				
23	Ácido propanóico	-23,43	0,675		(Constante)	27,805	8,936

Para cada grupo de selo de qualidade temos os respectivos valores de centroides, enquanto os pontos de dados são representados graficamente nas suas coordenadas individuais (Figura 16).

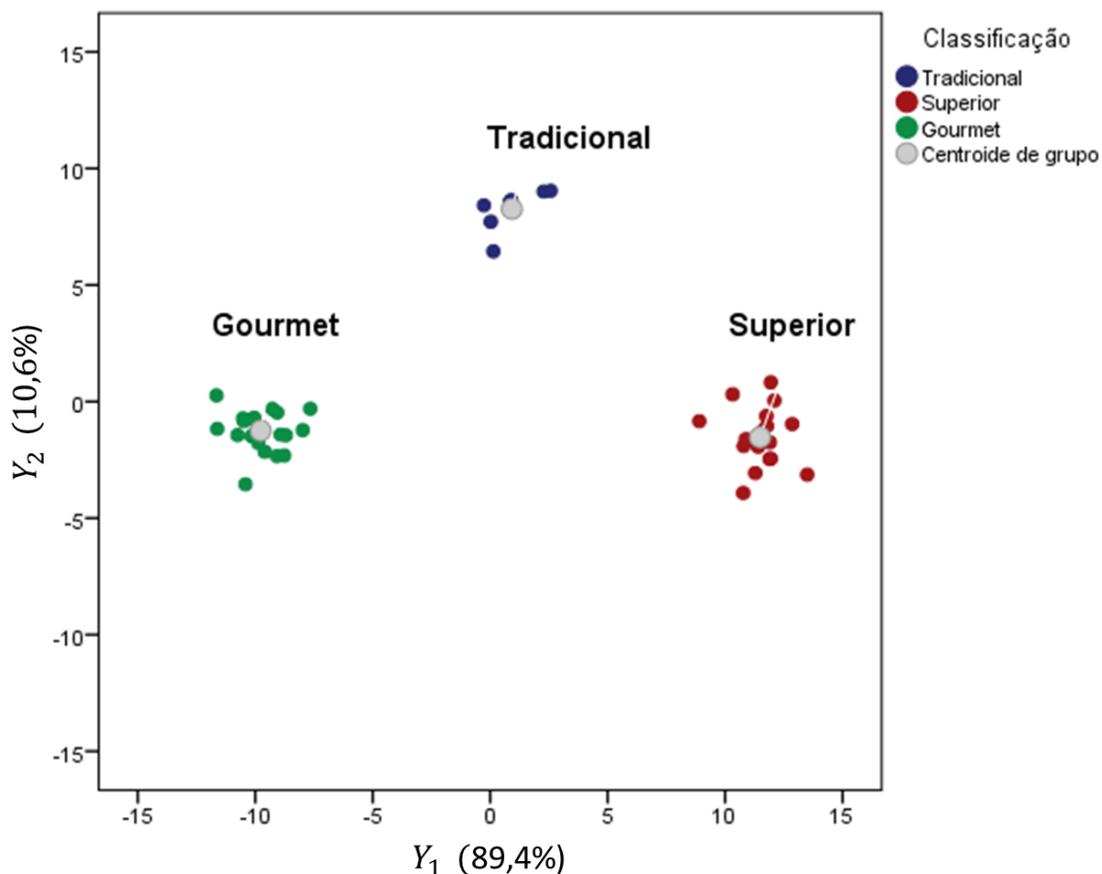


Figura 15- Análise discriminante do perfil aromático de cafés brasileiros com diferentes selos de qualidade.

Analisando o gráfico de análise discriminante (Figura 15) referente diferenciação através dos respectivos selos de qualidade, é possível notar uma clara diferenciação dos grupos de acordo com os perfis de qualidade, sem sobreposição na representação bidimensional. A função  $Y_1$  é praticamente suficiente para distinguir as amostras de acordo com seus selos de qualidade.

Dispersão dos pontos de dados dentro de um determinado grupo é um parâmetro chave para a avaliação da qualidade da discriminação alcançada através de DA. A este respeito, pode-se concluir que o modelo apresenta uma baixa dispersão intragrupo.

A Tabela 25 resume o desempenho dos modelos discriminantes em relação à classificação de amostras do banco de dados de dados. Consequentemente, uma classificação inteiramente correta foi alcançada sem validação cruzada (usando todas as amostras de café), o que pode ser atribuído à adequação dos compostos da base de dados a serem utilizados como fatores discriminantes.

*Tabela 25-Desempenho geral da classificação (contagem / %) do modelo DA, com e sem validação cruzada (VC), para o estudo de diferenciação através de selos de qualidade.*

	Tradicional		Superior		Gourmet	
	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC	Sem VC	Com VC
Tradicional	13 (100%)	9 (69,2%)	0 (0%)	1 (7,7%)	0 (0%)	3 (23,1%)
Superior	0 (0%)	5 (25%)	18 (100%)	8 (40,0%)	2 (0%)	7 (35,0%)
<i>Gourmet</i>	0 (0%)	6 (37,5%)	1 (0%)	2 (12,5%)	15 (100%)	8 (50%)

Analisando a Tabela 25 verifica-se que a aplicação de uma validação cruzada (VC) expôs algumas classificações incorretas envolvendo principalmente as amostras com selo Superior. Nessa classe, o sucesso das classificações foi reduzido para 40,0% após validação cruzada, exibindo que o modelo leva a maior dificuldade de classificar corretamente as amostras Superior, classificando-as na sua maioria, o que nos leva a concluir a sutil diferença aromática das amostras de cafés Superior e *Gourmet*.

Foi realizado também um agrupamento das áreas de picos dos compostos identificados através de HS-SPME-GC-MS das amostras de cafés analisadas (Tabela 19), tais compostos foram agrupados de acordo com suas classes químicas e uma diferenciação de acordo com a cafés de baixa qualidade e de alta qualidade pode ser observada (ver Figura 16).

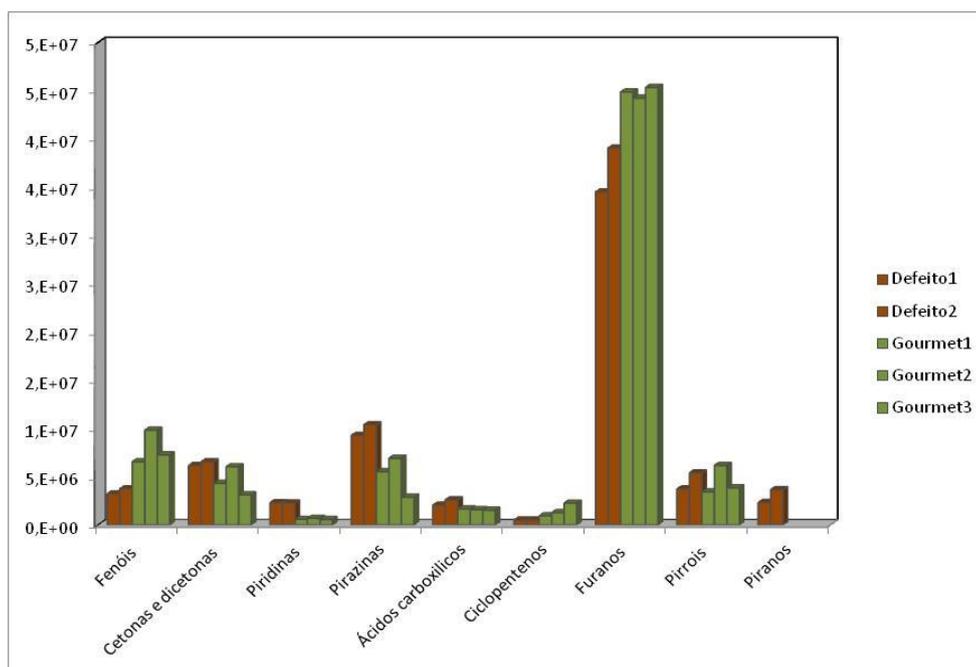


Figura 16 – Comparativo por agrupamento de classes químicas de cafés de baixa qualidade (com defeitos) e cafés de alta qualidade (Gourmet).

Através desse agrupamento por classes químicas (Figura 16) é possível verificar que cafés de alta qualidade (*Gourmet*) possuem maiores teores de fenóis, ciclopentenos, furanos, nomeadamente os compostos 2-metilfenol, 4-etil guaiacol, 4-vinifenol, 2,6-dietilpirazina, 2-metil-6-vinil-pirazina, 6,7-dihidro-5-metil-5H-ciclopentapirazina, 5-metil furfural, 2-etil-4-hidroxi-5-metil-3(2H)-furanona, furfuril acetato, furaneol, linalol, trans- $\beta$ -damascenona, tais compostos conferem aos cafés gourmets notas frutadas, notas de avelãs torradas, notas de cravo e notas florais (12). Enquanto cafés de baixa qualidade apresentaram uma quantidade maior de piridinas, pirazinas e piranos que em geral conferem notas negativas a bebida diminuindo assim sua qualidade aromática.

#### 6.4 Conclusões

Neste capítulo foram analisadas 24 amostras de cafés de diferentes origens dos principais produtores brasileiros e com diferentes selos de qualidade, para análise das amostras foi empregada a técnica de *Headspace*-SPME e os compostos identificados e quantificados através de cromatográfica gasosa acoplada a espectrometria de massas.

Nos resultados dos cromatogramas obtidos foi aplicado análise discriminante (DA), tendo em vista a identificação dos principais compostos para diferenciar as amostras de acordo com sua origem microrregião (Produtores Brasileiros) e de acordo com seus selos de qualidade.

Um modelo que inclui duas funções discriminantes baseado em 35 compostos foi construída para classificar amostras de café de acordo com sua proveniência: Minas Gerais, Bahia, São Paulo e Paraná. O modelo baseia-se em algumas moléculas que são conhecidas por possuir altos valores de atividade odorífera (OAV) e, portanto, possuem um grande impacto organoléptico sobre o café.

Um modelo de com uma função que explica aproximadamente 90% da variância com base em 44 compostos foi construído para diferenciar Selos de Qualidade específicos de cada amostra. É possível verificar que é necessário um maior número de compostos para a discriminação quando comparado com os modelos propostos nos capítulos anteriores, para um modelo de discriminação robusto de perfis de qualidade.

Todos os modelos propostos foram validados e *cross-validados* e sua capacidade de previsão foi demonstrada. Tendo em vista a aplicação bem-sucedida de DA nas amostras de cafés analisadas, este capítulo fornece argumentos convincentes para o desenvolvimento da ferramenta DA com o objetivo de avaliar a qualidade do café e suas origens de acordo com sua microrregião.

## 6.5 Referências

- 1 Illy, A.; Viani, R. **Espresso coffee: the science of quality**. 2005.
- ABIC (2017). Programa Setorial Integrado. *Exportação - Programa Setorial Integrado*.
- 3 Moura Ribeiro, M.V. de; Boralle, N.; et al. Authenticity of roasted coffee using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 57, p. 24–30, 2017.
- 4 Toledo, J. D., Barbosa, A.T. **Classificação e degustação de café**. Brasília: Sebrae, 1998.
- 5 Toledo, P.R.A.B. de; Melo, M.M.R.; et al. Discriminant analysis for unveiling the origin of roasted coffee samples: A tool for quality control of coffee related products. **Food Control**, v. 73, p. 164–174, 2017.
- 6 Oliveira, M.; Ramos, S.; et al. Espresso beverages of pure origin coffee: Mineral characterization, contribution for mineral intake and geographical discrimination. **Food chemistry**, 2015.
- 7 Risticvic, S.; Carasek, E.; et al. *Headspace* solid-phase microextraction–gas chromatographic–time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. **Analytica chimica acta**, 2008.
- 8 Costa Freitas, A.M.; Parreira, C.; et al. The Use of an Electronic Aroma-sensing Device to Assess Coffee Differentiation—Comparison with SPME Gas Chromatography–Mass Spectrometry Aroma Patterns. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 14, n. 5, p. 513–522, 2001.
- 9 Dirinck, M.; Leuven, I. Van; et al. Analytical flavour characterisation and classification of arabica and robusta coffees from different origins. **Proceedings of 19th ASIC**, 2001.
- 10 Vasconcelos, A.L.S.; Franca, A.S.; et al. A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 26–32, 2007.

- 11 Mendonça, J.C.F.; Franca, A.S.; et al. Physical characterization of non-defective and defective Arabica and Robusta coffees before and after roasting. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 4, p. 474–479, 2009.
- 12 Toledo, P.; Pezza, L.; et al. Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. **Reviews in Food Science and Food Safety**, 2016.
- 13 Franca, A.S.; Oliveira, L.S.; et al. A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n. 3, p. 345–352, 2009.
- 14 Holscher, W.; Steinhart, H. Aroma compounds in green coffee. **Developments in Food Science**, v. 37, p. 785–803, 1995.
- 15 E., C.; H., B.; et al. Characterisation of the aroma of green Mexican coffee and identification of mouldy/earthy defect. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 6, p. 648–657, 2001.
- 16 Maeztu, L.; Sanz, C.; et al. Characterization of espresso coffee aroma by static *Headspace* GC-MS and sensory flavor profile. **Journal of Agricultural ...**, v. 49, n. 11, p. 5437–5444, 2001.

## **Capítulo 7- Extração supercrítica de café cru, torrado e borra: tendências modernas de uma aplicação histórica e de referência.<sup>7</sup>**

---

<sup>7</sup> O presente capítulo escrito na forma de artigo científico que será submetido para publicação na revista The Journal of Supercritical Fluids. Fator de impacto: 2.84: Toledo, P. R.A.B., de Melo, M. M., Pezza, H. R., Toci, A. T., Pezza, L., & Silva, C. M. (2018) Supercritical CO2 extraction of raw, roasted and spent coffee: modern trends of an historical and reference application..

## 7.1. Introdução

O café é uma das matérias-primas comestíveis mais onipresentes consumidas em todo o mundo, desempenhando um papel econômico central em vários países onde é produzido e exportado. Existem mais de 100 espécies de café em todo o mundo, entre as quais dois se comercializaram mais extensivamente o *Coffea arabica* (café arábica) e o *Coffea canephora* (café robusta). Essas espécies possuem características físico-químicas distintas, produzindo bebidas com características sensoriais muito diferentes (1). Os diferentes processos na obtenção do café têm um grande impacto sobre a sua qualidade e, portanto, se revelam no preço final aplicado aos consumidores. Dando um ponto de referência para o que pode ser extraído do café verde, café torrado, bebida de café até borra (produto de descarte), percebe-se que o interesse científico é tão rico quanto a própria matéria-prima, sendo possível identificar frentes de pesquisa fortes como (i) os benefícios/riscos das bebidas de café subjacentes à saúde, por exemplo, doenças cardiovasculares e neurológicas e condições hepáticas (2), deterioração mental relacionada com a idade (3), câncer de mama, colo-retal, cólon, endométrio e próstata (4), (ii) caracterização química e quantificação de constituintes relacionados ao café (5), (iii) alternativas de uso de matrizes de café para o tratamento de águas residuais (6) ou na preparação de nanopartículas metálicas (7) .

Esse grande interesse deve sua pertinência, de alguma forma, a presença constante do café em atividades relacionadas a sociedade, não apenas em termos de frequência de seu consumo como bebida, mas também em vista do contexto agrícola e industrial que permite a sua ubiquidade. Quando esta última perspectiva é analisada, o café se torna candidato natural às tendências industriais recentes, com a valorização de subprodutos através da biorefinagem da biomassa (8-10), ou mesmo estabelecimento de uma economia circular (11). Entre as várias abordagens que podem materializar essas tendências, uma tendência forte são a produção de extratos com diferentes aplicações, como é descrito no documento que segue.

## 7.2. SFE em diferentes etapas do processamento de café

A aplicação comercial do café como bebida depende de um processo decisivo: a torrefação, que intermedia o caminho do café cru ao consumo da bebida. Além disso, a borra de café é deixada como um produto secundário do processo de produção de bebida, porém ainda contém inúmeras substâncias como resultado da remoção incompleta durante o preparo da

bebida. Assim, o recurso SFE pode ser sistematizado em três etapas diferentes de processamento do café: grãos cru, grãos torrados e na borra. O objetivo de cada aplicação é ilustrado na Figura 17.



Figura 17 – Aplicação da SFE em alguns estágios do processamento do café, seus objetivos e produtos-alvo.

### 7.2.1. Grãos de café cru

A aplicação da SFE aos grãos de café cru está ligado a um marco histórico no uso industrial de CO<sub>2</sub> supercrítico ocorrido nos anos 70/80 (12,13). Nesta década deu-se início ao processo industrial de descafeinação dos grãos de café cru com SC-CO<sub>2</sub> (14-17). A motivação deste processo está ligada aos efeitos indesejáveis provocados pela cafeína para alguns consumidores de café e ao fato de que, com este processo, consegue-se uma extração quase seletiva da cafeína, sem que haja modificações significativas na percepção global da bebida final. No entanto, a tecnologia SFE também pode ser utilizada com objetivos diferentes, como a produção do óleo de café verde, que tem ganhado destaque no mercado de cosméticos (18,19).

Além do óleo predominantemente composto por triacilgliceróis, há também ácidos graxos livres, diterpenos (20) e ácidos clorogênicos (21).

### **7.2.2. Grãos de café torrado**

A torrefação é um passo decisivo para a qualidade final da bebida, pois ela modifica de maneira abrangente a composição química das amostras. Isto acontece através de uma série de reações ligadas e correlacionadas com tempo e temperatura que, no final, levam a uma grande variedade de novos compostos formados e/ou degradados. A principal aplicação da extração em SFE baseia-se no *clean up* dos grãos e na possibilidade de ajustar o poder solvente e propriedades de SC-CO<sub>2</sub> afim de maximizar a extração de compostos nocivos (por exemplo, acrilamida (22)), minimizando as perdas de compostos de interesse (por exemplo, cafeína e voláteis organolépticos). Além disso, é possível melhorar sua qualidade sensorial e aromática por meio de combinação de SC-CO<sub>2</sub> com materiais adsorventes (9,23).

### **7.2.4. Borra de Café**

Em consequência do grande consumo de café torrado, quantidades muito elevadas de resíduos são geradas, estimando-se que para cada tonelada de café produzido em uma indústria de café solúvel, até 4,5 toneladas de borras de café são gerados (24,25). A casca de café é o principal resíduo do processamento de café e normalmente é utilizada na alimentação de ruminantes. No entanto, é considerado anti-nutricional devido à presença de substâncias tóxicas para esses animais, como cafeína (1,2%), taninos (6,3%) e polifenóis (26). De fato, essa abordagem deixa uma margem para valorização da biomassa (borra de café) como matéria-prima, fertilizantes ou até sua disposição segura em aterros sanitários.

Apesar de abranger os três estágios acima mencionados de processamento de café (verde, torrado e borra), a pesquisa sobre SFE exhibe nuances que merecem destaque. Em primeiro lugar, a compilação dos trabalhos da SFE para este capítulo deu origem à seguinte distribuição de artigos por matéria-prima: 28% dedicados ao café cru, 38% ao café torrado e 34% a borra de café. Em segundo lugar, é possível identificar uma tendência cronológica para as publicações sobre cada matéria-prima. A este respeito, a Figura 18 fornece estatísticas relativas ao ano médio de publicação dos artigos da Tabela 26, de acordo com a matéria-prima utilizada e também aos produtos alvo do estudo.

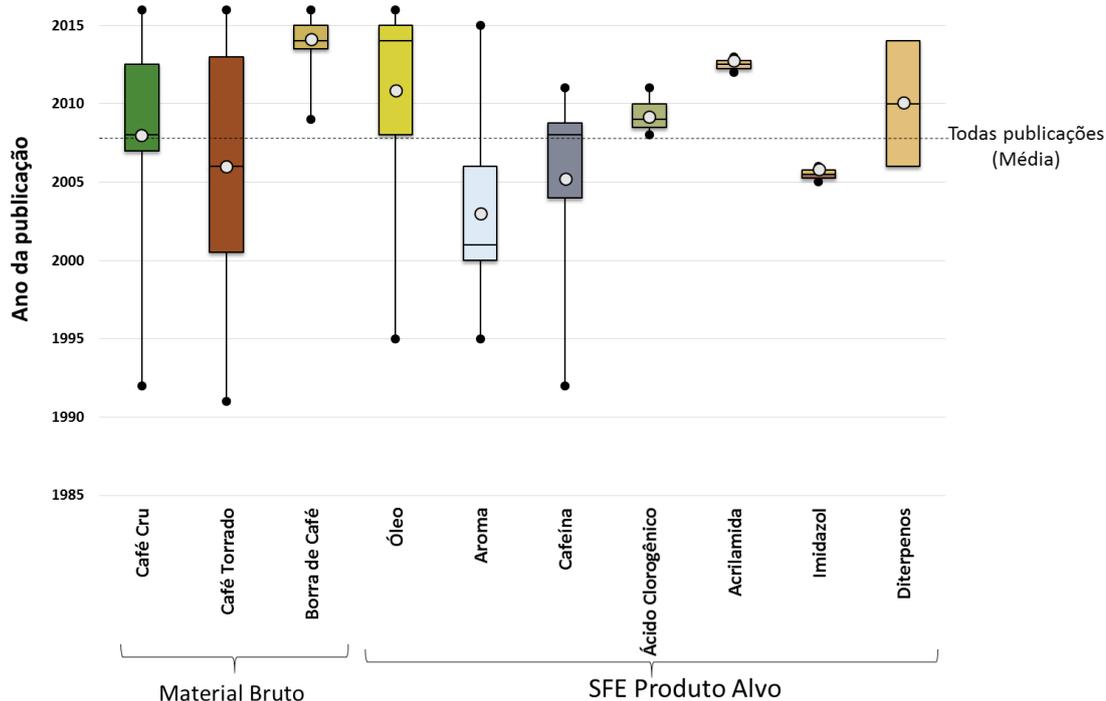


Figura 18- Ano de publicação médio dos artigos compilados, classificados por matéria-prima e pelo produto alvo.

Em termos de matérias-primas, é notável que o ano médio de publicação dos artigos dedicados ao tema borra de café é o ano de 2014, o que contrasta fortemente com o valor de 2004 para o café torrado e ainda mais com o valor de 2002 para o café verde. Essas médias, em particular a da borra de café, sinalizam claramente o interesse recente por este produto residual, que pode ser contextualizado na tendência genérica de biorrefinagem e valorização de resíduos industriais. Por sua vez, a proximidade do ano de publicação médio de estudos de café verde SFE demonstram o interesse inicial que o tema aumentou para a indústria do café, nomeadamente através da aplicação de descafeinação.

No quadrante direito da Figura 18 fica particularmente evidente em dois produtos alvo de SFE ficam longe do ano médio de publicação: cafeína e aroma. Na verdade, a média desses dois produtos alvo não ultrapassa o ano de 2002, que é o ano médio de publicação do café verde (o menor dos três tipos de café considerado). Quando o aroma está em foco, parece que depois de tentativas anteriores de se estudar e avaliar o potencial da SFE para a absorção de aromas, o tema não tem despertado o interesse significativo nos últimos anos, pelo menos, usando a tecnologia SC-CO<sub>2</sub>. A remoção de óleo tem sido um tópico onipresente que não pode ser

correlacionado com um determinado período, mas que pode estar correlacionado de alguma forma com as publicações envolvendo borra de café. Esta ideia faz particularmente sentido à luz do fato de que o potencial de recuperação de óleo em borra de café pode justificar sua valorização. A mesma ideia aplica-se aos estudos de SFE centrados na extração de ácido clorogênico, acrilamida, imidazol e diterpenos, embora estes também possam ser associados a estudos onde a matéria-prima é café torrado.

*Tabela 26-Publicações abrangendo SFE em café (café verde, torrado e borra de café) entre o período de 1974 a 2016 e suas respectivas características.*

Matriz de café	Alvo	Solvente/ Co-solvente	T(°C)	P (bar)	Rendimento da extração (%)	Outras características	Referência
Verde	Diterpenos e óleo	CO <sub>2</sub>	70	253	Cafestol e Kahweol 453,3 mg/100 g	Extração de diterpenos	(20)
		CO <sub>2</sub>	60	352	70% (relativo)		
	Óleo	CO <sub>2</sub> /etanol (5%)	60	352	99% (relativo)	Extração de óleo	
		CO <sub>2</sub> álcool/ isopropílico	60	352	93% (relativo)		
		CO <sub>2</sub>	50	352	1,70%		
Verde	Cafeína	CO <sub>2</sub> / etanol (5%)	60	352	17%	Extração de cafeína	(21)
		CO <sub>2</sub> álcool isopropílico (5%)	60	352	2%		
		CO <sub>2</sub>	50	352	Apenas traços		
	Ácido clorogênico	CO <sub>2</sub> / etanol (5%)	60	352		Extração clorogênica	
		CO <sub>2</sub> álcool/ isopropílico (5%)	50	248	0,9 mg ácido clorogênico/1000g		
Verde	Cafeína	CO <sub>2</sub> /água (saturados)	40	250	100% (relativo Sohxlet)	Processo de extração Simultânea	(15)
Verde	Ácido clorogênico	CO <sub>2</sub> /água (saturado)	40	250	-		
Verde	Cafeína	CO <sub>2</sub> /água (saturado)	50	138		Extração de cafeína	(16)

Continua...

Matriz de café	Alvo	Solvente/ Co-solvente	T(°C)	P (bar)	Rendimento da extração (%)	Outras características	Referência
Verde (óleo)	Cafeína	CO <sub>2</sub>	50	152	92%	Extração de lipídios	(27)
Verde	Óleo	CO <sub>2</sub>	55	250	-	Desenvolvimento de nova geração de protetores solares	(18)
Verde	Diterpenos	CO <sub>2</sub>	70	200	Kahweol de 63,8 g/kg de óleo de café verde	Enriquecimento de diterpenos em óleo de café verde	(22)
Torrado	Acrilamida	CO <sub>2</sub> / etanol (9,5%)	100	200	22,70%	Extração de Acrilamidas	(22)
Torrado	4-MeI e THI	CO <sub>2</sub> / metanol (10%)	150	400	98,9% para 4-MeI E 86,9% para THI	Extração de compostos neurotóxicos e imunossupressores	(28)
Torrado	Aroma (óleo de café)	CO <sub>2</sub>	35	120	-	Delicado equilíbrio na composição de voláteis no óleo de café	(9)
Torrado	Óleo (aroma)	CO <sub>2</sub>	90	250	6%	Caracterização do aroma de óleo de café	(29)
Torrado	Diterpenos e óleo	CO <sub>2</sub>	70	351	Cafestol e Kahweol 71,2%	Extração de diterpenos	(20)
Torrado	Óleo (aroma)	CO <sub>2</sub>	75	280	-	Obtenção de produto aromático único	(30)
Torrado	Cafeína	CO <sub>2</sub> / metanol	40	196	0,49g de cafeína / 2g de café torrado	Extração de cafeína	(31)
Torrado	Aroma	CO <sub>2</sub> / etanol (1%)	60	200	-	Extrato mais representativo do aroma	(10)
Torrado	Óleo	CO <sub>2</sub>	40	260	79,78% de encapsulamento	Condições que afetam a eficiência do encapsulamento do óleo de café	(32)
Torrado	Óleo	CO <sub>2</sub>	36	331	8,9%,	Análise do aroma de óleo de café	(33)
Torrado	Óleo	CO <sub>2</sub>	36	331	8,89%	Extração de óleo de café	(34)
Borra de café	Ácido graxo	CO <sub>2</sub> /etanol (10%)	50	200	13 -15%	Atenuar Melanogênese	(35)

Continua...

Matriz de café	Alvo	Solvente/ Co-solvente	T(°C)	P (bar)	Rendimento da extração (%)	Outras características	Referência
Borra de café	Óleo	CO <sub>2</sub>	50	250	12,10%	Nova geração de protetores solares	(18)
Borra de café	Óleo	CO <sub>2</sub>	40	250	9,10%	Desenvolvimento de nova geração de protetores solares	(36)
Borra de café	Óleo	CO <sub>2</sub>	50	190	73%	Caracterização do petróleo e análise	(37)
Borra de café	Óleo	CO <sub>2</sub> / etanol (5%)	55	190	11,97% (g de óleo / 100 g SCG)	Extração de óleo	(38)
	Diterpenos	CO <sub>2</sub>	40	140	39% e 79% (relativo a N-hexano)	Extração de diterpenos	
Borra de café	Óleo	CO <sub>2</sub> / etanol (6,5%)	50	200	12,90%	Extração de óleo	(39)
Borra de café	Óleo	CO <sub>2</sub>	50	250	90% de 14% (em relação à extração de	Extração de óleo	(40)
Borra de café	Óleo (ácido linoleico e palmítico)	CO <sub>2</sub> /etanol	40	250	Rendimento de 15,60% relativo a extração hexano; 15,40% com etanol	Extração de lipídios	(41)
Borra de café	Lipídios	CO <sub>2</sub>	33	284	11,41%	Extração de lipídios	(42)
Borra de café	Óleo	CO <sub>2</sub>	50	100	15%	Atividade antioxidante	(25)
Borra de café	Triglicerídeos	CO <sub>2</sub> / etanol (5%)	60	500	85% (relativo Soxhlet)	Extração de Triglicerídeos	(43)
Outras obras (SFE em diferentes matrizes da área de café)							
Casca	Óleo	CO <sub>2</sub>	50	100	3,00%	Atividade antioxidante)	(25)
Casca	Cafeína	CO <sub>2</sub>	100	300	84%	Extração cafeína	(44)
Polpa de café	Ácido clorogênico	CO <sub>2</sub> / t-butanol	55	150	Conversões de 85% ácido clorogênico Substrato 65% para um extrato de pasta de café metanólico	Otimizar a esterificação catalisada por lipase de 5-CGA com 1-heptanol	(45)
Instantâneo	Cafeína	CO <sub>2</sub> / metanol (10%)	60	245	83% de cafeína	Extração de cafeína	(46)
Bebida	Aroma	CO <sub>2</sub>	60	130		Extração de óleo aromático	(8)

Continua...

Matriz de café	Alvo	Solvente/ Co-solvente	T(°C)	P (bar)	Rendimento da extração (%)	Outras características	Referência
Verde	Óleo	CO <sub>2</sub>	60	CO <sub>2</sub> densidade de 880 kg.m <sup>-3</sup>	Solubilidade em CO <sub>2</sub> 0,59 kg.m <sup>-3</sup>	Solubilidade de óleo	(47)
Verde	Diterpenos	CO <sub>2</sub>	40-80	300-350	7,58% e 7,60% Solubilidade 12,4-26 g óleo / kg de CO <sub>2</sub>	Solubilidade de diterpenos	(48)
Extrato de café torrado	Cafeína	CO <sub>2</sub>	40	300	Cerca de 97% de descafeinado	Extração de cafeína	(49)

### 7.3. Compostos extratáveis de café por SFE

Entre as várias famílias químicas presentes no café, nem todas elas podem ser encontradas em extratos supercríticos. Este fato pode dar origem a duas categorias distintas: 1) componentes insolúveis e 2) componentes solúveis.

#### 7.3.1. Componentes insolúveis

O grupo de componentes que estão presentes no café, mas não podem ser considerados produtos extratáveis englobam hidrocarbonetos insolúveis, tais como aqueles que compõem celulose e a hemicelulose da matriz sólida. Isso também se aplica à lignina, um macro polímero insolúvel rico em grupos fenólicos. A consequência prática dessa insolubilidade é que a infraestrutura de célula básica (lignocelulósico) das borras de café são preservadas após a SFE (10).

#### 7.3.2. Componentes solúveis

Um grupo importante de produtos extratáveis que não pode ser recuperado usando SC-CO<sub>2</sub> puro, estes abrangem aminoácidos, proteínas, minerais, carboidratos solúveis (por exemplo, glicosídeos) e fosfolípidios (das membranas celulares) (50). A sua absorção, como descrito abaixo, só pode ser conseguida se o SC-CO<sub>2</sub> puro é significativamente modificado por meio de solventes orgânicos ou quelantes, ou se os extrativos são objeto de alguma derivatização de pré-tratamento químico.

Quando os aminoácidos e proteínas estão em causa, a sua solubilidade em SC-CO<sub>2</sub> puro é conhecida por ser bastante baixa (51), razão pela qual sua presença nos extratos obtidos

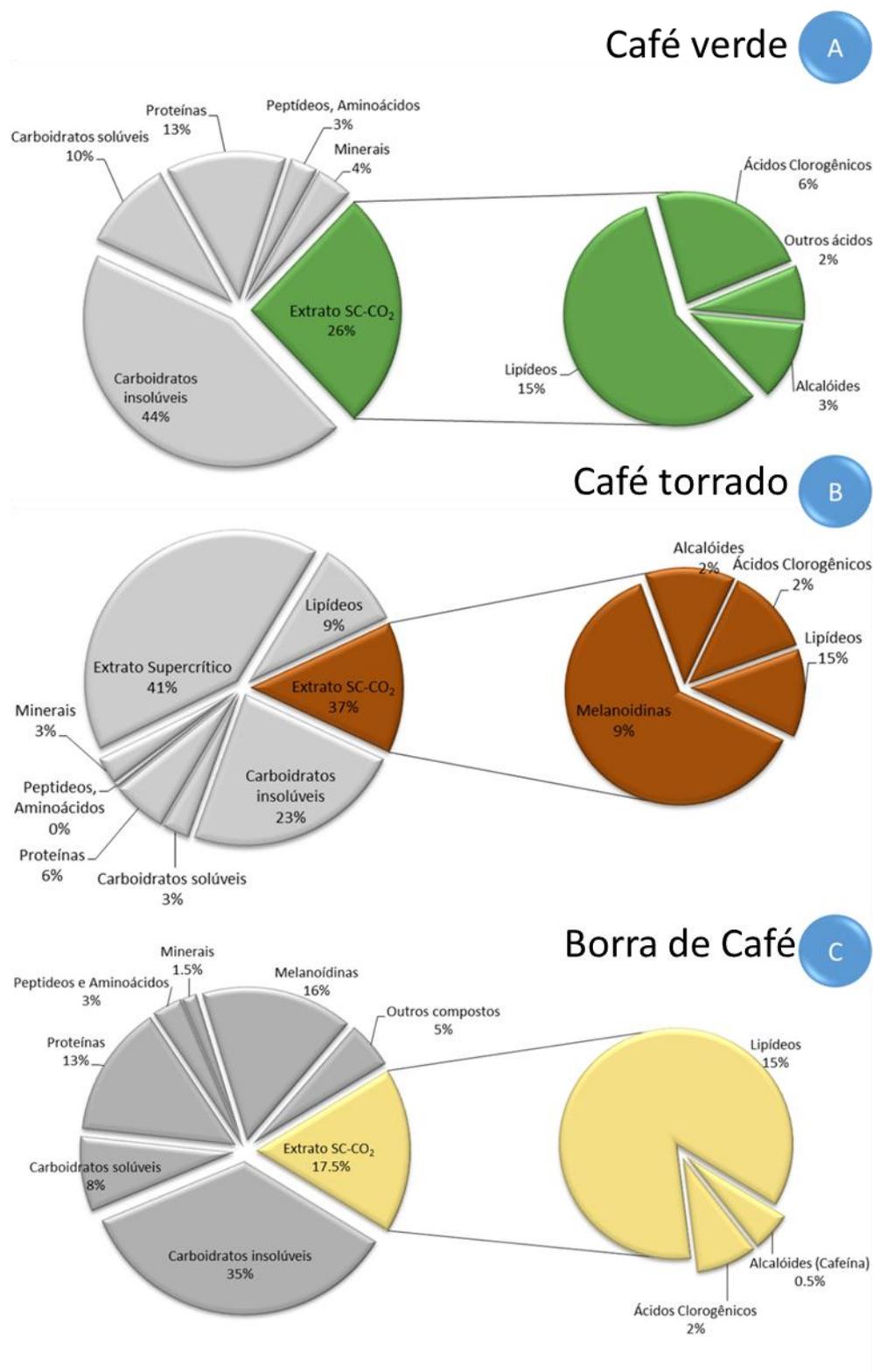
utilizando SC-CO<sub>2</sub> puro a partir de biomassa é negligenciável. Para contornar este fato, diferentes estratégias têm sido propostas na literatura, ou seja, o uso de elevadas frações de co-solventes, tais como água (7,5% v/v), ou MeOH-H<sub>2</sub>O-acetonitrila (10:10:1 v/v/v) (52), ou através do bloqueio dos grupos químicos polares em aminoácidos, utilizando *N*-benziloxycarbonil (51),

Com referência aos minerais, sabe-se que o potássio, fósforo, magnésio, cálcio, alumínio, ferro, manganês, cobre e zinco estão presentes, mesmo nas amostras de borra de café (24). Por conseguinte, a sua absorção em extratos seria teoricamente possível se o dióxido de carbono supercrítico fosse capaz de solvatar essas espécies carregadas, porém isso não ocorre, e por esta razão, só pode ser conseguida uma abordagem seletiva e eficiente para a absorção de minerais por SC-CO<sub>2</sub> mediante a utilização de agentes como ditiocarbamato-dicetona, quelantes, ou éteres, compostos que podem criar complexos estáveis (e extratáveis) de menor polaridade (53,54).

No que se refere aos hidrocarbonetos solúveis, uma série de glicosídeos de diterpenos são relatados no café verde e torrado (55). Estes mostraram-se posteriormente como carboxiatractilglicosídeos (56). Além disso, os grãos da espécie arábica demonstraram conter teores significativamente maiores de glicosídeos do que os grãos da espécie robusta (57). Enquanto o etanol ou a água são opções convencionais para obter glicosídeos em extratos (58), as tentativas de uso de SFE foram relatadas na literatura para outras matrizes vegetais (59,60), no entanto, nesses casos, demonstrou-se que mais do que pressão, temperatura, tempo de extração ou taxa de fluxo, o uso e as quantidades de co-solvente polares (por exemplo, EtOH ou MeOH) desempenha o papel decisivo no rendimento de extratos supercríticos. Assim, a sua absorção por SC-CO<sub>2</sub> puro não é eficiente nem representativa.

Não obstante as nuances anteriormente mencionadas a respeito do que deve ser entendido como extrativos nos contextos de SFE com SC-CO<sub>2</sub> puro ou modificado, a afinidade e a compatibilidade com o meio supercrítico não são os únicos fatores que influenciam a suscetibilidade as diferentes famílias que podem ser removidas a partir de diferentes matrizes de café. De fato, a fase de processamento do café no qual é aplicado SFE determina por si só o potencial da para a extração. A este respeito, a Figura 19 descreve composições globais que podem ser esperadas em café verde (Figura 19A), café torrado (Figura 19B) e borra de café (Figura 19C). Visando uma ênfase sobre a parte de informação mais pertinente para o SFE, as frações de composição mais representativas para a remoção com SC-CO<sub>2</sub> foram agrupadas em cada gráfico da Figura 19. Por conseguinte, os dados em questão revelam as etapas de

processamento do café, desde o café verde à café borra, o rendimento potencial de extrativos de SFE encolhe de 26% em massa para 18% em massa, ou seja, uma contração de 30% no material extraível pode ser esperada.



*Figura 19- Gráfico % (m/m) de composição média de extratos obtidos via SFE para o café verde (A), café torrado (B) e borra de café (C) (média referente a cafés da espécie arábica) (5,61).*

Olhando em detalhes para grupos químicos relatados na Figura 19, as seguintes famílias podem ser mencionadas: lipídios (incluindo óleos/triacilglicerídeos e ácidos graxos livres), ácidos clorogênicos, alcaloides, diterpenos e outros compostos menores. De fato, os dados da Figura 19 revelam que o teor de lipídios é conservado entre estágios de processamento, permanecendo constante a 15% em massa. Por sua vez, os ácidos clorogênicos exibem uma redução considerável de 6% em massa a 2% em massa antes e depois do estágio de torrefação, respectivamente. O caso dos alcaloides (família que inclui a cafeína) é diferente, já que a queda é observada antes e depois do estágio de produção da bebida de café, ou seja, entre o café torrado e borra, onde o teor de alcaloides diminui de 3-4 para 0,5% em massa.

Finalmente, vale a pena notar que nem todos os compostos alvo e as famílias encontradas em extratos de café estão presentes na Figura 19 devido às pequenas abundâncias que representam para as matérias-primas globais.

### 7.3.3. Lipídeos

Como categoria, os lipídios incorporam uma vasta gama de compostos, o conteúdo de lipídios relatado na Figura 19 é composto dos seguintes subgrupos: triglicerídeos, ésteres de terpenos, acilgliceróis, ácidos graxos livres, esteróis livres, ésteres de esteróis, lipídios polares (62) e também ceras (63). Embora a abundância precisa destas em matrizes de café seja difícil de sistematizar, é relatado que em grãos de café verdes, os principais componentes lipídicos são triglicerídeos (75%), ésteres de terpeno (14%) e acilgliceróis (5%). As ceras na faixa de 0.2-0.3% (63). No que se refere ao subgrupo de ácidos graxos, os componentes mais representativos são ácidos linoléicos (43,1%), palmítico (31,1%), oleico (9,6%), esteárico (9,6%) e linolênico (1,8%), que conferem diferentes características ao óleo. A este respeito, o ácido palmítico é representado na parte superior da Figura 20 como representativo da classe de lipídios, com propriedades químicas e biológicas chave. Esses ácidos são conhecidos por conferir atividade antioxidante aos extratos (16,43,56,27,56,59) e no contexto da indústria de óleos comestíveis, a sua presença na forma livre pode ser tomada como um indicador da qualidade do óleo (64). Além disso, com uma área polar de apenas 37,3 A<sup>2</sup> e uma solubilidade em água de apenas 0,04 mg/L, o ácido palmítico demonstra ser um dos extrativos menos polares, sendo assim para SFE um alvo importante a partir de matrizes de café.

Enquanto vários trabalhos visam especificamente a extração de óleo de matrizes de café, a categoria mais ampla de lipídios não pode ser dissociada em termos de extrativos ao realizar SFE devido à proximidade química dos compostos dessa classe sob uma perspectiva química. Assim, o óleo é muitas vezes uma mistura de triglicerídeos, com lipídios que ocorrem de forma

menor e, como mostrado na Figura 19, os rendimentos máximos também dependem do estágio de processamento.

Apesar da afinidade evidente de triglicerídeos com o SC-CO<sub>2</sub>, em geral, nuances de seletividade podem ser conseguidas nos óleos produzidos por SFE desde triglicerídeos e ácido palmítico que tendem a ter absorções favorecidas em comparação ao ácido oleico, por exemplo.

As extrações via Soxhlet com solventes orgânicos, quando são utilizados longos tempos, escondem uma seletividade momentânea. A este respeito, pode-se citar o trabalho de Manna et al. (43) que investigou o SFE de óleo da borra de café moído. Estes autores relatam variações de triglicerídeos de composição ao longo do tempo de extração, mas as composições finais semelhantes aos obtidos por extração de Soxhlet com *n-hexano*.

Ao considerar os subsequentes extratos de lipídeos após a extração com SFE de matrizes de café, um aspecto que deve ser levado em consideração é a vulnerabilidade que os triglicerídeos criam em relação ao fenômeno indesejável de oxidação lipídica (67). O último afeta tanto a estabilidade durante o armazenamento e as propriedades sensoriais, o que leva a um grande impacto na qualidade do produto (68). Uma possível solução para este problema depende da microencapsulação do óleo de café, uma técnica que é compatível com o processamento do SFE. Assim, Getachew e Chun (32) realizaram um trabalho sobre este tema, onde realizaram uma otimização experimental (projeto Box Behnken) do SFE em conjunto a microencapsulação. Estes autores extraíram o óleo de café torrado utilizando SC-CO<sub>2</sub> e o óleo produzido foi encapsulado utilizando partículas de polietilenoglicol dissolvidas na fase fluida. Os parâmetros estudados foram a temperatura de extração (40-50 °C), pressão (200-300) e a relação polímero/óleo (5: 1 a 10: 1). Sob as condições ideais (40 °C, 260 bar e relação de polímero/óleo de 6,5:1 m/m), não só a oxidação lipídica foi mitigada, mas também a conservação do *flavor* foi assegurada no produto.

#### **7.3.4. Cafeína**

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é um alcaloide encontrado no café, sendo responsável por cerca de 0,9-2,5% de sua composição, o teor de cafeína dos grãos de café cru varia de acordo com as espécies: *Canephora* (robusta) café contém cerca de 2,2 % (m/m), arábica cerca de 1,20 % (m/m) e o híbrido 'arabusta' 1,72 % (m/m) (12,69). Por este motivo de acordo com a preparação escolhida, uma xícara típica de café normal pode conter de 70 a 140 mg de cafeína (70). Do ponto de vista biológico, a cafeína acumula várias características, sendo um estimulante, um agente contra feridas da pele e também para o tratamento da alopecia androgenética. No entanto, a cafeína também leva a efeitos negativos, como insônia e o vício

suave, promovendo o desenvolvimento de uma indústria de café descafeinado que detêm cerca de 10 a 15% do consumo mundial (71).

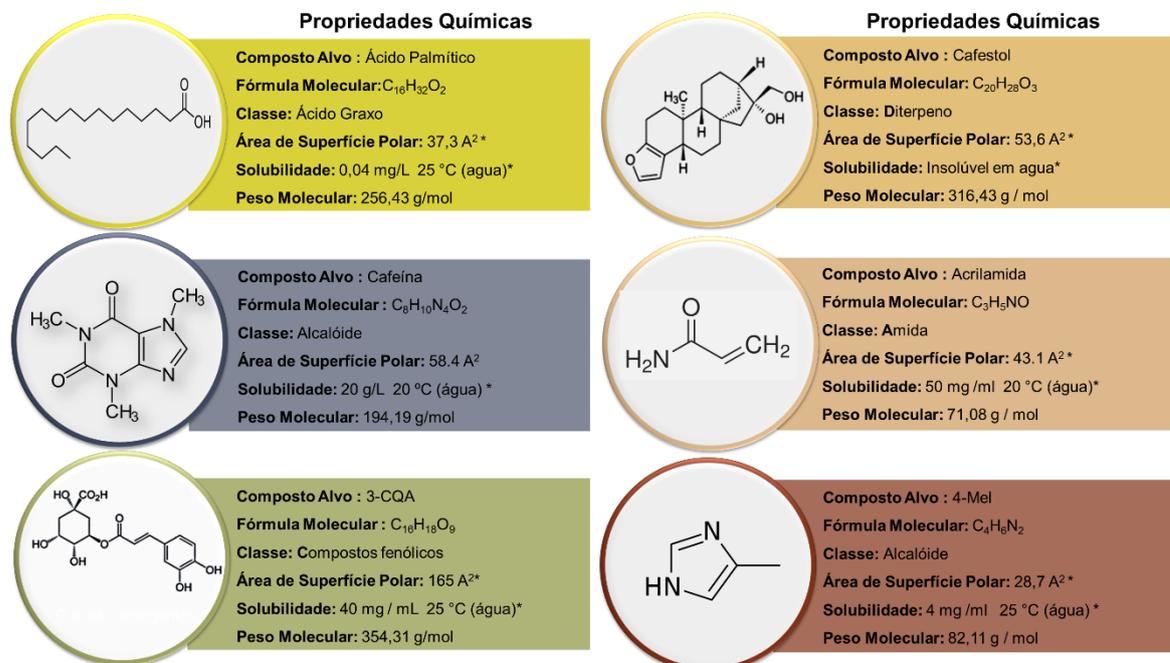


Figura 20-Principais moléculas alvo extraídas por SFE

Conforme apresentado na Figura 20, a cafeína exibe uma solubilidade em água que é cerca de 500 vezes maior do que o ácido palmítico (representativo da família de lipídios), por esse motivo a presença de umidade ou fases da água na remoção de cafeína foi explorada em pesquisas com SFE. Como exemplo disso, pode-se referir um trabalho usando óxido nitroso supercrítico saturado com água, nas condições de 200 bar e 100 ° C para a descafeinação de café verde, onde foi possível a obtenção de 1,0 % (m/m) de cafeína (72).

Os fatores ambientais, agrícolas, o grau de torrefação parece ter um efeito mínimo sobre o teor de cafeína nas amostras de café (12). Devido à sua independência do processamento pós-colheita, a extração de cafeína pode ser considerada aplicável a todas as fases de processamento consideradas, nomeadamente estágios de café verde, torrado ou borra de café. No entanto, a descafeinação de café verde se destaca como uma aplicação marco da SFE, marcando uma posição forte sobre este tema. Quando utilizada industrialmente para este fim, os processos de extração para descafeinação podem exibir particularidades em comparação com as unidades típicas de SFE utilizadas na pesquisa. Na descafeinação são aplicados fluxos elevados de SC-CO<sub>2</sub> em contracorrente com água (25-50% em massa) em grãos de café verdes, as temperaturas

variam de 80-140 ° C e pressões de cerca de 250 bar. Dependendo do objetivo de remoção de cafeína outras condições de operação podem ser variadas, tais como: taxas de fluxo, o ciclo de tempo de extração, que pode ser baixo (10 minutos) ou elevado (120 minutos) (17). Estes métodos afirmam dar origem a extratos com pureza de cafeína de 88% devido a uma seletividade excepcional para este composto. Da mesma forma, Azevedo et al (21) relataram uma remoção seletiva de cafeína em condições mais suaves 152 bar e 50 °C, com rendimento de extração de até 92% da quantidade total deste composto a partir da matriz vegetal, enquanto o co-extração de lipídeos permaneceu abaixo de 6%.

Em uma abordagem diferente, Dean et al (46) concentraram-se na remoção de cafeína em cafés instantâneos, para o qual 10%(v/v) de etanol foram empregados como co-solvente. Em condições de funcionamento de 245 bar e 60 ° C e uma taxa de fluxo de 2 ml de CO<sub>2</sub>/min, estes autores mostraram ser possível extrair 83% da cafeína existente após 1 h de extração, 89% após 2 h e 94% após 3 h, um estudo semelhante foi realizado por Elisabeth et al. (31) para o grão de café torrado.

Trabalhando com cascas de café e SFE, Tello e Calvo (2011) (44) avaliaram diferentes pré-tratamentos sobre a umidade inicial e tamanho de partícula, bem como várias condições operacionais: pressão de extração, temperatura, tempo e vazão, visando a extração da cafeína. Seus resultados reforçaram a importância da umidade durante a etapa de extração, mas mostraram que a moagem não era significativa para aumentar os rendimentos de extração. Como resultado, os melhores resultados da extração foram obtidos a 300 bar e 100°C, utilizando-se 197 kg de CO<sub>2</sub>/ kg de casca. Nestas condições, o rendimento de extração de cafeína foi de 84% e o extrato final apresentou uma pureza de cafeína de 94% em massa.

### **7.3.5. Compostos fenólicos (Ácidos Clorogênicos)**

Amostras de café são conhecidas por serem uma fonte de compostos fenólicos, a partir do qual os ácidos clorogênicos (CGA), ou seja, ácido cafeoilquínico (CQA) e os seus isômeros 3 (3-, 4- e 5-CQA), têm sido relatados como componentes principais desta classe (31-42%). Outros compostos fenólicos, tais como taninos, ligninas e antocianinas são encontrados em menores teores em grãos de café (73).

Da mesma forma que a cafeína, a abundância de CGA está altamente ligada às espécies de café sendo que amostras de café arábica possuem níveis mais baixos desses compostos em comparação com a espécie robusta (5). No entanto, esses compostos são sensíveis ao processamento do café, diminuindo sua abundância relativa após o estágio de torra. Além disso, o CGA contribui para notas fenólicas adstringentes, o que torna sua abundância reduzida em

amostras de café arábica (5). Por outro lado, o CGA e outros fenólicos do café podem ser considerados valiosos por sua atividade antioxidante, hepatoprotética, hipoglicêmicas e antivirais (92) e também por seu potencial de fotoproteção devido à sua capacidade de absorção UV, anti-inflamatórios e imunomodulador (74).

Do ponto de vista químico, CGA são compostos com massa molar relativamente elevada (354,31 g/mol, no caso do ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA) em comparação com a cafeína (194,19 g / mol) e ainda a um ácido graxo como o ácido palmítico (256,43 g/mol). Além disso, a solubilidade do CGA em água é o dobro da cafeína. Isso de se deve provavelmente a grande área polar do CGA, totalizando 165 Å<sup>2</sup> que em conjunto com outras características químicas, sugerem claramente uma dificuldade para extrações com SC-CO<sub>2</sub>. Portanto, na literatura estudos empregando SFE para extração de CGA é conseguido através da utilização de co-solventes tais como etanol ou álcool isopropílico (75). No entanto, tal decisão afeta também a afinidade do meio supercrítico para outros produtos extratáveis polares, resultando numa dissolução competitiva que pode não ser indiscutivelmente favorável para a absorção do CGA (75). Uma alternativa para explicar o baixo rendimento na extração de CGA usando SC-CO<sub>2</sub> apontam para a incapacidade do meio solvente para quebrar o complexo de cafeína- ácido clorogênico com baixa concentração de co-solvente (por exemplo, Etanol 5% m/m) (75).

### 7.3.6. Diterpenos

A classe conhecida como diterpenos representa, em matrizes de café, um grupo de compostos representados por cafestol, kahweol e 16-*O*-metilcafestol. Uma característica especial dos dois últimos é que eles podem ser utilizados como marcadores para distinguir amostras de café arábica e robusta, no sentido de que o kahweol exibe uma abundância muito maior em amostras de café arábica e que 16-*O*-metilcafestol em cafés da espécie robusta (76). O mérito destes compostos também é perceptível a nível biológico, dentre eles o cafestol e o kahweol demonstram aumentar os níveis de colesterol no sangue (77,78), porém possuem efeitos positivos como propriedades anti-carcinogênicas (79).

Após o estudo das propriedades químicas do cafestol, fornecidos na Figura 20, torna-se claro que estes são compostos de baixa polaridade: área de superfície polar = 53,6 Å<sup>2</sup> e insolúveis em água. Na verdade, a área da superfície polar é próxima da cafeína, mas o cafestol tem uma massa molar que é 1,6 maior. Como resultado, o SFE com dióxido de carbono como solvente é uma opção adequada para remover estes compostos a partir de matrizes de café.

Por exemplo, Oliveira et al. (80) estudaram a remoção de diterpenos de café verde e concluíram que, dentro da gama de condições de funcionamento estudadas, as concentrações

de diterpenos ótimas obtidas foram 200 bar e 70°C, em que o conteúdo de cafestol atingiu 50,2g/kg e kahweol 63,8 g/kg. Para uma avaliação contextualizada destes resultados, o óleo obtido por prensagem convencional dos mesmos grãos apresentou conteúdo muito mais baixos para o cafestol e o kahweol, 8,6 g/kg e 12,8 g/kg, respectivamente.

Melhorias significativas também foram relatadas por Araújo et. al. (20) e Barbosa et al. (38) para café torrado e borra de café, no entanto, ambos os autores afirmam claramente que, em contraste com a extração com solventes orgânicos, a seletividade de SFE para a absorção de diterpenos é ligada aos rendimentos totais que são atingidos. (20).

### 7.3.7. Acrilamida

Nem todos os compostos alvo propensos a serem obtidos a partir de matrizes de café devem sua remoção por oportunidades subjacentes para agregar valor aos extratos e óleos que se seguem. Esse é o caso da acrilamida, um composto de amina que é nocivo e, portanto, não é desejado tanto em matrizes de café torrado quanto nas bebidas, óleos ou extratos resultantes.

A ocorrência de acrilamida no café surge como uma contrapartida do processo de torrefação dos grãos, o que é por sua vez, é determinante para o aroma e sabor característico do café desejado. A formação de acrilamida durante a torrefação se dá especialmente durante os primeiros minutos do processo de torrefação (81), que ocorre a temperaturas de 220-250 °C (22), como resultado de reações de Maillard (82). Do ponto de vista biológico, as preocupações em torno deste composto são devidas ao fato de ter sido identificado como potencialmente carcinogênico para os seres humanos.

Por conseguinte, a FDA (*Food and Drug Administration*) relataram níveis de acrilamida em bebidas de café entre 6 e 16 µg/kg e a Comissão Europeia definiu um valor indicativo de 450 µg/kg para o café torrado e 900 µg/kg para o café solúvel (83). Por sua vez, Guenther et al (82), estimou que a absorção de acrilamida em seres humanos é da ordem de 12,5 µg por litro de café ingerido.

Para a estratégia de remoção de acrilamida através de SFE, tem que ser levado em conta que a acrilamida é uma molécula mais solúvel em água do que compostos fenólicos como o ácido 3-cafeoilquínicos (3-ACQ), ou seja, 50 mg/mL vs 40 mg/ml e com massa molar muito menor, bem como (71,08 g/mol vs. 354,31 g/mol, respectivamente). No entanto, o seu pequeno tamanho torna uma superfície polar de apenas 43,1 Å<sup>2</sup> contra 165 Å<sup>2</sup> no caso de 3-CQA. Por estas razões, a remoção de acrilamida por SFE pode ser feita com a utilização de um modificador polar que incrementa a polaridade do meio supercrítico. Em outras palavras, a sua absorção por SFE correspondem à categoria de componentes solúveis, porém, não em SC-CO<sub>2</sub>

puro como discutido acima. Por conseguinte, Banchero et al. (22) propõem condições otimizadas para a remoção deste composto e conclui que, dentro das condições de pressão, temperatura e co-solventes estudados, a melhor combinação foi a extração a 200 bar, 100 ° C e 9,5 % de etanol. Nestas condições, estes investigadores relatam uma eficiência de extração de 79% de acrilamida, que foi alcançado sem afetar o teor de cafeína nas amostras de café.

Tendo em conta que um único artigo foi encontrado na literatura para este tema muito pertinente, mais estudos de investigação sobre a remoção de acrilamida a partir de amostras de café por SFE podem ser esperados no futuro, onde os aspectos, tais como o seu impacto sobre as propriedades sensoriais de café pode ser quantitativamente revelado.

### 7.3.8. Imidazóis

Imidazóis são um grupo de compostos que da mesma forma que a cafeína, pertencem à classe química dos alcaloides. No entanto, estes alcaloides são indesejáveis no café, pela mesma razão da acrilamida: eles podem ter efeitos nocivos em seres humanos. Mais especificamente, imidazóis como 4(5)-metilimidazol (4-Mel) exibem um efeito neurotóxico e 2-acetil-4(5)-(1,2,3,4)-tetrahydroxibutil-imidazol (THI) é um imunossupressor (84). Estes compostos partilham com acrilamida a dependência de torrefação para a sua produção.

Do ponto de vista químico, um imidazol como 4-Mel é uma molécula pequena ( $C_3H_2NO$ ) cíclica com massa molar de 82,11 g/mol e uma superfície polar de apenas 28,7 Å<sup>2</sup> (cerca de metade da cafeína). Ele exibe uma solubilidade em água substancialmente baixa, no valor de 4 mg/mL, 20% menor do que a cafeína, mas ainda 100 vezes maiores do que do ácido palmítico.

Dentro da literatura de SFE aplicada em matrizes de café, a remoção de imidazóis por SC-CO<sub>2</sub> foi pouco abordada, no sentido em que foi relatado até agora por uma única publicação, da autoria de Lojková et al (38). Estes autores estudaram a remoção de 4(5)-metilimidazol (4-Mel) e 2-acetil-4(5)-(1,2,3,4)-tetrahydroxibutil-imidazol (THI) a partir de amostras de café arábica torradas, a investigação foi conduzida principalmente por metas analíticas, nomeadamente verificando a utilidade do método de SFE em alternativa à extração em fase sólida, utilizando metanol aquoso. Ao estudar as condições de operação, tais como a pressão (100 a 400 bar), temperatura (50 ° C a 150 ° C), o tempo (10 a 40 minutos), as quantidades de modificadores e mistura modificador (100% de MeOH, a 7: 3 de MeOH: H<sub>2</sub>O, v/v), estes autores concluíram que as melhores condições eram a 400 bar, 150 ° C utilizando 200 mL de 9: 1 (v/v) MeOH: H<sub>2</sub>O como co-solvente. Sob estas condições, a recuperação dos dois imidazóis (4-Mel e THI) atingiu 55% e 74% (respectivamente) após apenas 10 minutos de extração e em

seguida, 98,4% e 98,1%, depois de meia hora de extração. Se estendido o processo de extração para 45 min, o experimento rendeu recuperações de 98,9% (THI) para e de 99,8% (4-Mel).

### 7.3.9. Aroma e compostos odorantes

Aroma e/ou compostos odorantes ativos compreendem uma série completa de produtos extratáveis, caracterizados por uma maior volatilidade que a maioria dos anteriormente discutidos e estima-se os compostos odorizantes incluam apenas 5% dos 900 compostos voláteis identificados até agora em matrizes de café (7). No entanto, é uma categoria muito importante de moléculas, uma vez que eles são essenciais para a aceitação generalizada de bebidas de café em todo o mundo.

A SFE para compostos do *flavor* do café tem seu foco definindo estes compostos como extrativos alvo, é pertinente referir que o aroma, odor e cor de amostras de café é devido a vários fatores, dentre eles armazenamento, espécie, colheita e principalmente a etapa de torra. Durante essa fase, voláteis ativos, tais como aldeídos, pirazinas, pirróis, piridinas (reação de Strecker), fenóis, furanos (degradações térmicas) e substâncias importantes que contêm enxofre são geradas (85). Estes compostos formados são responsáveis por notas organolépticas características, tais como notas torradas (transmitida por pirazinas), amadeirada (nonenal), frutada (pirazinas), “batata cozida” (metanotiol), etc. Embora apreciado em bebidas, estes compostos também são valiosos como aditivos para outros produtos da indústria de alimentos, ou mesmo para indústrias onde suas notas sensoriais possam agregar valor (20,86,87), tal como no caso de perfumes e produtos cosméticos. Este fato justifica por si só, o interesse e o desafio pela extração de compostos odorantes ativos a partir de matrizes de café, com ou sem óleo e outros produtos extratáveis e, desejavelmente, evitando solventes orgânicos nocivos. Além disso, estudos recentes demonstram que os voláteis de café também podem ser marcadores de torrefação e origens geográficas de amostras de café (88–90) usando micro extração em fase sólida (SPME) como o método de separação.

### 7.4. Tecnologia SFE

Quando reduzido aos componentes básicos, a SFE pode ser descrita como dependente das seguintes partes: extrator, separador, sistema de bombeamento, regulador de contrapressão e sistemas de aquecimento e resfriamento, conforme esquematizado em Figura 21.

O solvente supercrítico é o elemento de ligação que cruza todas as partes em uma determinada ordem para diferentes objetivos. Sendo uma tecnologia de alta pressão, o sistema de bombeamento é absolutamente central. A última parte é tipicamente precedido por um

sistema de refrigeração, porque sistemas de bombeamento requerem tipicamente a entrada de CO<sub>2</sub> em estado líquido e, portanto, necessário para cumprir este requisito. Ao ser pressurizado um líquido para estado supercrítico, o fluido fica mais quente, mas o aquecimento adicional pode ainda ser necessária para ajustar a temperatura do SC-CO<sub>2</sub> até a temperatura de operação desejada. Em seguida, o SC-CO<sub>2</sub> encontra o coração do processo, isto é, o extrator, que tipicamente é um recipiente de paredes grossas com abertura superior e inferior para entradas e saídas que pode ser usado de forma intercambiável de acordo com a especificação de uma operação de fluxo ascendente ou descendente. Não obstante a orientação do fluxo de SC-CO<sub>2</sub>, o fluido supercrítico em seguida sai do sistema e exige ser descomprimido (expandido). Isso é controlado usando um regulador de contrapressão que impõe a pressão de trabalho ao montante. Devido à expansão de fluido pronunciada nesse ponto (do que pode ser o montante cerca de várias centenas de Bar), o regulador de contrapressão normalmente exige um sistema de aquecimento dedicado, caso contrário, o congelamento pode acontecer e com isso ocorrerá problemas de bloqueio do encanamento. A expansão e a consequente alteração para o estado gasoso fazem com que os solutos precipitem no recipiente do separador, tornando um facilitador da separação entre o solvente e o soluto. O separador pode ser parcialmente preenchido com um solvente para que o CO<sub>2</sub> possa borbulhar sobre ele e assim, evitar o arraste dos solutos a partir do separador. Sobre uma base conceitual, tudo o que foi discutido sobre o SFE é válido independentemente do regime de trabalho adotados para processamento SFE, seja executado em processos estáticos ou semi-contínuo. A diferença prática entre estes dois regimes é apenas que, quando operado em lotes, isto é, no modo estático, o processo de extração não está em ação simultânea, o que não é o caso da operação semi-contínua. Outro aspecto interessante do processo de SFE envolvendo CO<sub>2</sub> e seguindo o esquema conceitual da Figura 21, é que, durante o ciclo completo o CO<sub>2</sub> passa por três estados físicos: líquido na bomba, supercrítico no extrator e gasoso no separador. Finalmente, deve-se notar também que o esquema conceitual proposto não pressupõe que nenhum co-solvente participe do processo que, dependendo do soluto alvo, pode ser uma má escolha para o processo de SFE.

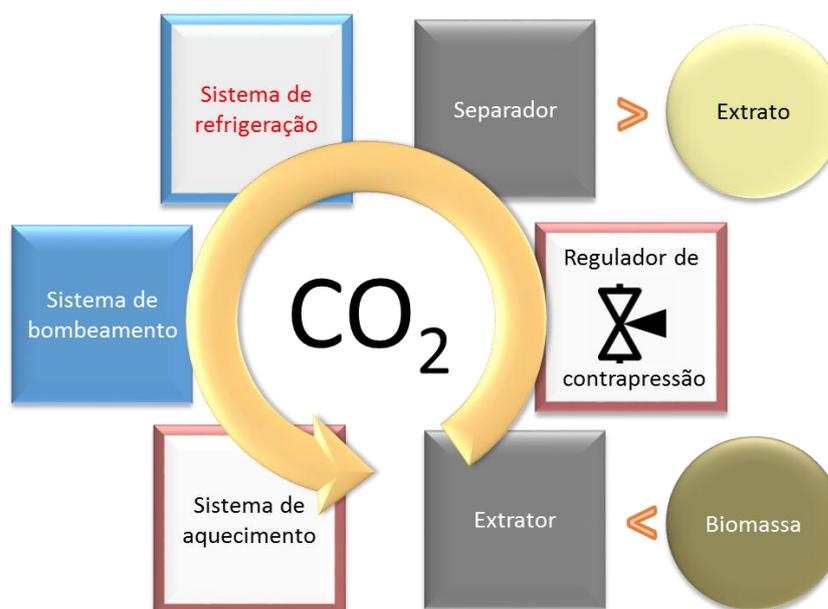


Figura 21- Esquema conceitual de um processo de extração com SC-CO<sub>2</sub> para aplicações em biomassas.

#### 7.4.1. Descafeinação com SC-CO<sub>2</sub>: um dos primeiros processos de SFE

Como mencionado na introdução deste capítulo, a história das aplicações de SFE está fortemente ligada às matrizes de café e também à Alemanha nos anos 60. Esse era o momento e o lugar onde Kurt Zosel, um pesquisador alemão que trabalhava no Max Planck Institute for Coal Research, percebeu que a cafeína poderia ser dissolvida em dióxido de carbono supercrítico (ano de 1967). Esta observação levou-o, três anos depois, a registrar uma primeira patente de "Processo de descafeinação de café" (109). Com base na patente publicada em 1974 (12) Zosel relata processo de descafeinação, onde cada lote de café verde exige até 20 h de extração para atingir uma concentração de cafeína residual de 0,08% em massa. O respectivo diagrama de fluxo está ilustrado na Figura 22 tem várias particularidades que merecem destaque: Unidade SFE, Câmara de biomassa e o reservatório de pressão proposto. Os grãos de café cru (3) são inicialmente colocados dentro de uma bandeja perfurada (2), que é intencionalmente localizado em um ponto alto do extrator, de modo a deixar espaço para um banho de água (4). A quantidade de água no banho deve ser dimensionada com base na quantidade de biomassa dentro do extrator, sendo sugerido uma massa de água igual à massa de carga de café cru. A água e o café não contatam diretamente dentro do extrator. Além disso, a entrada de CO<sub>2</sub> se localiza no topo e o produto de saída é recuperado do fundo (9). Além disso, as seções inferior e superior dentro do extrator são conectadas por linha vertical lateral que contorna o leito de biomassa equipado com uma bomba centrífuga (8).

#### **7.4.2. Meio supercrítico**

Embora o dióxido de carbono é o solvente, a água desempenha um duplo papel no sistema, trabalhando tanto como co-solvente durante a extração e como anti-solvente (110) durante a separação, no sentido em que é imposta uma remoção seletiva de cafeína a partir dos grãos de café (durante a extração) e também induzir a precipitação da cafeína extraída dissolvida em SC-CO<sub>2</sub> modificado (durante a separação).

#### **7.4.3. Condições de funcionamento e estratégia**

A pressão e temperatura sugeridas para o processo é de 160 bar e 70 °C. Após ser pressurizada com apenas o CO<sub>2</sub>, a extração realiza-se com o funcionamento do fluido em um ciclo fechado como se segue: a bomba centrífuga situada no lado da linha bombeia o SC-CO<sub>2</sub> para a parte inferior da extração. Esta etapa é responsável pelo enriquecimento de água no meio supercrítico até um limite de saturação (cerca de 0,41% em massa (111)) e também para fazer a cafeína precipitar à medida que a extração ocorre, ou seja, com a reciclagem do fluido supercrítico na parte superior (6) para a parte inferior (7). Simultaneamente, parte da água do banho sai do extrator (até 9) e é substituído por água fresca (via 12) proveniente da contínua evaporação/destilação da corrente de água da cafeína enriquecida que sai do extrator (10 a 30). O sistema proposto por Zosel tem características notáveis, no sentido de que oferece um sistema supercrítico que supera os pontos fortes de um processo de extração estática com os de um processo de extração dinâmica. Uma delas é garantir um fluxo de CO<sub>2</sub> em contato com a biomassa seja renovado continuamente, sem ser às custas de uma descompressão completo contínua de CO<sub>2</sub>, seguida por recompressão (como típico de um processo de extração dinâmico). Para que isso seja possível, o separador que está localizado dentro do extrator, remove a cafeína extraída do fluido supercrítico sem a necessidade de sua descompressão (expansão). Nesse sentido, o processo patenteado por Zosel também pode ser considerado um processo intensivo: ele combina o extrator e o separador em uma etapa. No entanto, nem todos os contextos de extração seguem estas especificidades da descafeinação do café, que abrem a caminho para as diferentes formas de realização.

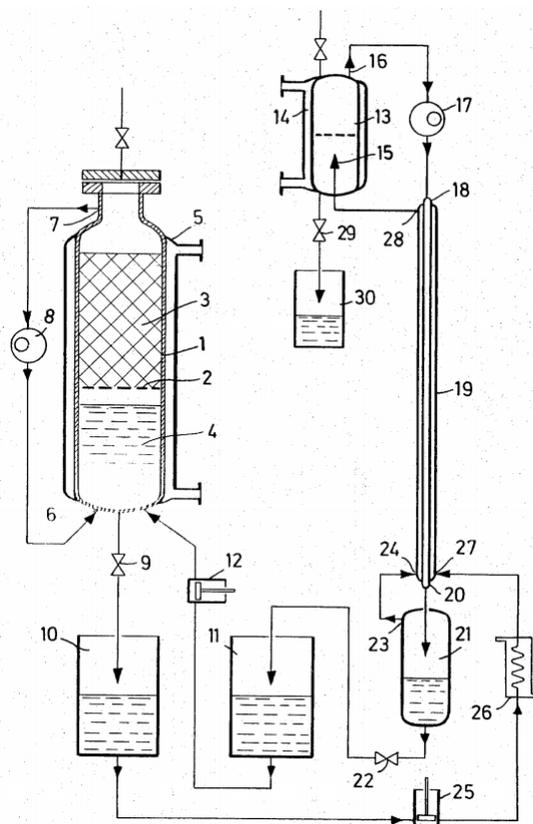


Figura 22-Esquema de um dos primeiros processos patenteados (EUA, 1974) para descafeinação de café verde utilizando SC-CO<sub>2</sub> (12).

#### 7.4.4. Processos de escala industrial

Desde o início da tecnologia de SFE, algumas empresas entraram para a história da descafeinação do café. Pode-se citar a Kraft Foods e Lavazza, cujas unidades/processos são abordadas nos próximos parágrafos. A Kraft Food foi construída em Houston (Texas, EUA), tem um único extrator com 71 metros cúbicos com capacidade de processamento superior a 22 mil toneladas/ano (Figura 23) (112). Com base na patente registrada por esta empresa em 1990 (24), o processo compreende uma descafeinação contínua aquosa utilizando-se café cru e dióxido de carbono supercrítico. Os grãos de café crus úmidos são movidos periodicamente no compartimento de extração contactando com dióxido de carbono supercrítico que circula continuamente, extraindo assim, a cafeína dos grãos de café crus umidificados. A cafeína é removida do dióxido de carbono supercrítico por contato com a água de lavagem da contracorrente, diminuindo assim a concentração de cafeína no fluido supercrítico. O dióxido de carbono é recirculado de volta ao recipiente de extração e a água de lavagem com cafeína é submetido a osmose reversa. Com referência à fábrica de Lavazza, foi criada em 1991 em Pozzili (Itália) e é dedicada exclusivamente a descafeinação de café verde, além disso, o aparelho compreende três extratores de 20 m<sup>3</sup>, (um deles está retratado na Figura 24) capazes

de processar 10 ktons de café verde por ano. Uma observação adicional desta planta é que obteve uma certificação em relação à conformidade de seu método de processamento com os regulamentos da UE e da Lei Programa Nacional de Orgânicos e Produção Orgânica de 1990 (113).

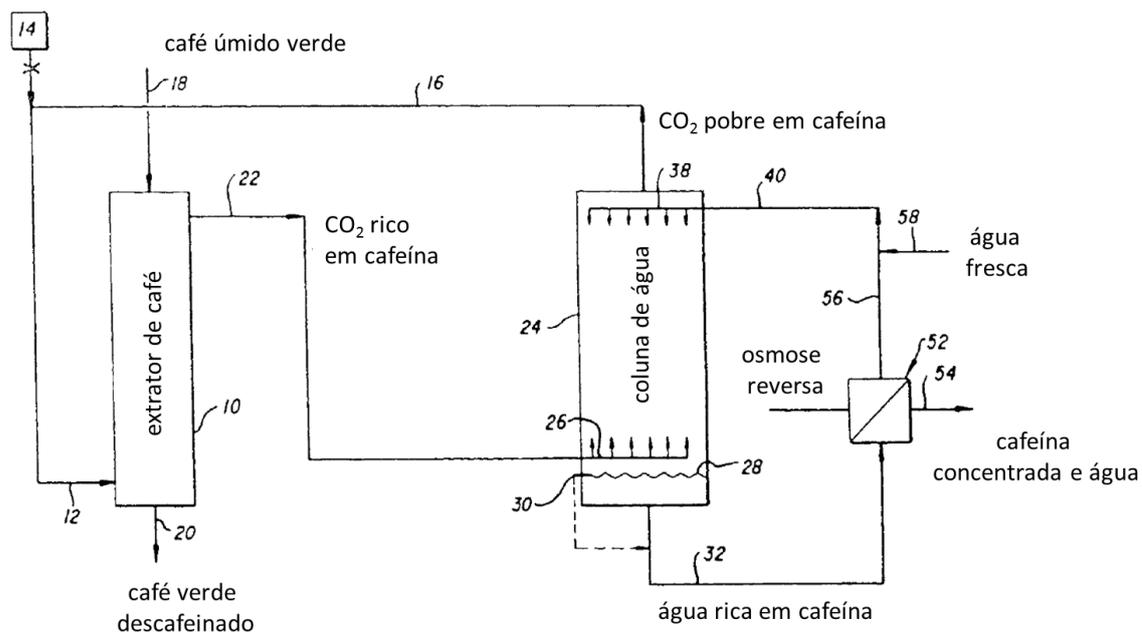


Figura 23- Esquema do processo de descafeinação de café da Kraft Foods localizada em Houston (Texas, EUA) (112).



*Figura 24- Instalação de descafeinação de café Lavazza localizada em Pozzilli (Itália). Créditos (114)*

#### **7.4.5. Processos atuais em escala de laboratório**

As décadas de pesquisa acadêmica sobre a tecnologia SFE refinaram Unidades SFE de acordo com as necessidades e restrições dos pesquisadores, que podem incluir a preferência de investimento em unidades genéricas que não são dependentes de casos (quanto à biomassa ou ao soluto alvo), tamanho da unidade e características técnicas, tais como a reciclagem ou não de CO<sub>2</sub>, ou uso de fluidos coadjuvantes, ou mesmo em termos das despesas relacionadas ao controle automático de bombas, aquecimento ou taxas de fluxo. Um exemplo claro da versatilidade normalmente procurada nas unidades SFE de escala de laboratório é fornecida na Figura 25, onde o *layout* ilustrado foi utilizado pelos pesquisadores para valorizar pelo menos três matrizes de biomassa distintas: resíduos de avelã, resíduos de uva e borra de café. Esta unidade inclui uma linha de co-solvente com um sistema de bombeamento independente, um forno funcionando como sistema de aquecimento antes da extração, um regulador de pressão e um separador com uma armadilha de solvente, que em geral, assemelha-se aos elementos básicos do esquema conceitual de Figura 21. A unidade engloba também controladores de pressão, temperatura e fluxo para garantir a precisão operação nas condições especificadas. Esquemas unitários semelhantes podem ser encontrados em outros trabalhos da literatura (36,45,55,59,60).

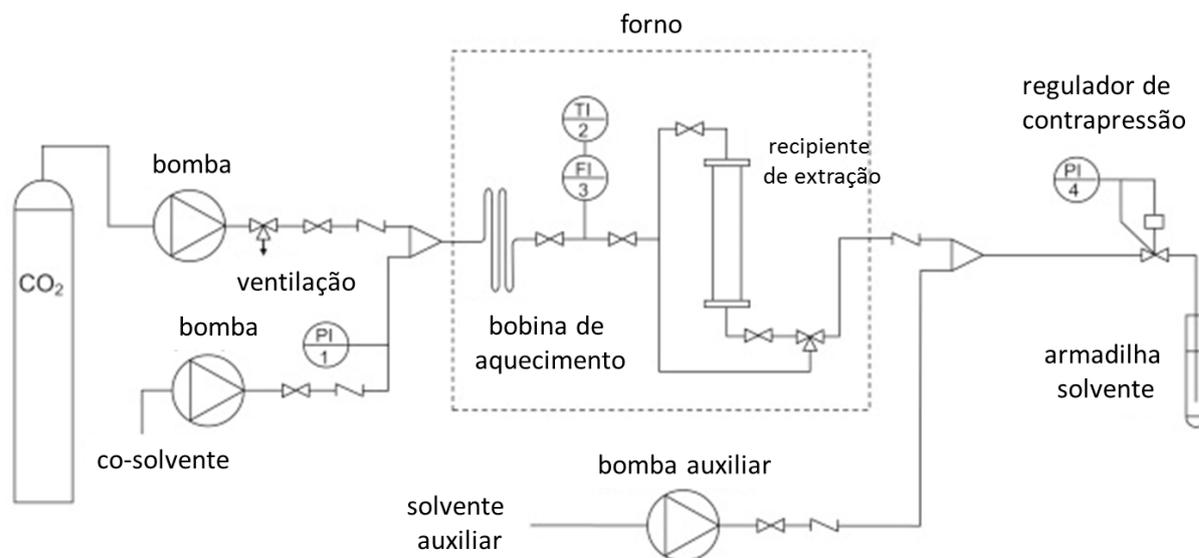


Figura 25-Típica unidade de escala de laboratorial de SFE. Transcrito de (49).

Não obstante as escalas muito elevadas que as unidades SFE podem alcançar em escala industrial, nossa compilação de obras mostra que a maioria dos trabalhos disponíveis na literatura que aplicam SFE em matrizes de café foram centrados em extratores não maiores que 0,5 L de capacidade, encontrados em 13 estudos, seguidos de capacidades entre 0,5 e 2,5 L, encontrados em 5 trabalhos. Isso é representado graficamente na Figura 26, sendo também possível perceber que apenas 1 trabalho da Tabela 26 usou um extrator superior a 2,5 L. Enquanto escalas menores podem satisfazer perfeitamente as necessidades dos pesquisadores (particularmente se conduzido por uma motivação analítica), exemplos da amplitude de SFE na literatura sobre biomassa vegetal mostram que foram usadas unidades muito maiores ao longo dos anos, atingindo magnitudes de tamanhos intermediários (cerca de 4-5 L) até escalas muito maiores (20-260 L) (115). Curiosamente, enquanto o SFE industrial foi conduzido pela descafeinação, a pesquisa sobre SFE da biomassa de café parece ser muito restrita a uma escala muito pequena, deixando assim uma grande lacuna de escala entre o que sabe-se existir da escala industrial (discutido abaixo) e o que está sendo feito em laboratórios acadêmicos em todo o mundo.

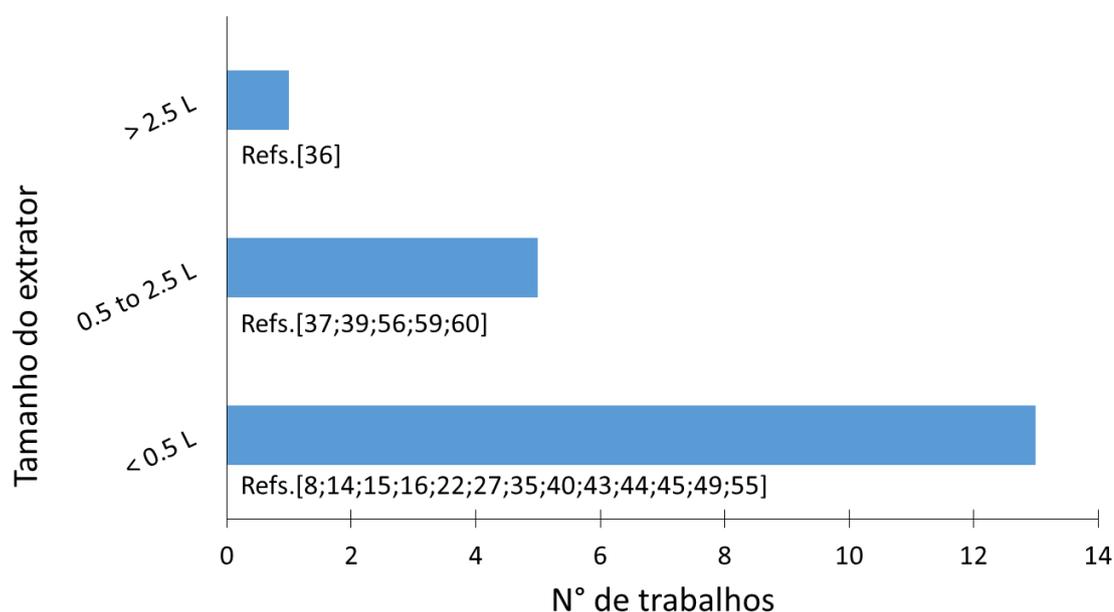


Figura 26- Dimensões de unidades de SFE de escala de laboratório utilizada na pesquisa.

## 7.5. Condições Operacionais

O SFE é normalmente descrito como uma tecnologia de alta pressão e dados disponíveis na literatura de SFE sobre as matrizes vegetais mostram que os pesquisadores relatam que a pressão é tão importante quanto a temperatura para suas otimizações, seguido do tempo de extração e em seguida, por um grupo de três fatores: concentração de co-solvente, tamanho de partícula da biomassa e taxa de fluxo do solvente (115). Na verdade, alguns deles levam a uma simetria ou objetivos semelhantes, de acordo com a maneira como eles são gerenciados e especificados, na sequência do texto desta seção, alguns desses fatores são abordados a respeito da literatura existente sobre SFE aplicado em biomassa de café.

### 7.5.1. Pressão e temperatura

Conforme referido, estas duas variáveis são de extrema importância na SFE de matrizes vegetais, várias das propriedades tipicamente atribuídas a fluidos supercríticos, nomeadamente densidade, viscosidade e propriedades de difusividade, dependem de uma escolha favorável durante o processo de SFE. A Figura 27 fornece uma visão geral dos artigos de SFE publicados desde 1974, representados com base nas melhores condições de pressão e temperatura indicadas

para cada estudo, destacando também os respectivos compostos-alvo de cada trabalho (representados em cores diferentes). Os dados plotados não distinguem estudos em termos das respectivas amostras de café (seja verde, torrado ou borra de café), abrindo o caminho, assim, a uma visão global da pesquisa neste campo. No que diz respeito à pressão de extração, a região da maioria dos trabalhos varia de 100 bar até 250 bar e envolve trabalhos dedicados a vários tipos de extratos: óleo, aroma, CGA, cafeína e diterpenos. A referida janela de pressão é mais estreita do que a relatada para SFE global de matrizes vegetais (115), sugerindo assim uma exploração mais refinada do potencial de pressão em comparação com outros produtos naturais. Notavelmente, o único trabalho encontrado na literatura usando SFE é extraído imidazóis, que combina as condições de operação mais agressivas encontradas na Figura 27, ou seja, 400 bar e 150 °C. Apesar de ser a pressão máxima observada para o SFE em café, esse valor ainda está longe dos 700 bar relatados nos últimos anos (115). Em termos de temperaturas de extração, representadas no eixo X da Figura 27, a abundância de artigos entre 40 e 60 °C estão de acordo com a tendência geral de SFE em matrizes vegetais (115), ou seja, a preferência para induzir variações de densidade através do impacto da pressão ao invés da temperatura. Uma vantagem pertinente de se fazer isso é evitar a degradação térmica ou modificação das amostras de café, inclusive em compostos extratáveis lábeis. Curiosamente, alguns estudos relatam temperaturas bem acima das discutidas, de 100°C a 150 °C, mas nenhum destes é dedicado a óleo ou aroma, concentrando-se em extração de cafeína, acrilamida ou imidazóis. Além disso, os referidos altos valores de temperatura caem claramente fora das condições tipicamente observado para matrizes naturais nos últimos anos, que dificilmente superaram 100-110 °C. Por isso, pode-se concluir que o SFE em matrizes de café apresenta particularidades a partir de uma perspectiva térmica, o que pode estar correlacionado com a grande margem de liberdade imposta pelas condições agressivas de torrefação, que podem chegar a 250 °C (116).

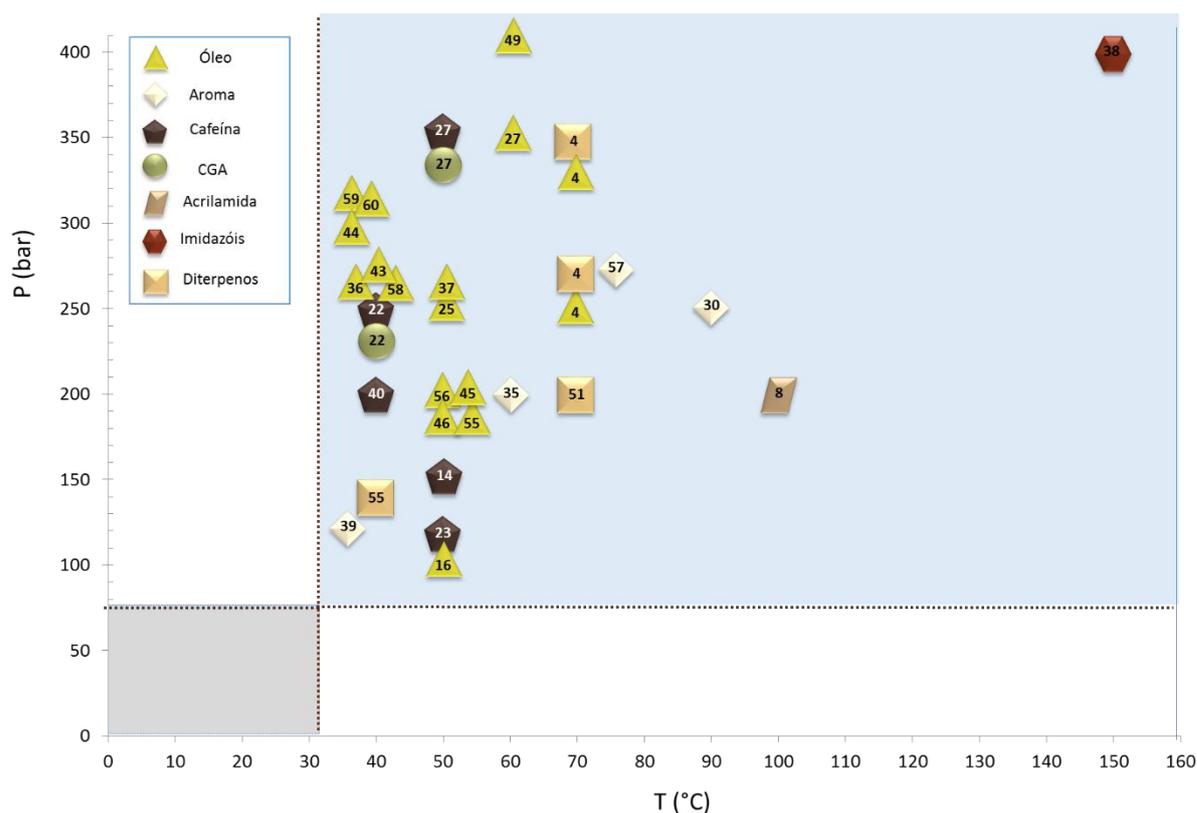


Figura 27-Melhores condições de operação - para as publicações envolvendo extrações em amostras de café (cru, torrado e borra de café) para diferentes objetivos (Tabela 26).

Com pressões e temperaturas concentradas na faixa de 100-250 bar e temperaturas de 40-60 °C, as densidades de SC-CO<sub>2</sub> são representadas graficamente na Figura 28. Por conseguinte, as condições descritas na Figura 28 dão origem a uma gama de densidades mais distribuídas, em todos os trabalhos registrados com densidades de SC-CO<sub>2</sub> entre 500 e 1100 kg.m<sup>-3</sup>. Além disso, melhores resultados experimentais são pouco encontrados em pressões mais baixas e altas temperaturas: esse é o conjunto de condições que levam a densidades mais baixas e, portanto, a um solvente com menor poder de solvatação. O impacto de menores densidades sobre o poder de solvatação pode ser melhor entendido se uma equação de solubilidade empírica típica para prever o óleo essencial é lembrada:

$$y_i^* = \rho_{SC-CO_2}^{k_1} \exp(k_2/T + k_3)$$

Consequentemente, para a região de pressões mais baixas e temperaturas mais elevadas, quanto maior a temperatura, maior será a contribuição exponencial que se torna constante e, assim, maior a solubilidade do óleo por ser diretamente dependente da magnitude da densidade. Como resultado, densidades mais baixas e temperaturas mais elevadas tenderá a oferecer os

resultados de solubilidade mais baixos. Como resultado, valores de temperatura próximos a pressão crítica implica situações de *trade-off*<sup>8</sup> entre perda/ganho de poder de solvatação (através de densidade) vs. perda/ganho na volatilidade dos solutos (através da pressão de vapor). Além disso, o efeito de *trade-off* mencionado envolvendo temperatura, foi registrado experimentalmente por Couto et al (45) também para SFE de óleo de borra de café. Esses autores relataram que, na faixa de 250 e 300 bar, o rendimento de extração de óleo aumentou com a temperatura, mas a 200 bar (ou seja, uma pressão mais baixa), um efeito reverso da temperatura foi notado.

Tendo isso em mente, não é surpresa perceber que em estudos experimentais de otimização envolvendo SFE de óleo, não só a pressão e a temperatura são individualmente consideradas como fatores estatisticamente significativos, mas também sua interação binária é considerada significativa, revelando assim a efeito interligado acima mencionado (50,60). O que os estudos também mostram que em geral pressões altas são desejadas enquanto ao mesmo tempo as temperaturas devem permanecer em valores mais baixos. Adequadamente, Hurtado e Dorado estabeleceram que as condições favoráveis em termos de rendimento para óleo de café torrado e maiores teores de ácido linoleico são 331 bar e 35,9 ° C (60). Por sua vez, Cruz et al concluíram que, para o óleo de borras de café as condições ótimas eram 250 bar e 50 ° C (37).

---

<sup>8</sup> Ato de escolher uma coisa em detrimento de outra em situações conflitantes.

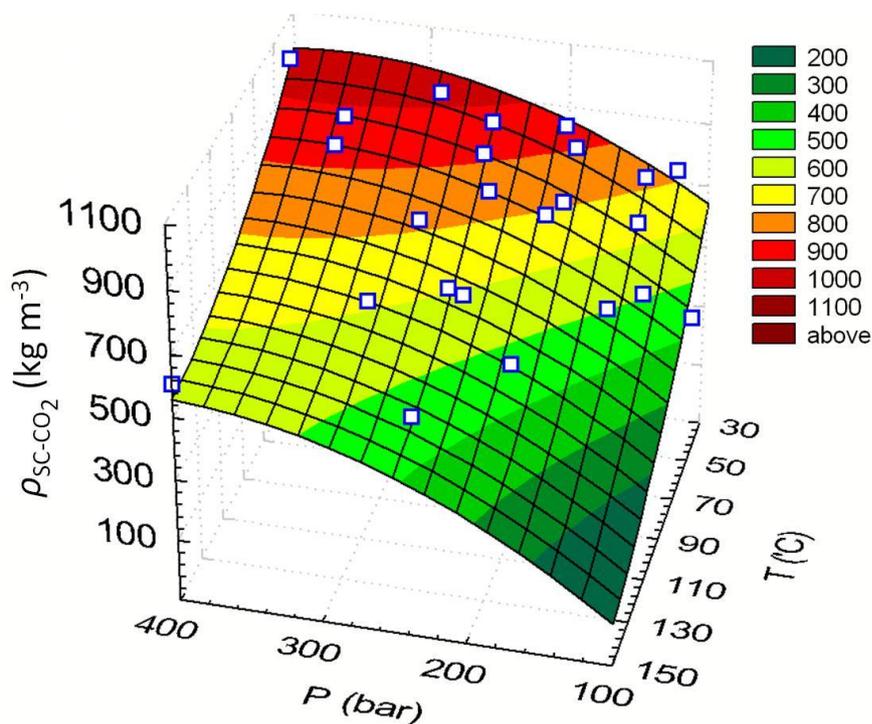


Figura 28-Distribuição das densidades de SC-CO<sub>2</sub> dos trabalhos descritos na Figura 27.

Embora muito do que foi discutido em relação às condições tenha, como premissa, o interesse para aumentar a produtividade do processo de SFE em termos de rendimentos de extração, outras aplicações podem requerer estratégias diferentes. É o caso da remoção simultânea ou individual de compostos indesejados das matrizes de café via SFE. Um caso com esse tipo de desafio pode ser encontrado no trabalho de Lucas e Cocero (39) que relatam um processo integrado de duas etapas, onde o SC-CO<sub>2</sub> é utilizado para extrair os compostos voláteis que conferem notas positivas ao café a partir de café torrado e moído, seguido por um estágio de fase supercrítica em linha, onde ocorre a remoção seletiva de voláteis que conferem notas negativas, através de sua adsorção em carvão ativado. Conseqüentemente, os resultados deste estudo mostraram que a pressão, condições de temperatura e fluxo de 120 bar, 35 ° C, 2 kg h<sup>-1</sup>, respectivamente, são adequados para remover os componentes indesejáveis (por exemplo, furfural) e mantendo ao mesmo tempo os compostos de aroma desejáveis (por exemplo, acetato de etila), dando origem a um equilíbrio delicado na composição de substâncias voláteis no óleo de café extraído.

### 7.5.2. Co-solvente

O uso de co-solvente no contexto de SFE em matrizes de café está fortemente ligada à descafeinação do café, onde a água é ao mesmo tempo um co-solvente (a cafeína tem uma

afinidade intermediária para a água) e anti-solvente (agente inibidor que faz precipitação de cafeína). No entanto, para uma avaliação apropriada do tópico dos co-solventes, deve-se permanecer tão geral quanto possível, para abranger todas as aplicações possíveis pelas quais o SFE pode ser usado para processar matrizes de café. No que diz respeito à produção de óleo essencial, que é o produto de café mais abundante que pode ser extraído via SFE, o uso de co-solventes foi abordado de Azevedo et al (27) que investigaram o uso de etanol ou álcool isopropílico como co-solventes, em frações em massa de quantidades de 5%, reportando maiores rendimentos de extração total quando se utilizam co-solventes. Além disso, o impacto dos co-solventes sobre o óleo essencial também pode ser notado nos perfis de ácidos graxos alcançados: A proporção de ácidos graxos poli-insaturados/saturados foi muito menor para os experimentos realizados com co-solventes devido a um conteúdo muito maior em ácidos graxos saturados, nomeadamente ácidos láurico, mirístico e araquidônico. Os mesmos co-solventes alcoólicos levaram também a maiores recuperações de cafeína (até 5 vezes mais em relação ao SC-CO<sub>2</sub> puro) e de ácidos clorogênicos (com SC-CO<sub>2</sub> puro apenas traços foram encontrados nos extratos). Os co-solventes também são importantes para o objetivo de realizar um *clean up* nos compostos indesejados presentes no café. Consequentemente, Bachero et al. (8) estudaram a remoção de acrilamida variando quatro condições: pressão (de 200 a 300 bar), temperatura (de 25 a 120 °C), teor de etanol na mistura supercrítica (de 0 a 9,5% em massa) e o tempo de extração (305 a 1345 min), os autores concluíram que, embora a pressão não afetasse significativamente os resultados, a temperatura e a adição de etanol como co-solvente resultou em um aumento significativo no desempenho de extração. As melhores condições de trabalho no intervalo experimental investigado foram 100 °C, 200 bar e 9,5% m/m de etanol proporcionando uma eficiência de extração de acrilamida de 79%. No que diz respeito a diterpenos (kahweol, o cafestol e o 16-O-metilcafestol) Barbosa et al. (55) realizaram uma otimização experimental usando borra de café, analisando fatores como pressão (de 140 a 190 bar), temperatura (de 40 a 70 °C) e teor de etanol (0 a 5% em massa), tais fatores foram avaliados conjuntamente para maximizar o rendimento de extração total e/ou a concentração dos compostos diterpênicos nos extratos resultantes, tais autores concluíram que as melhores condições para maximizar a extração de óleo rico em diterpenos são 190 bar / 55° C / 5% em massa de etanol, com um rendimento de 11,97% em massa (g de óleo / 100 g de borra de café).

### 6.5.3. Taxa de fluxo

Além da seleção de pressão e temperatura para uma extração adequada, além da decisão de trabalhar ou não com co-solvente, um fator muito importante a ser definido em um processo de SFE usando SC-CO<sub>2</sub> é a taxa de fluxo (CO<sub>2</sub>). A implicação de selecionar um determinado parâmetro influencia o regime de escoamento, impondo uma determinada velocidade intersticial ao solvente que percola o leito de biomassa. Portanto, a taxa de fluxo é capaz de modificar a resistência do filme convectivo à transferência de massa, que é uma limitação na superfície (externa) das partículas, independentemente do seu tamanho. Para um sistema de tamanhos constantes de partículas os aumentos de taxa de fluxo se traduzem em diminuição progressiva da importância desta fonte de resistência à transferência de massa. No entanto, essa redução só pode ser eficaz até um limite, quando a resistência intrapartícula começa a ser dominante para a taxa de extração. Neste ponto, reduzindo ainda mais a resistência do filme pelo aumento do caudal torna-se inútil no sentido de aumentar o desempenho do processo de SFE. No contexto de SFE aplicada em biomassa vegetal, a definição de valores adequados da taxa de fluxo é uma questão de experiências preliminares (8,14), em que os aspectos, tais como tamanho de partícula da biomassa, abundância de extrativos da biomassa, solubilidade destes extrativos, tamanho do extrator ou o tempo máximo de extração permitido para o processo devem ser conjuntamente considerados em cada processo. Para exemplificar estudos sobre efeito da taxa de fluxo, Tello et al (15), investigou diferentes tempos de extração para a remoção de cafeína das cascas de café robusta. Para isso, as taxas de fluxo variaram entre 0,6 g min<sup>-1</sup> e 5,8 g min<sup>-1</sup> e extração entre 120 e 180 min foram consideradas, estes experimentos conduziram a valores globais de CO<sub>2</sub> que variaram de 116 g e 702 g. Esses resultados são traçados em pontos pretos na Figura 29 com o rendimento vs. massa de CO<sub>2</sub>, para combinações diferentes da taxa de fluxo e extração. O mesmo tipo de representação é fornecido para a SFE experimental em matriz livre (não aprisionada na matriz de biomassa) de cafeína pura sob as mesmas condições de 200 bar e 60 °C. Para a cafeína livre, a remoção é conduzida pela solubilidade deste composto no solvente supercrítico, tornando a taxa de extração linearmente proporcional à quantidade de SC-CO<sub>2</sub> e assim linearmente proporcional à taxa de fluxo. Por sua vez, quando a biomassa de café (rica em cafeína) é colocada dentro do extrator, um comportamento diferente é notado, com uma tendência de comportamento não-linear para taxas mais elevadas de CO<sub>2</sub>, mesmo se descontando o fato de que nem toda a massa da matriz vegetal pode ser captada por SC-CO<sub>2</sub> (ou seja, os rendimentos podem não atingir 100% em massa). Na verdade, esses resultados podem ser interpretados como uma medida do desafio técnico para produzir extratos

ricos em um determinado composto alvo em relação à solubilização deste composto. Até um certo ponto, o aumento da taxa de fluxo (quantidade de CO<sub>2</sub>) não tem vantagens proporcionais ao processo. Por estas razões, o caudal é uma condição de operação delicada para otimizar, sendo decisivo para uma escala correta de um processo de SFE.

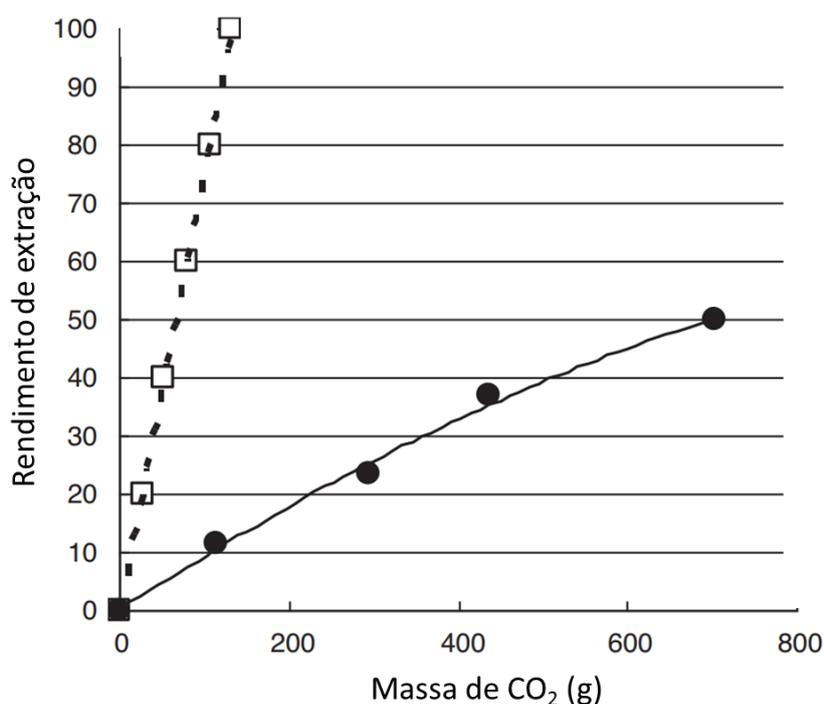


Figura 29-Comparação entre as curvas de extração obtidas para a cafeína pura (□) e para a Extrato total de casca de café (•). Condições: 60°C e 200 bar (linha tracejada: conexão linear, linha sólida: linha de tendência polinomial de segundo grau).

Transcrito de Tello et al (15)

#### 7.5.4. Tamanho de partícula

No contexto de SFE de matrizes de café, o tamanho em que a matéria-prima está disponível depende, em primeiro lugar sobre as espécies de café. Medições feitas com um grande número de grãos de *C. arabica* indicam que os grãos possuem em média 10 a 18 mm de comprimento e 6,5 a 9,5 mm de largura (117). Por sua vez, outras espécies como *C. racemosa* exibe sementes menores: 5-7 mm de comprimento e 3-3,5 mm de largura (118). Portanto, ao comparar as obras usando SFE em diferentes espécies de café não moídos, teremos diferentes valores de extração, uma atenção maior deve ser dada aos casos envolvendo café moído, porque estes os tamanhos variam entre 180 µm e 600 µm. Na verdade, a maioria das amostras de café moído é compreendida dentro do intervalo de tamanho de 250-400 µm (119). A consequência direta dessas nuances no tamanho de partícula se deve devido às espécies de café ou ao estágio

de processamento do café (ver da Figura 30), onde diferentes áreas de superfícies de contato estão disponíveis para interagir com o fluido supercrítico. Consequentemente, enquanto se espera que grãos de café uma relação de superfície-volume de 0,35 a quase 1,00, podemos atingir um salto desta propriedade para acima de 8,00 para o café moído. Tal salto explica o conhecido aprimoramento que a moagem fornece ao SFE de matrizes vegetais. Este fator foi demonstrado para as sementes de uva (120) e também para cascas de Carvalho (*Quercus cerris*) (121).

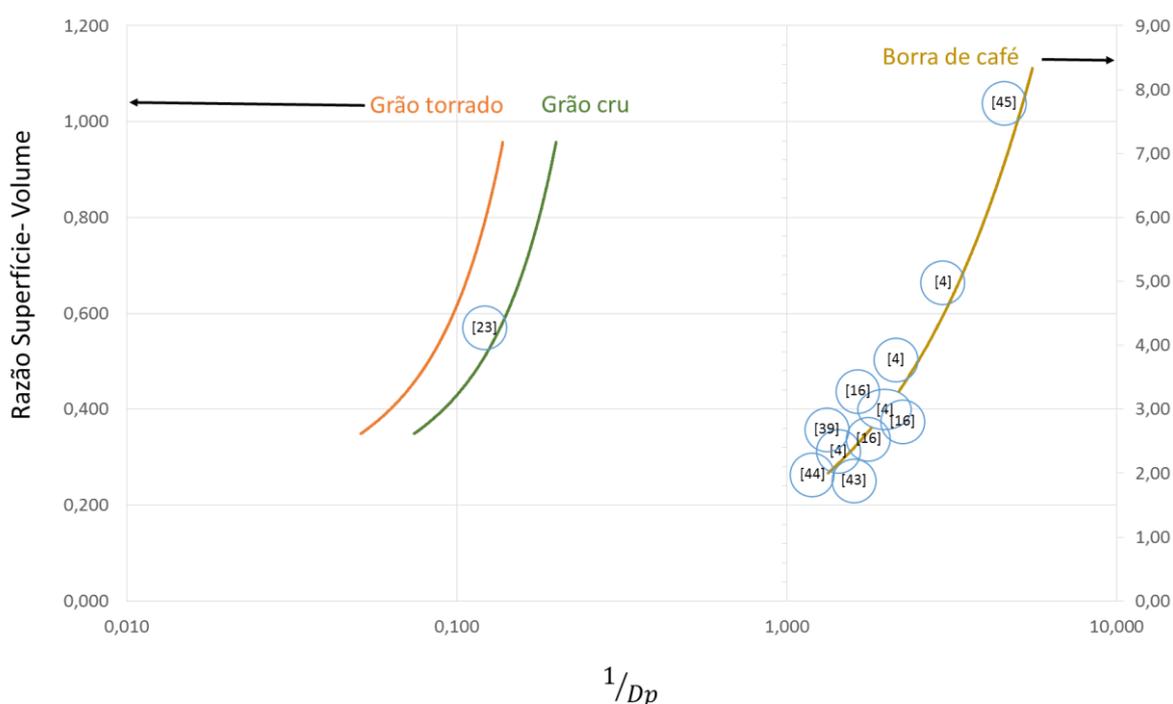


Figura 30- Proporção típica de superfície/volume de matrizes de café em diferentes fases de processamento como função do tamanho das partículas e proporções dos estudos de SFE compilados para este capítulo.

Da mesma forma para o caudal, o tamanho de partícula é um parâmetros de SFE cujo impacto podem beneficiar o processo, Andrade et al (16) avaliaram o impacto de se trabalhar com cascas de café usando três taxas de fluxo (6,6, 11,6 e 16,6  $\text{g min}^{-1}$ ) e três graus de moagem com três diâmetros de partícula (0,06, 0,05 e 0,03 cm), consequentemente, para qualquer um dos três as taxas de fluxo. O tamanho de partícula do mais alto para menor levou a uma expansão do período de taxa de extração máxima em até 71%, o que reflete a maior acessibilidade de solutos em amostras de maior grau de fragmentação. Por outro lado, o impacto da diminuição

do tamanho de partícula pode ser significativo para uma planta industrial SFE tanto em níveis econômicos quanto do ponto de vista da intensificação de processos. Portanto, em um cenário de *trade-off* geralmente esse parâmetro é recorrente, que pode ser resolvido se a matéria-prima requer, por algum motivo, ser moída ou permanecer como é originalmente, o que parece ser o caso do café.

## **7.6. Solubilidade de extratos em SC-CO<sub>2</sub>**

O ajuste das condições de operação de SFE em relação aos rendimentos de extração podem ser otimizadas de acordo com a seletividade desejada para determinadas classes de compostos, o que muitas vezes é um desafio que não depende apenas da seleção correta de variáveis como pressão, temperatura, caudal ou tamanho de partícula, mas também da complexidade/riqueza do composto e sua propensão a coextrair em um determinado processo. Neste contexto, os pesquisadores têm não só de compreender e explorar o potencial do SC-CO<sub>2</sub> através de uma manipulação sábia das referidas condições de operação, mas também considerar a classes químicas dos compostos que ocorrem em uma dada biomassa e suas abundâncias esperadas. Isso pode exigir uma caracterização química preliminar, como já foi feito em alguns trabalhos de SFE envolvendo café (16,35,43,44). Para avaliar o conteúdo desses compostos na biomassa e o uso de tais valores como referências para o desempenho da extração via SFE. Por outro lado, a solubilidade dos extrativos presentes nas matrizes de café obedece a perfis de equilíbrio termodinâmico que dependem do solvente supercrítico que é escolhido e também das condições de operação escolhidas, conseqüentemente, a relação entre SC-CO<sub>2</sub> e de extrativos de café é discutida nos parágrafos seguintes a partir da perspectiva de estimativas teóricas ou medições experimentais.

### **7.6.1. Estimativa teórica**

A teoria de parâmetro de solubilidade oferece uma maneira simplificada, mas útil para termos uma perspectiva do impacto de diferentes condições de operação sobre o poder de solvatação de SC-CO<sub>2</sub>, mas também para descrever a distribuição de afinidades entre os diferentes extratos de matrizes de café frente ao solvente de extração. A teoria é baseada no conceito de densidade de energia coesiva, que foi adaptado aos fluidos supercríticos por Giddings et al. (122,123). Nos últimos anos essa teoria foi genericamente usada para discutir e sistematizar a extração via SC-CO<sub>2</sub> de matrizes de biomassa (115,124). Basicamente, esta teoria define que quanto próximo os valores de  $\delta$  do soluto e  $\delta$  do solvente maior a miscibilidade entre os dois e, portanto, maior é a probabilidade de que o soluto é dissolvido pelo solvente no

contexto de SFE. Um método simples para estimar os valores  $\delta$  foi proposto por Hansen (125), que define este parâmetro em função de três contribuições: dispersão, polaridade e interações de ligação de hidrogênio. O respectivo método de cálculo é do tipo de contribuição grupos, o que significa que ele pode ser estimado para qualquer composto, desde que a sua estrutura molecular seja conhecida. Tendo em conta os compostos propensos a ser encontrados em matrizes de café, parâmetros de solubilidade foram estimados para vários deles, sendo representados na Figura 31, em conjunto com os parâmetros de solubilidade do SC-CO<sub>2</sub>, em função da pressão de extração. Primeiramente, dois perfis de  $\delta$  podem ser observados na parte inferior do gráfico, o que corresponde ao SC-CO<sub>2</sub> puro a 40°C e a 60°C, onde o aumento progressivo do poder solvatação pode ser notado com pressão, ao mesmo tempo a diferença entre as duas temperaturas de fluidos parece perder importância. Na verdade, as maiores diferenças entre as duas temperaturas coincidem entre a pressão crítica (73,4 bar) e a pressão de 200 bar, onde, por exemplo, o  $\delta$  salta de 4,7 (100 bar), a 10,8 MPa<sup>0,5</sup> (200 bar a 60 ° C) e apenas de 9,4 (100 bar) a 12,6 MPa<sup>0,5</sup> (200 bar). Acima disso, pressões aumentos equivalentes em  $\delta$  só pode ser alcançado se a pressão é maciçamente incrementada de 200 bar a 900 bar. Isso significa que a região mais densa identificada na Figura 27, em operação de termos, corresponde simultaneamente a região do realce com maior poder de solvatação. Um perfil  $\delta$  adicional é fornecida na Figura 31, compreendendo a SC-CO<sub>2</sub> modificado com 10 % (m/m) de etanol (a 40°C), o qual pode ser considerado um elevado grau de modificação no contexto de SFE. A referida modificação é capaz de melhorar os valores  $\delta$  de SC-CO<sub>2</sub> puro entre 7 e 14%, porém, considerando que as pontuações etanol puro correspondem a 26,5 MPa<sup>0,5</sup>, isto é 1,6 a 2,8 vezes mais do que SC-CO<sub>2</sub> puro à mesma temperatura. Em termos de extrativos de café, a Figura 31 também é muito instrutiva do que esperar dos diferentes compostos propensos a serem encontrados em matrizes de café, com ênfase especial sobre aqueles cujas proximidades parecem existir a nível de parâmetros de solubilidade. Por conseguinte, dois grandes aglomerados de compostos podem ser encontrados na Figura 31, um englobando ácidos clorogênico, cafeína e acrilamida, variando de 23,7-27,5 MPa<sup>0,5</sup> e um segundo agrupamento de lipídeos, aroma e diterpenos, que variam 17,9-19,8 MPa<sup>0,5</sup>.

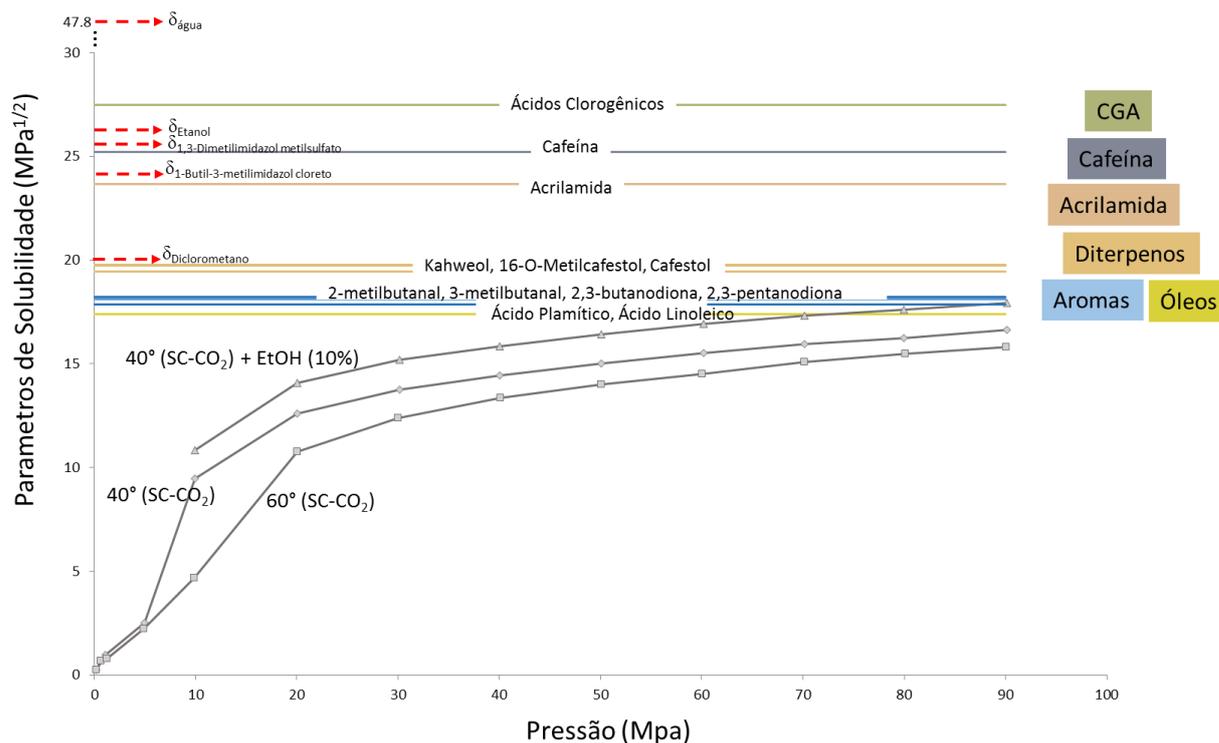


Figura 31- Parâmetros de solubilidade de SC-CO<sub>2</sub> (com e sem co-solventes) em função da pressão em relação aos parâmetros de solubilidade calculada para vários componentes encontrados no café.

Apesar da solubilidade não ser o único aspecto determinante de transferência de massa de matrizes de café, a Figura 31 fornece informações valiosas que foram confirmadas pelos autores dos estudos compilados para este capítulo, sendo que o processo de SFE pode ser favorecido com o aumento da pressão operacional e temperatura devido à maior solubilidade (15) e em pressões mais elevadas (acima de 300 bar) o comportamento de solubilidade do óleo de café foi aparentemente independente da temperatura (14); a solubilidade de cafeína em SC-CO<sub>2</sub> aumentou com a diminuição da temperatura (40 ° C) a pressões inferiores a 300 bar (22). Estes resultados corroboram com os resultados teóricos da Figura 31 para pares binários de SC-CO<sub>2</sub> puro e compostos únicos, pelo menos em um nível tendência. Bitencourt et al. (126) relatam um conjunto de dados de equilíbrio de fases de sistemas contendo óleo de café verde, dióxido de carbono supercrítico (SC- CO<sub>2</sub>) e etanol e avaliam o conteúdo de ácidos graxos livres e a solubilidade do óleo de café verde (OCV) em diferentes temperaturas (40-60 ° C), pressões (200-400 bar) e SC-CO<sub>2</sub> razões/etanol (0-5,7% m/m de etanol). A solubilidade de OCV em SC-CO<sub>2</sub> apresentaram valores semelhantes aos disponíveis na literatura para outros óleos vegetais. Através dos dados experimentais verifica-se que com a utilização de 2,9% de etanol, a solubilidade de OCV aumentou 63%. Pode-se verificar que o uso de SFE no conteúdo

de ácidos graxos livres, kahweol e cafestol, são da ordem de 3,4, 4,4 e 4,0 vezes mais elevados, respectivamente, do que em óleos de café verde comercial obtidos por prensagem, concluindo-se que o uso de tecnologia supercrítica melhora a extração dos ácidos graxos livres e diterpenos, especialmente quando é adicionado etanol como co-solvente para a extração sistema.

### **7.7. Aspectos econômicos de SFE em extratos de café**

Contrariamente a outras aplicações onde SFE e SC-CO<sub>2</sub> não têm tradição industrial, o café talvez, seja uma exceção em relação a uma vasta gama de matrizes, como acima discutido na Seção 4. Como resultado, é mostrado que a aplicação de SFE a matrizes de café pode não apenas ser escalável, mas também economicamente rentável, isso foi provado através da descafeinação, porém não significa necessariamente que qualquer abordagem utilizando SFE em matrizes de café, possa automaticamente vir a ser um sucesso. A viabilidade econômica de um processo de SFE está ligada a vários parâmetros de origens diferentes, que pode ser resumido como: • potencial de rendimento de biomassa da matriz (isto é, a quantidade de extrato pode se esperada por massa da matriz); • Tamanho (por exemplo, capacidade de extração) e do tipo de operação do processo de SFE (por exemplo, contínua ou estática); • As condições de funcionamento (pressão, temperatura, co-solventes, etc.); • Condições cinéticas relacionadas ao processo (tamanho de partícula e taxa de fluxo); • Pré-tratamento (por exemplo, trituração, secagem, etc.) e pós tratamento (evaporação, destilação, etc.); • O valor de mercado do extrato produzido ou valor agregado de processamento via SFE; com referência ao último tópico, é importante distinguir as duas maneiras pelas quais o processamento via SFE pode ser considerada uma operação rentável. Enquanto historicamente a descafeinação é um processo em que o valor agregado é esperado, isto é, o café descafeinado origina uma bebida que compensa o processo de SFE, contrasta claramente com o caso em que o valor acrescentado esperado de processamento SFE está ligado aos extratos que são produzidos e não tanto a partir do valor da matriz vegetal. Neste contexto, o extrato de café deve ter uma composição ou um ranking comercial/marketing que convence os clientes (usuários finais ou clientes industriais) a adquirir esse produto. Deste modo, a Figura 32 apresenta os preços comerciais de vários produtos (a partir do óleo de puro) propensos a ser obtido por SFE em matrizes de café, onde pode ser notado que, para compras a granel, o óleo de café apresenta um preço na ordem das centenas de reais por kg e é seguido da acrilamida pura e 4-metilimidazol, que são ambos comercializados em torno de 4 de mil reais/kg. Quando à cafeína pura está em causa, o seu valor comercial gira em torno de 4 mil/kg. Por sua vez, o cafestol puro (diterpeno) e ácido

cafeoilquínico (um ácido clorogênico) são atualmente negociadas na ordem de magnitude maior do que a cafeína, marcando acima de 40 mil reais/kg.

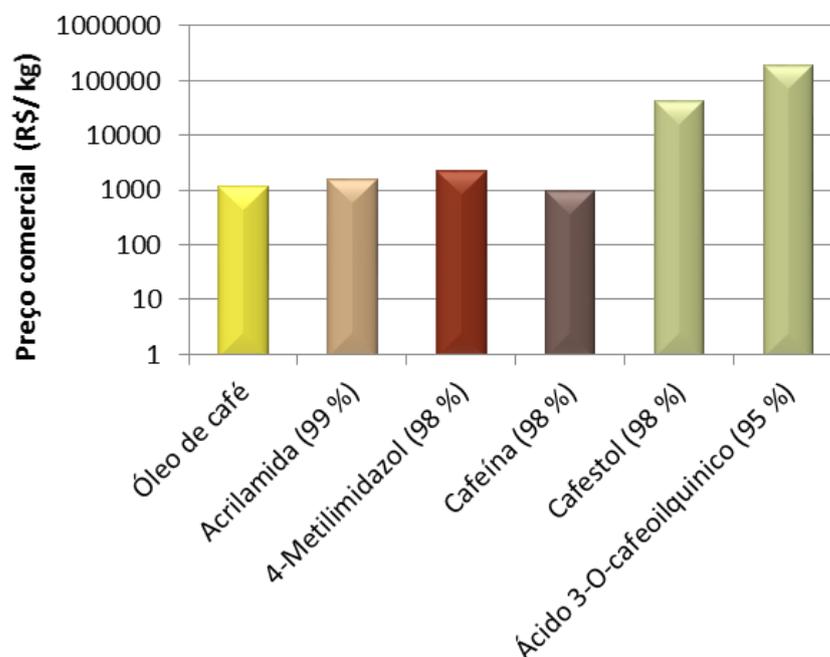


Figura 32-Estimativa de preço comercial de produtos de café propenso a ser obtida por SFE.

Estes indicadores econômicos não devem ser confundidos com os extratos diretamente obtidos via processo de SFE, com exceção de óleo de café todos os outros exigem mais processos de purificação, que dependem de uma certa complexidade, tornando o processo SFE uma única parcela que de uma forma mais global estruturam os custos complexos. Por esta razão, a avaliação econômica de SFE na literatura científica normalmente, deixa a purificação e eventuais etapas acrescentado um custo para fora de equação. O mesmo pode ser dito para a bioatividade dos extratos, que podem ser tomadas como uma consequência indireta da composição.

Óleos especiais, como o óleo de café, são vendidos a um preço mais elevado, devido ao alto custo de investimento da tecnologia de SC-CO<sub>2</sub> (127). Em média, um quinto da produção brasileira de café consiste de grãos defeituosos e vários estudos têm sido desenvolvidos a fim de encontrar uma utilização alternativa para o subproduto, incluindo a aplicação cosmética do óleo extraído (25). As propriedades dos extratos de café obtidos via SFE é um argumento típico para a aplicação desta tecnologia em matrizes vegetais e é uma oportunidade de substituição dos métodos tradicionais, tais como prensagem a frio, hidrodestilação ou destilação a vapor

evitando o uso de solventes orgânicos. A luz da discussão de prós e contras ambientais, metodologias consideradas verdes têm ganhado destaque nos últimos anos, mudando o foco e colocando ênfase sobre o processo para obtenção do extrato e muito menos sobre o potencial de qualidade do extrato que se obtém via SFE. É importante destacar que, com exceção dos casos em que de SC-CO<sub>2</sub> é usado na etapa de *clean up de* uma matéria-prima, extratos obtidos por SFE tendem a ter uma classificação mais elevada de qualidade. Isto se deve por causa da capacidade intrínseca do solvente supercrítico em manter o carácter natural das matrizes vegetais. Porém, isto não é verdade para todos os fluidos supercríticos usados para processar matrizes de origem vegetal (por exemplo, etano (128,129), sendo, assim, esta é uma vantagem que merece destaque específica para o SC-CO<sub>2</sub>. Nos últimos anos, a benignidade do uso de SFE e SC-CO<sub>2</sub> foi abordada do ponto de vista dos extratos resultantes (130). Por exemplo, podemos referir a versatilidade para ajustar as propriedades do produto apenas mudando as condições de funcionamento. Por conseguinte, a operação por SFE pode ser otimizada para alterar a composição dos extratos resultantes a favor de uma funcionalidade alvo, tais como concentração de pigmentos, capacidade antioxidante, poder anti-inflamatório ou mesmo propriedades de bioatividade específicas, tornando-se, portanto, um valioso recurso para engenharia de produtos, ou seja, ajustar parâmetros da extração a fim de se produzir extratos para uma dada aplicação. A este respeito, pode-se citar o caso de SFE de sementes de uva, onde a atividade antioxidante dos extratos pode ser modulada em até 200% apenas por ajuste das condições de extração (131). Nas subseções seguintes, a aplicação e propriedades de diferentes extratos e seus constituintes obtidos por SFE são apresentados e discutidos em termos das propriedades esperadas e melhoramentos de funcionalidades a partir do composto alvo (puro) ou como aditivos/constituintes menores de outros produtos.

**Óleo** - Como discutido anteriormente neste capítulo, o óleo é muitas vezes um nome genérico para as misturas de ingredientes lipofílicos, dos quais os triglicerídeos e ácidos graxos livres são os mais abundantes. Devido a composição rica e alto teor de matéria insaponificável deste produto, o óleo de café verde apresenta importantes propriedades cosméticas, como emoliência, hidratação e efeitos fotoprotetores de radiação UVB (36,132). Como resultado, o óleo de café verde tem sido usado na indústria de cosméticos devido a propriedade emoliente fornecida pelos seus ácidos graxos e sua capacidade de bloquear a radiação UVB prejudicial à pele humana (36,132). Além disso efeitos terapêuticos que envolvem o alívio de eczemas crônicos e a tratamento da dermatite têm sido relatados para ácidos linoleico e linolênico presentes no óleo de café verde (133). Enquanto o café verde é industrialmente interessante

para cosméticos (4,14,132), extratos de café torrado são úteis para aplicações em alimentos, tais como ingredientes aromatizantes (31,52,83). Este produto pode melhorar o potencial aromático, pois age como um ingrediente funcional nutracêuticos em alimentos (134). Óleos essenciais encontram aplicações não só na indústria alimentar, mas também em setores altamente rentáveis, como as indústrias de perfumes e fragrâncias (20). Neste contexto, cinco compostos odorantes de impacto estão disponíveis nos extratos de supercríticos de café torrado: 2-metilpirazina (notas doces), álcool 2-furfurilo (notas de defumadas), 2,5-dimetilpirazina (notas tostadas),  $\gamma$  - butirrolactona (notas doces) e 2-furfuril de etila (notas de nozes). Estes pertencem três classes de compostos (pirazinas, furanos e lactonas) e a sua mistura é conhecida por desempenhar um importante papel olfativo (31). Por sua vez, as utilidades de extratos provenientes de borras de cafés podem ser aplicadas com aditivos em protetores solares, para os quais eles mostram um efeito sinérgico intenso (um aumento de 20% no fator de proteção) e protege a pele dos efeitos do sol, isso quando associado com uma formulação sintética (isto é, etilhexilmetoxicinamato) (26). Ainda na aplicação cosmética, Sung et al (36) avaliaram os potenciais efeitos de branqueamento da pele dos diferentes extratos de borra de café, a fim de identificar as condições ótimas para a extração com fluido supercrítico a partir da perspectiva do efeito final. Além disso, Huang et al (56) avaliou o impacto dos extratos de borra de café obtidos com SC-CO<sub>2</sub> sobre melanogênese (processo de pigmentação da pele). Os resultados apresentados revelam que extrato supercrítico atenuou a melanogênese em células B16F10, provando que poderia ser usado como um agente anti-melanogênese dermatológica em produtos para a pele. Uma utilização alternativa para o óleo de borra de café foi recentemente considerada para o setor de energia, devido ao fato de que as borras de café contêm aproximadamente 15% de óleo e pode ser extraído e convertido em biodiesel por transesterificação. Além disso, os óleos extraídos a partir de resíduos de café usado contêm quantidades elevadas de triglicerídeos que podem ser usados como uma fonte renovável de biodiesel de alta qualidade, devido ao seu alto teor antioxidante (49,135).

**Cafeína** - o alcalóide cafeína extraído do café é um fármaco natural que pode estimular o sistema nervoso central e eventualmente, causar leve dependência. A cafeína tem um efeito sobre o sistema cardiovascular com um ligeiro aumento da pressão arterial e débito cardíaco. Sofre biotransformação no corpo humano formando derivados metilados de ácido úrico (13). Da mesma forma outros compostos presentes em extratos de café, a cafeína tem sido identificada como um potencial agente quimiopreventivo (136), ou seja, faz parte dos agentes químicos naturais que atuam na reversão, bloqueio ou prevenção do surgimento de câncer

(137,138). Estudos relacionam a cafeína como um ingrediente adequado para alcançar uma redução de rugas, proteção da pele e um efeito hidratante (139). Além disso, aplicações da molécula foi relatada na área de cosméticos para o tratamento de alopecia androgenética (AA), onde uma loção que contém cafeína para uso diário mostrou boa compatibilidade com a pele e eficácia no tratamento da alopecia (140). Ainda na área cosmética, uma combinação de produtos de abelha (pólen, própolis, mel ou geleia real) e a cafeína pode ser utilizada em tratamento de feridas e lesões da pele e, mais particularmente, em tratamento de feridas e lesões relacionado com o Vírus Herpes Simplex (HSV) (141), a formulação pode se apresentar na forma de um creme ou gel que é aplicado na pele, mas formas alternativas também são possíveis, tais como um pulverizador, xampu, sabonete, batom ou mesmo na forma de bebida

**Diterpenos** – o kahweol e cafestol são os dois principais ésteres de terpenos presentes na fração lipídica do café e são associados a hipercolesterolemia, efeitos anticâncer e aplicações na proteção solar (36,98). Por outro lado, diterpenos (cafestol e kahweol) possuem atividade anticarcinogênica, no entanto tem sido associada ao aumento do colesterol (98,142).

**Polifenóis** – os ácidos clorogênicos possuem propriedades valiosas para a saúde, como hepatoprotetor, hipoglicêmico e apresentam atividades antivirais. Outros compostos fenólicos, tais como taninos e antocianinas são encontradas em menores teores em grãos de café (91). Da mesma forma que a cafeína, polifenóis (incluindo ácidos clorogênicos) têm sido considerados como bons candidatos para características quimiopreventivas (98).

**Tocoferóis** - tocoferóis ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ) também estão presentes na fração lipídica das matrizes de café e em conjunto com tocotrienóis, como relatado por Gonzalez et al. (143), extratos de óleo de café contem tocoferóis, conhecidos devido a seu potente poder antioxidante, contribuindo para uma complementar atividade antioxidante da bebida. Para concluir esta seção com uma visão panorâmica do potencial subjacente dos produtos obtidos via SFE é apresentada na Tabela 27, que fornece uma sistematização das propriedades em três principais áreas: Nutracêuticos & Alimentos, Cosméticas & Farmacêutica e Energia.

Tabela 27-Resumo das aplicações e respectivas propriedades de compostos propensos a serem extraídos via SFE em amostras de café.

	 Nutracêutica & Alimentos	 Cosméticos & Fármacos	 Energia
Óleo de café verde	<input checked="" type="checkbox"/> Antioxidante	<input checked="" type="checkbox"/> UVB protetor <input checked="" type="checkbox"/> Emoliência <input checked="" type="checkbox"/> Hidratante	
Óleo de café torrado	<input checked="" type="checkbox"/> Antioxidante <input checked="" type="checkbox"/> Ingrediente aromatizante	<input checked="" type="checkbox"/> Creme hidratante <input checked="" type="checkbox"/> Fragrância	
Óleo de borra de café	<input checked="" type="checkbox"/> Antioxidante	<input checked="" type="checkbox"/> UVB Protetor	<input checked="" type="checkbox"/> Biodiesel
Cafeína	<input checked="" type="checkbox"/> Quimiopreventivo <input checked="" type="checkbox"/> Efeito Estimulante	<input checked="" type="checkbox"/> Tratamento das úlceras e lesões cutâneas <input checked="" type="checkbox"/> Tratamento de alopecia androgénica	
Ácidos clorogênicos	<input checked="" type="checkbox"/> Quimiopreventivo		
Diterpenos	<input checked="" type="checkbox"/> Quimiopreventivo		
Polifenóis	<input checked="" type="checkbox"/> Quimiopreventivo <input checked="" type="checkbox"/> Antioxidante	<input checked="" type="checkbox"/> Ingrediente ativo creme para pele	
Tocoferol	<input checked="" type="checkbox"/> Antioxidante	<input checked="" type="checkbox"/> Ingrediente ativo creme para a pele	

Assim, torna-se claro que a categoria Energia é específica para a aplicação de óleo de café proveniente em geral de borras de café e que a maior parte da ênfase foi demonstrada em Nutracêutica e Alimentos através dos setores cosméticos e farmacêutica. Estes setores são

tipicamente abertos à produtos especiais, incluindo produtos biocompatíveis obtidos através de métodos sustentáveis.

## 7.8. Conclusões

O processamento de café através da tecnologia de extração de fluido supercrítico é um tema com mais de 50 anos de pesquisa e exploração industrial. Devido à multiplicidade de aplicações e objetivos que ela pode abranger, ainda possui margem de progresso considerável para consolidação como campo de pesquisa. Este capítulo abordou as três diferentes etapas de matrizes de café que podem ser objeto de SFE, nomeadamente café cru, café torrado e borra de café, que foram sistematizados de acordo com os objetivos de extração, como produção de óleo essencial, *clean up* de matérias-primas (compostos nocivos), descafeinação e controle de qualidade de amostras de café. As publicações pesquisadas totalizaram 38 artigos, com média de publicação no ano de 2008. No entanto, a SFE aplicada em borra de café parece ser um dos tópicos mais recentes (média de publicação ano de 2014), o que contrasta fortemente com os valores médios de 2004 para o café torrado e de 2002 para o café verde. Por sua vez, torna-se evidente que a SFE de cafeína ou aroma são tópicos de pesquisa mais antigos, uma vez que as publicações medias não ultrapassam o ano de 2002. Outro aspecto sistematizado neste capítulo são as famílias químicas (e os compostos) propensas a ocorrer em extratos de SFE, sendo esses lipídios (isto é, triglicerídeos, ésteres de terpeno, acilgliceróis, ácidos graxos livres, esteróis livres, ésteres de esteróis, ceras, etc. ), cafeína, compostos fenólicos (com ácidos clorogênicos como constituintes principais), diterpenos (cafestol, kahweol e 16-O-metilcafestol), mas também acrilamida e imidazóis (compostos que são nocivos para seres humanos e, portanto, indesejados). A conexão histórica entre a tecnologia SFE e a indústria do café foi especialmente destacada, nomeadamente discutindo aspectos do processo de descafeinação via SC-CO<sub>2</sub>, que é uma das primeiras aplicações de SFE em matrizes vegetais. Isso foi complementado por uma comparação entre os processos de escala industrial existentes e os atuais processos/unidades de escala laboratorial dos quais a maioria dos trabalhos da literatura científica se baseiam. A operação das unidades de SFE também foi coberta, com ênfase especial nas melhores condições de operação e temperatura dos manuscritos compilados, incluindo uma distribuição das densidades de SC-CO<sub>2</sub>. Foi também discutido aspectos como a taxa de fluxo, o tamanho de partícula e o uso de co-solvente. Uma seção específica foi dedicada à questão da solubilidade dos extrativos em SC-CO<sub>2</sub> como função de algumas condições de operação. Sendo assim, concluiu-se que os processos SFE podem ser favorecidos com valores aumentados de pressão

e temperatura e co-solventes (etanol), mas também que a pressões superiores a 300 bar, o comportamento de solubilidade do óleo de café é aparentemente independente da temperatura. Finalmente, também foi demonstrado que uma maior afinidade de lipídios, aroma e diterpenos pode ser esperada, em contraste com acrilamida, cafeína e CGA.

Aspectos econômicos dos extratos de café obtidos via SFE foi abordada, incluindo sua interação com diferentes parâmetros técnicos. Finalmente, a estimativa de preços comerciais de produtos prontos a serem obtidos a partir de matrizes de café também foi apresentada como um sinal do potencial de valorização desta matéria-prima.

O capítulo termina com a identificação de três áreas principais para os extratos obtidos com SFE, nomeadamente Nutracêutico & Alimentos, Cosméticos & Fármacos e Energia. Consequentemente, a energia parece ser uma aplicação alternativa para o óleo de café e a maioria dos potenciais parece confiar em características antioxidantes, quimiopreventivas e aromatizantes, ou nas características de proteção contra radiação UVB, emoliência, óleos essenciais e hidratação. Em geral, espera-se que estas análises ajudem os pesquisadores e indústrias em seus esforços para valorizar e explorar ainda mais as matrizes de café, bem como promover ainda mais as abordagens de valorização orientadas para SFE para outras matrizes vegetais importantes da indústria de alimentos.

## 7.9. Referências

- 1 Toledo, P.; Pezza, L.; et al. Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. **Reviews in Food Science and Food Safety**, 2016.
- 2 Heath, R.D., Brahmhatt, M., Tahan, A.C., Ibdah, J.A., & Tahan, V. (2017). Coffee: The magical bean for liver diseases. **World Journal of Hepatology**, 9(15), 689–696.
- 3 Wierzejska, R. Can coffee consumption lower the risk of Alzheimer's disease and Parkinson's disease? A literature review. **Arch Med Sci**, v. 13, n. 3, p. 507–514, 2016.
- 4 Grosso, G.; Godos, J.; et al. Coffee, Caffeine, and Health Outcomes: An Umbrella Review. **Annual Review of Nutrition**, v. 37, n. 1, p. 131–156, 2017.
- 5 Jeszka-Skowron, M., Zgoła-Grześkowiak, A., & Grześkowiak, T. (2014). Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. **European Food Research and Technology**, 240(1), 19–31.
- 6 Anastopoulos, I., Karamesouti, M., Mitropoulos, A.C., & Kyzas, G.Z. (2017). A review for coffee adsorbents. **Journal of Molecular Liquids**, 229, 555–565.
- 7 Baiocco, D.; Lavecchia, R.; et al. Production of Metal Nanoparticles by Agro-Industrial Wastes: A Green Opportunity for Nanotechnology. **Chemical Engineering**, v. 47, 2016.
- 8 Dugmore, T.I.J.; Clark, J.H.; et al. Valorisation of Biowastes for the Production of Green Materials Using Chemical Methods. **Topics in current chemistry (Journal)**, v. 375, n. 2, p. 46, 2017.

- 9...Ravindran, R. & Jaiswal, A.K. (2016). Exploitation of Food Industry Waste for High-Value Products. **Trends in Biotechnology**, 34(1) , 58–69.
- 10...Hughes, S.R., López-Núñez, J.C., Jones, M.A., Moser, B.R., Cox, E.J., Lindquist, M., Galindo-Leva, L.Á., Riaño-Herrera, N.M., Rodríguez-Valencia, N., Gast, F., Cedeño, D.L., Tasaki, K., Brown, R.C., Darzins, A., & Brunner, L. Sustainable conversion of coffee and other crop wastes to biofuels and bioproducts, **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 20, p. 8413-8431, 2014.
- 11 Dugmore, T.I.J.; Clark, J.H.; et al. Valorisation of Biowastes for the Production of Green Materials Using Chemical Methods. **Topics in current chemistry (Journal)**, v. 375, n. 2, p. 46, 2017.
- 12 Zosel, K. (1974). **Process for recovering caffeine**.
- 13 Ramalakshmi, K.; Raghavan, B. Caffeine in Coffee: Its Removal. Why and How? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 39, n. 5, p. 441–456, 1999.
- 14 Azevedo, A.B.A. de; Kieckbush, T.G.; et al. Extraction of green coffee oil using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 44, n. 2, p. 186–192, 2008.
- 15 Tello, J.; Viguera, M.; et al. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 59, p. 53–60, 2011.
- 16 Andrade, K.S.; Gonálvez, R.T.; et al. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. **Talanta**, v. 88, p. 544–552, 2012.
- 17 Birtigh, A.; Johannsen, M.; et al. Supercritical-fluid extraction of oil-palm components. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 8, n. 1, p. 46–50, 1995.
- 18 Lucas, A. de; la Ossa, E.M. de; et al. Supercritical fluid extraction of tocopherol concentrates from olive tree leaves. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 22, n. 3, p. 221–228, 2002.
- 19 Melo, M.M.R. de; Oliveira, E.L.G.; et al. Supercritical fluid extraction of triterpenic acids from *Eucalyptus globulus* bark. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 70, p. 137–145, 2012.
- 20 Palmer, M.V.M.; Ting, S.S.T. Applications for supercritical fluid technology in food processing. **Food Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 345–352, 1995.
- 21 United States Patent **US1191**. p. 1–5, 1991.
- 22 Machmudah, S.; Kitada, K.; et al. Simultaneous Extraction and Separation Process for Coffee Beans with Supercritical CO<sub>2</sub> and Water. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, p. 2227–2235, 2011.
- 23 Peker, H.; Srinivasan, M.P.; et al. Caffeine extraction rates from coffee beans with supercritical carbon dioxide. **AIChE Journal**, v. 38, n. 5, p. 761–770, 1992.
- 24 Katz, S.N. **Method for decaffeinating coffee with a supercritical fluid**. Google Patents, 1989.
- 25 Marto, J.; Gouveia, L.F.; et al. The green generation of sunscreens: Using coffee industrial sub-products. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 93–100, 2016.
- 26 Chiari, B.G.; Trovatti, E.; et al. Synergistic effect of green coffee oil and synthetic sunscreen for health care application. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 389–393, 2014.
- 27 Azevedo, A.B.A. De; Mazzafera, P.; et al. Extraction of caffeine, chlorogenic acids and lipids from green coffee beans using supercritical carbon dioxide and co-solvents. **Brazilian Journal of**

**Chemical Engineering**, v. 25, n. 3, p. 543–552, 2008.

- 28 Azevedo, Á.B.A. de; Kieckbusch, T.G.; et al. Supercritical CO<sub>2</sub> recovery of caffeine from green coffee oil: new experimental solubility data and modeling. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1319–1323, 2008.
- 29 Chen, Y.; Brown, P.H.; et al. Supercritical CO<sub>2</sub> Decaffeination of Unroasted Coffee Beans Produces Melanoidins with Distinct NF-κB Inhibitory Activity. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 7, p. 182–186, 2011.
- 30 Oliveira, A.L.; Silva, S.S.; et al. Sensory and yield response surface analysis of supercritical CO<sub>2</sub> extracted aromatic oil from roasted coffee. **Journal of food science and technology**, v. 38, n. 1, p. 38–42, 2001.
- 31 Oliveira, A.L. De; Cabral, F.A.; et al. Sensory evaluation of black instant coffee beverage with some volatile compounds present in aromatic oil from roasted coffee. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 76–80, 2009.
- 32 Ramos, E.; Valero, E.; et al. Obtention of a brewed coffee aroma extract by an optimized supercritical CO<sub>2</sub>-based process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4011–4016, 1998.
- 33 Karlsson, H.O.E.; Trägårdh, G. Aroma recovery during beverage processing. **Journal of Food Engineering**, v. 34, n. 2, p. 159–178, 1997.
- 34 Mussatto, S.I.; Ballesteros, L.F.; et al. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. **Separation and Purification Technology**, v. 83, n. 1, p. 173–179, 2011.
- 35 Sarrazin, C.; Quéré, J.L. Le; et al. Representativeness of coffee aroma extracts: A comparison of different extraction methods. **Food Chemistry**, v. 70, n. 1, p. 99–106, 2000.
- 36 Sung, H.M.; Jung, H.J.; et al. Skin whitening activity of supercritical fluid extract from spent coffee in B16F10 melanoma cell. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 3, p. 1087–1096, 2015.
- 37 Cruz, M. V.; Paiva, A.; et al. Production of polyhydroxyalkanoates from spent coffee grounds oil obtained by supercritical fluid extraction technology. **Bioresource Technology**, v. 157, p. 360–363, 2014.
- 38 Lojková, L.; Klejdus, B.; et al. Supercritical fluid extraction (SFE) of 4(5)-methylimidazol (4-MeI) and 2-acetyl-4(5)-(1,2,3,4)-tetrahydroxybutyl-imidazol (THI) from ground-coffee with high-performance liquid chromatographic-electrospray mass spectrometric quantification (HPLC/ESI-MS). **Food additives and contaminants**, v. 23, n. 10, p. 963–73, 2006.
- 39 Lucas, S.; Cocero, M.J. Improvement of soluble coffee aroma using an integrated process of supercritical CO<sub>2</sub> extraction with selective removal of the pungent volatiles by adsorption on activated carbon. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 2, p. 197–203, 2006.
- 40 Elisabeth, P.; Yoshioka, M.; et al. Infrared and Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry of Caffeine in Roasted Coffee Beans after Separation by Preparative Supercritical Fluid Chromatography. **Analytical Sciences**, v. 7, n. June, p. 427–431, 1991.
- 41 Sugiyama, K.; Saito, M.; et al. New double-stage separation analysis method: Directly coupled laboratory-scale supercritical fluid extraction—supercritical fluid chromatography, monitored with a multiwavelength ultraviolet detector. **Journal of Chromatography A**, v. 332, p. 107–116, 1985.
- 42 Peter, H. & Otto, V. (1975). Process for the decaffeination of raw coffee.
- 43 Ahangari, B.; Sargolzaei, J. Extraction of lipids from spent coffee grounds using organic solvents

and supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 37, n. 5, p. 1014–1021, 2013.

44 Akgün, N.A.; Bulut, H.; et al. Extraction behavior of lipids obtained from spent coffee grounds using supercritical carbon dioxide. **Chemical Engineering and Technology**, v. 37, n. 11, p. 1975–1981, 2014.

45 Couto, R.M.; Fernandes, J.; et al. Supercritical fluid extraction of lipids from spent coffee grounds. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 2, p. 159–166, 2009.

46 Melo, M.M.R. de; Barbosa, H.M.A.; et al. Supercritical fluid extraction of spent coffee grounds: Measurement of extraction curves, oil characterization and economic analysis. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 86, p. 150–159, 2014.

Roselius, W., Vitzthum, O., & Hubert, P. (1982). Method of extracting coffee oil containing aroma constituents from roasted coffee.

48 Sandi, D.; Araújo, J.M.A.; et al. Modeling oil extraction from green and roasted coffee by means of supercritical CO<sub>2</sub>. **International Journal of Food Engineering**, v. 8, n. 1, 2012.

49 Manna, L.; Bugnone, C.A.; et al. Valorization of hazelnut, coffee and grape wastes through supercritical fluid extraction of triglycerides and polyphenols. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 204–211, 2015.

50 Barbosa, H.M.A.; Melo, M.M.R. de; et al. Optimization of the supercritical fluid coextraction of oil and diterpenes from spent coffee grounds using experimental design and response surface methodology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 85, p. 165–172, 2014.

51 Oliveira, P.M.A. de; Almeida, R.H. de; et al. Enrichment of diterpenes in green coffee oil using supercritical fluid extraction – Characterization and comparison with green coffee oil from pressing. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 137–145, 2014.

52 Lucas, S.; Cocero, M.J.; et al. Adsorption isotherms for ethylacetate and furfural on activated carbon from supercritical carbon dioxide. **Fluid Phase Equilibria**, v. 219, n. 2, p. 171–179, 2004.

53 Mussatto, S.I.; Machado, E.M.S.; et al. Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 5, p. 661–672, 2011.

54 Machado, C.M.M.; Soccol, C.R.; et al. Gibberellic acid production by solid-state fermentation in coffee husk. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 102, n. 1–6, p. 179–191, 2002.

55 Barbosa, H.M.A.A.; Melo, M.M.R.R. de; et al. Optimization of the supercritical fluid coextraction of oil and diterpenes from spent coffee grounds using experimental design and response surface methodology. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 85, p. 165–172, 2014.

56 Huang, H.C.; Wei, C.M.; et al. Supercritical Fluid Extract of Spent Coffee Grounds Attenuates Melanogenesis through Downregulation of the PKA, PI3K/Akt, and MAPK Signaling Pathways. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, 2016.

57 Heßmann-K. A.. Kaffee-Der G.M.. Seine positiven Wirkungen auf Körper und Seele-Mit neuesten medizinischen Erkenntnissen. **Mosaik Verlag**, 2009.

58 Getachew, A.T.; Chun, B.S. Optimization of coffee oil flavor encapsulation using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 70, p. 126–134, 2016.

59 Hurtado-Benavides, A.; Dorado, D.A.; et al. Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 113, n. October, p. 44–52, 2016.

- 60 Hurtado, A.; Dorado, D. Study of the yield and fatty acid profile of coffee (*coffea arabica*) oil from roasted beans obtained with supercritical carbon. **Nupeg.Ufrn.Br**, p. 1–10, 2013.
- 61 Hernandez, C.E.; Chen, H.H.; et al. Direct lipase-catalyzed lipophilization of chlorogenic acid from coffee pulp in supercritical carbon dioxide. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 3, p. 359–365, 2009.
- 62 Dean, J.R.; Liu, B.; et al. Supercritical Fluid Extraction of Caffeine from Instant Coffee. **Methods**, v. 13, p. 17–22, 1964.
- 63 Cornelio-Santiago, H.P.; Gonçalves, C.B.; et al. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil from green coffee beans: Solubility, triacylglycerol composition, thermophysical properties and thermodynamic modelling. **The Journal of Supercritical Fluids**, 2017.
- 64 Prasad, Ravi, Martin Gottesman, and Robert A. Scarella. "Decaffeination of aqueous roasted coffee extract." U.S. Patent No. 4,341,804. 27 Jul. 1982..
- 65 Applewhite, T.H. **Proceedings of the world conference on oilseed technology and utilization**. The American Oil Chemists Society, 1993.
- 66 Vedaraman, N.; Brunner, G.; et al. Solubility of N-CBZ derivatised amino acids in supercritical carbon dioxide. **The Journal of supercritical fluids**, v. 30, n. 2, p. 119–125, 2004.
- 67 Klejdus, B.; Lojková, L.; et al. Supercritical fluid extraction of amino acids from birch (*Betula pendula* Roth) leaves and their liquid chromatographic determination with fluorimetric detection. **Journal of separation science**, v. 31, n. 8, p. 1363–1373, 2008.
- 68 Ding, X.; Liu, Q.; et al. Supercritical Fluid Extraction of Metal Chelate: A Review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 99–118, 2017.
- 69 Babel, S.; Mundo Dacera, D. del Heavy metal removal from contaminated sludge for land application: a review. **Waste Management**, v. 26, n. 9, p. 988–1004, 2006.
- 70 Ludwig, H., Obermann H. & Spiteller, G. Ludwig, H., Obermann H. & Spiteller, G. (1975) On new diterpenes found in coffee. In: **Proceedings of the 7th ASIC Colloquium (Hamburg)**. Paris, France: 1975, p. 205–210.
- 71 Bradbury, A.G.W., Balzer, H.H. Carboxyatractyligenin and atractyligenin glycosides in coffee. In: **International Colloquium on the Chemistry of Coffee**. 1999,
- 72 Maier, H.G.; Wewetzer, H. Determination of diterpene glycosides in coffee (author's transl). **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung**, v. 167, n. 2, p. 105–107, 1978.
- 73 Maness, N. Extraction and analysis of soluble carbohydrates. **Plant Stress Tolerance: Methods and Protocols**, p. 341–370, 2010.
- 74 Palma, M.; Taylor, L.T.; et al. Supercritical fluid extraction of grape glycosides. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 3, p. 775–779, 2000.
- 75 Moore, W.N.; Taylor, L.T. Extraction and quantitation of digoxin and acetyldigoxin from the *Digitalis lanata* leaf via near-supercritical methanol-modified carbon dioxide. **Journal of natural products**, v. 59, n. 7, p. 690–693, 1996.
- 76 Nikolova-Damyanova, B.; Velikova, R.; et al. Lipid classes, fatty acid composition and triacylglycerol molecular species in crude coffee beans harvested in Brazil. **Food research international**, v. 31, n. 6, p. 479–486, 1998.
- 77 Folstar, P.; Clarke, R.J.; et al. Coffee: chemistry. **Coffee: chemistry**, 1985.

- 78 Erickson, D.R. **Edible fats and oils processing: basic principles and modern practices: World Conference Proceedings**. The American Oil Chemists Society, 1990.
- 79 Desai, B.B.; others **Handbook of nutrition and diet**. Marcel Dekker, 2000.
- 80 Campos-Vega, R.; Loarca-Piña, G.; et al. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 1, p. 24–36, 2015.
- 81 Garlapati, C.; Madras, G. Solubilities of palmitic and stearic fatty acids in supercritical carbon dioxide. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 42, n. 2, p. 193–197, 2010.
- 82 Al-Darmaki, N.; Lu, T.; et al. Solubility measurements and analysis of binary, ternary and quaternary systems of palm olein, squalene and oleic acid in supercritical carbon dioxide. **Separation and purification technology**, v. 83, p. 189–195, 2011.
- 83 Oliveira, A.L. De; Cruz, P.M.; et al. Brazilian roasted coffee oil obtained by mechanical expelling: compositional analysis by GC-MS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 677–682, 2005.
- 84 Márquez-Ruiz, G., Velasco, J. n, et al. Oxidation in dried microencapsulated oils. In: **Lipid oxidation pathways**. AOCS Publishing, 2003,
- 85 Ky, C.-L.; Louarn, J.; et al. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. **Food chemistry**, v. 75, n. 2, p. 223–230, 2001.
- 86 Rogers, P.J.; Richardson, N.J. Why do we like drinks that contain caffeine? **Trends in Food Science & Technology**, v. 4, n. 4, p. 108–111, 1993.
- 87 DuFrene, B. & Rubinstein, A. (2010). Market update 2010 delving into decaf. **Tea & coffee trade online** 182 (7).
- 88 Brunner, G. Mass Transfer from Solid Material in Gas Extraction. v. 891, p. 887–891, 1984.
- 89 Pandey, A.; Soccol, C.R.; et al. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 6, n. 2, p. 153–162, 2000.
- 90 Lepelley, M.; Cheminade, G.; et al. Chlorogenic acid synthesis in coffee: An analysis of CGA content and real-time RT-PCR expression of HCT, HQT, C3H1, and CCoAOMT1 genes during grain development in *C. canephora*. **Plant Science**, v. 172, n. 5, p. 978–996, 2007.
- 91 Farah, A.; Donangelo, C.M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 23–36, 2006.
- 92 Iwai, K.; Kishimoto, N.; et al. In vitro antioxidative effects and tyrosinase inhibitory activities of seven hydroxycinnamoyl derivatives in green coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4893–4898, 2004.
- 93 Saewan, N.; Jimtaisong, A. Photoprotection of natural flavonoids. 2013.
- 94 Azevedo, A.B.A. de Extração e Recuperação dos Princípios Ativos do Café Utilizando Fluidos Supercríticos. 2005.
- 95 Rubayiza, A.B.; Meurens, M. Chemical discrimination of arabica and robusta coffees by Fourier transform Raman spectroscopy. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 12, p. 4654–4659, 2005.
- 96 Perrone, D.; Farah, A.; et al. Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 859–

867, 2008.

97 Speer, K.; Kölling-Speer, I. The lipid fraction of the coffee bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 201–216, 2006.

98 Cavin, C.; Holzhaeuser, D.; et al. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 8, p. 1155–1163, 2002.

99 Bagdonaite, K.; Derler, K.; et al. Determination of acrylamide during roasting of coffee. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 15, p. 6081–6086, 2008.

100 Guenther, H.; Anklam, E.; et al. Acrylamide in coffee: review of progress in analysis, formation and level reduction. **Food additives and contaminants**, v. 24, n. sup1, p. 60–70, 2007.

101 FDA (2006). Survey data on acrylamide in Food: Individual food products.

102 Vávrová, J.; Mareková-\vRezáčová, M.; et al. Caffeine induces a second wave of apoptosis after low dose-rate gamma radiation of HL-60 cells. **Radiation and environmental biophysics**, v. 42, n. 3, p. 193–199, 2003.

103 Yeretzyan, C.; Jordan, A.; et al. Analysing the *Headspace* of coffee by proton-transfer-reaction mass-spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 223–224, p. 115–139, 2003.

104 Vitzthum, O.G. Thirty years of coffee chemistry research. In: **Flavor Chemistry**. Springer, 1999, p. 117–133.

105 Toledo, P.R.A.B., de Melo, M.M.R, Pezza, H.R., Toci, A.T., Pezza, L., Silva, C.M. Discriminant analyses to unveil the origins of roasted coffee samples: a tool for a comprehensive quality control of coffee related products. **Journal of Food Engineering**,

106 Toledo, P.R.A.B. de; Melo, M.M.R. de; et al. Reliable discriminant analysis tool for controlling the roast degree of coffee samples through chemical markers approach. **European Food Research and Technology**, p. 1–8, 2016.

107 Toledo, P.R.A.B., de Melo, M. M.R., Pezza H.R., Toci, A.T., Pezza L., S.C.M. Control of coffee samples quality - Geographic and Roasting Factors. In: N Publications (Ed.); **Coffee: Production, Consumption and Health Benefits**. 2016, p. 51–66.

108 Schabbel, R.. *Coffee roasting plant with automatic sampling arrangement*. U.S. Patent No 3,673,700, 1972.

109 Reverchon, E. Supercritical antisolvent precipitation of micro- and nano-particles. **The journal of supercritical fluids**, v. 15, n. 1, p. 1–21, 1999.

110 Sabirzyanov, A.N.; Il'in, A.P.; et al. Solubility of water in supercritical carbon dioxide. **High Temperature**, v. 40, n. 2, p. 203–206, 2002.

111 McHugh, M.A.; Krukonis, V.J. **Supercritical fluid extraction : principles and practice**. Butterworth-Heinemann, 1994.

112 Lavazza (1990). National Organic Program and Organic Production Act.

113 Natex (1992). Decaffeination plant.

114 Melo, M.M.R. De; Silvestre, A.J.D.; et al. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 115–176, 2014.

- 115 Moon, J.K.; Shibamoto, T. Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 13, p. 5823–5831, 2009.
- 116 Dedecca, D. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Typica Cramer. **Bragantia (Brasil)** v. 16 (23) p. 315-366, 1957.
- 117 Guerreiro F. *Coffea racemosa* Lour, une revue: **Café, Cacao, Thé (Francia)** v.36(3) p. 171-186, 1992.
- 118 Severini, C.; Derossi, A.; et al. How the variance of some extraction variables may affect the quality of espresso coffees served in coffee shops. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 9, p. 3023–3031, 2016.
- 119 Fiori, L. Grape seed oil supercritical extraction kinetic and solubility data: Critical approach and modeling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, n. 1, p. 43–54, 2007.
- 120 Melo, M.M.R. de; Şen, A.; et al. Experimental and modeling study of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Quercus cerris* cork: Influence of ethanol and particle size on extraction kinetics and selectivity to friedelin. **Separation and Purification Technology**, v. 187, p. 34–45, 2017.
- 121 Giddings, J.C.; Myers, M.N.; et al. High Pressure Gas Chromatography of Nonvolatile Species. **Science**, v. 162, n. 3849, 1968.
- 122 McLaren, L.; Myers, M.N.; et al. Dense-Gas Chromatography of Nonvolatile Substances of High Molecular Weight. **Science**, v. 159, n. 3811, 1968.
- 123 King, J.W. Modern supercritical fluid technology for food applications. **Annual review of food science and technology**, v. 5, p. 215–238, 2014.
- 124 Hansen, C.M. **Hansen solubility parameters: a user's handbook**. CRC press, 2007.
- 125 Bitencourt, R.G.; Ferreira, N.J.; et al. High pressure phase equilibrium of the crude green coffee oil-CO<sub>2</sub>-ethanol system and the oil bioactive compounds. **The Journal of Supercritical Fluids**, 2017.
- 126 Temelli, F. Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils. **The Journal of Supercritical Fluids**, 2009.
- 127 Andreia F.Silva; Marcelo M.R. de Melo; Carlos M. Silva Supercritical solvent selection (CO<sub>2</sub> versus ethane) and optimization of operating conditions of the extraction of lycopene from tomato residues: Innovative analysis of extraction curves by a response surface methodology and cost of manufacturing hybrid ap. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 618–627, 2014.
- 128 Nobre, B.P.; Gouveia, L.; et al. Supercritical Extraction of Lycopene from Tomato Industrial Wastes with Ethane. **Molecules**, v. 17, n. 12, p. 8397–8407, 2012.
- 129 Melo, M.M.R. de, Portugal, I., et al. Environmentally Benign Supercritical Fluid Extraction. In: **The Application of Green Solvents in Separation Processes**. Elsevier, 2017, p. 325–348.
- 130 P.Passos, C.; M.Silva, R.; et al. Supercritical fluid extraction of grape seed (*Vitis vinifera* L.) oil. Effect of the operating conditions upon oil composition and antioxidant capacity. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 2, p. 634–640, 2010.
- 131 Wagemaker, T.A.L.; Carvalho, C.R.L.; et al. Sun protection factor, content and composition of lipid fraction of green coffee beans. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 2, p. 469–473, 2011.
- 132 Beveridge, T.; Li, T.; et al. Sea buckthorn products: manufacture and composition. **Journal of**

**agricultural**, 1999.

133 Frascareli, E.; Silva, V.; et al. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. **Food and bioproducts**, 2012.

134 Kondamudi, N.; Mohapatra, S.K.; et al. Spent coffee grounds as a versatile source of green energy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 24, p. 11757–11760, 2008.

135 Rothwell, K. Dose-related inhibition of chemical carcinogenesis in mouse skin by caffeine. **Nature**, 1974.

136 Flora, S. De; Ramel, C. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview. **Mutation Research/Fundamental and Molecular**, 1988.

137 Harris, C. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990s. **Cancer Research**, 1991.

138 Victor Silva, Andrew Szczesiul, G.R. (2002). Skin cream.

139 Bussoletti, C.; Mastropietro, F.; et al. Use of a cosmetic caffeine lotion in the treatment of male androgenetic alopecia. **Journal of Applied Cosmetology**, v. 29, n. 4, p. 167–179, 2011.

140 Gee, G. (2003). Method for treatment of sores and lesions of the skin.

141 Aro, A.; Kostianen, E.; et al. Effects of coffee and tea on lipoproteins and prostanoids. **Atherosclerosis**, 1985.

142 González, A.; Pablos, F.; et al. HPLC analysis of tocopherols and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters. **Food Chemistry**, 2001.

143 Alves, R.C.; Casal, S.; et al. Health benefits of coffee: Myth or reality? **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2169–2180, 2009.

## **Capítulo 8– Otimização da metodologia de SFE para extração de compostos voláteis em café torrado.<sup>9</sup>**

---

<sup>9</sup> O presente capítulo foi transcrito do manuscrito para publicação no *The Journal of Supercritical Fluids*: Toledo, P. R.A.B., de Melo, M. M., Pezza, H. R., Toci, A. T., Pezza, L., & Silva, C. M. (2018). Optimization of SFE operational parameters for the extraction of aromatic extracts of coffee with added value.

## 8.1. Introdução

Estudos a respeito da composição aromática de alimentos, tradicionalmente, incluem extratos que essencialmente tenham características sensoriais tão próximas quanto possíveis dos alimentos completos. O estudo do aroma dos alimentos geralmente envolve o conhecimento detalhado da composição de seu respectivo extrato aromático. Os extratos de café ricos em frações aromáticas e lipídicas são normalmente chamados de "óleo aromatizado". O conteúdo médio de lipídeos de extratos originados de *C. arabica* é mais elevada do que *C. canephora*, 15% vs. 10%, respectivamente (1). O extrato oleoso de café torrado é considerado um produto de alto valor agregado, devido às inúmeras aplicações que vão desde o uso em cafés instantâneos, cafés enlatados, *iced coffee*, cappuccinos, sobremesas, sorvetes, pudins e doces, ou até o uso de óleo de café em formulações cosméticas e farmacêuticas, para a manutenção das propriedades da pele, onde o óleo atua como agente propiciador de atividades de regeneração e como ingrediente ativo em protetores solares (2–4).

A fração aromática de café é de extrema complexidade e envolve mais de 1000 compostos voláteis, com uma ampla gama de grupos funcionais (5,6). Adicionalmente, nos últimos anos, vários estudos se concentraram nos constituintes odoríferos responsáveis pelo aroma e qualidade do café (7–10). Nesse contexto, a extração via fluido supercrítico (SFE) é uma tecnologia promissora com perspectivas viáveis para vários novos produtos. Os processos de extração envolvendo o dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>) podem ser operados a temperaturas moderadas o que é uma questão essencial para a preservação de compostos lábeis presentes em extratos de matrizes alimentares. Adicionalmente, melhorias de seletividade significantes podem ser obtidas quando ocorre segmentação dos compostos específicos através da SFE (11). No entanto, este fato só é possível mediante uma combinação otimizada das condições operacionais de SFE com as características físicas intrínsecas e composição química da matriz em estudo.

No conjunto, este capítulo destina-se a estudar a influência da pressão, temperatura e co-solvente (etanol) no rendimento da extração de óleo aromático de cafés brasileiros, bem como identificar as condições de extração que melhoram a concentração de compostos voláteis presentes na fração aromática.

## **8.2. Materiais e Métodos**

### **8.2.1. Amostras**

Um total de 29 amostras de cafés arábica (*Coffea arabica*), certificados pela Associação Brasileira das Indústrias do Café (ABIC) e por Cooperativas Regionais, foram analisados. Os cafés analisados possuem os selos de qualidade *Gourmet*, *Superior* ou *Tradicional* pela classificação da ABIC. Estes foram divididos entre os quatro estados brasileiros de maior produção de café arábica: Minas Gerais (MG), Bahia (BA), Paraná (PR) e São Paulo (SP).

### **8.2.2. Torrefação das amostras**

Alíquotas de aproximadamente 100 g das amostras de café foram torradas em um torrador comercial de leito de jorro (i-Roast<sup>®</sup> Modelo No. 40011, Hearthware Home Products, EUA). Cada amostra foi torrada durante 5 minutos usando um programa de temperatura de 3 min a 196 °C e 2 min a 235°C, resultando em um grau de cor média clara de acordo com o Sistema de Classificação AGTRON. A torrefação foi realizada em duplicata, todas as amostras foram moídas em partículas de diâmetro  $\leq 300 \mu\text{m}$ .

### **8.2.3. Extração Soxhlet**

Amostras de 10 g de café foram pesadas em cartucho de Soxhlet e extraídas com diclorometano durante 6 h a aproximadamente 45° C. No final da extração, o solvente foi recuperado por evaporação rotativa a 40° C e o extrato resultante foi então pesado. Os resultados foram expressos em porcentagem em massa de extrato seco e foram usados como referência para as extrações de fluidos supercríticos.

### **8.2.4. Extração Supercrítica**

As extrações supercríticas foram realizadas no extrator Applied Separations (modelo Spe-de SFE). O CO<sub>2</sub> é primeiramente liquefeito em um banho refrigerado e então pressurizado através de uma bomba de ar comprimido até o extrator de alta pressão. O solvente é mantido a temperatura de extração fixada e a pressão é regulada de acordo com os parâmetros adotados. As válvulas e as linhas adjacentes são aquecidas para evitar o bloqueio da linha e congelamento do CO<sub>2</sub>, permitindo o recolhimento do extrato em um separador. Em cada experimento 50 g de café eram introduzidos no recipiente de extração, sendo aplicado um fluxo de CO<sub>2</sub> constante a

uma taxa de  $10 \text{ g min}^{-1}$ . Os extratos eram coletados e recuperados em um frasco contendo etanol, onde a corrente de efluente da descompressão foi submersa no solvente no frasco de coleta para se evitar perdas de compostos voláteis. No final de cada experimento, o conteúdo do frasco coletor era evaporado no vaporizador rotativo.

### 8.2.5. Extração por *Headspace*-SPME

Utilizando-se a técnica de *Headspace*-SPME eliminam-se etapas de pré-concentração, pois realiza-se a extração dos analitos diretamente na fibra. A técnica de *Headspace*-SPME é também um método muito sensível e seletivo, pois detecta compostos com concentrações até  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e pode-se escolher a fase estacionária mais seletiva para os compostos (12).

Na técnica de SPME as moléculas voláteis são extraídas por adsorção na matriz da fibra, obedecendo ao fenômeno físico-químico de equilíbrio de partição gás-sólido, pois resistências às transferências de massa devem ser vencidas. Portanto, a técnica de SPME baseia-se na cinética de transferência de massa entre fases e na termodinâmica que descreve o equilíbrio de partição do analito entre elas (12). Sendo assim, não é uma técnica exaustiva de extração. Sendo esta técnica indicada para analitos de média e alta volatilidade.

A extração por SPME tem início pelo confinamento da fração volátil no *Headspace* do recipiente (em geral, *vials*) que contém a amostra. Alguns tempos de equilíbrio devem ser obedecidos, como o tempo de equilíbrio da amostra dentro dos *vials* e o tempo para adsorção dos compostos voláteis na fibra (13–15). Estes equilíbrios são fatores que influenciam diretamente a reprodutibilidade e repetitividade dos resultados. A eficácia da análise utilizando a técnica de SPME depende de muitos parâmetros tais como: tipo de fibra, volume da amostra, temperatura e tempo de extração e dessorção dos analitos da fibra.

Foi realizado o *Headspace*-SPME do extrato de café. Aproximadamente 2 g de extrato foram selados em um *vial* de 12 mL, submersos em um banho de água a  $60^\circ \text{C}$  e sujeitos a um pré-equilíbrio de 10 min. A fibra SPME utilizada foi a de tripla fase DVB/Carboxeno/PDMS (Divinilbenzeno/Carboxeno/Polidimethylsiloxano) da marca Supelco (Milan, Italy), devido ao fato de adsorver uma ampla gama de compostos presentes nas amostras de café. A fibra foi exposta no *Headspace* do *vial* por 40 min a  $60^\circ \text{C}$ . A fibra foi então dessorvida na porta de injeção do GC por um período de 5 min a  $250^\circ \text{C}$  no modo *splitless*. Todos os experimentos foram realizados em duplicata e a mesma fibra foi utilizada em todos os experimentos.

### 8.2.6. Análise por GC-MS

As análises foram realizadas no cromatógrafo gasoso da marca Agilent 5973 Network, equipado com um injetor *split/splitless* (250°C). A Coluna utilizada foi a DB-FFAP (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm); a temperatura programada foi a seguinte: 40°C (5 min), gradiente de 4°C/min até 230°C e gradiente de 50°C min<sup>-1</sup> até 250 °C. Hélio foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de 1,4 mL min<sup>-1</sup>. Os dados foram coletados por GC-MS Chemstation G1701AA (Hewlett-Parckard) injetor e detector (quadrupolo) a 250°C. A tensão do detector MS foi de 1,2 kV. O intervalo de varredura de aquisição de dados espectrais de massa foi de 1,0 s e os dados foram coletados em uma faixa de massa de 40-400 u.

### 8.2.7. Identificação dos compostos voláteis

A identificação dos compostos voláteis presentes na matriz foi realizada através da comparação dos espectros com biblioteca Wiley 275, levando-se em conta dois fatores: o maior grau de semelhança espectral e os valores de índice de retenção linear (LRI) calculados para cada composto para a coluna DB-FFAP.

### 8.2.8. Design de experimentos (DoE)

A metodologia de design de experimentos é uma ferramenta estatística de otimização que analisa o desempenho de um sistema no âmbito de como o mesmo é afetado pela variação das variáveis selecionadas. Em geral, compreende um grupo de técnicas matemáticas e estatísticas que se encaixam em modelos empíricos em dados experimentais (16). Neste contexto um aspecto chave é a especificação correta das variáveis independentes a serem estudadas (fatores) e seus graus de variação (níveis). Neste capítulo, estudou-se a influência de 3 fatores, nomeadamente, pressão (P), temperatura (T) e concentração de etanol no solvente supercrítico (EtOH% em massa) utilizando dois níveis diferentes: 180-300 bar, 40- 80 °C e 0-5,0% em massa, respectivamente (Tabela 28). Para isso, um planejamento de experimentos completo que compreende 8 experimentos foi escolhido para estudar o rendimento de extração total e a variação aromática de acordo com os parâmetros variados.

*Tabela 28 - Codificação e níveis das três variáveis independentes consideradas para o Design Experimental*

<i>Variável</i>		<i>Nível de Correspondência</i>	
		Inferior (-1)	Superior (+1)
Pressão	P	180 bar	300 bar
Temperatura	T	40 °C	80 °C
Teor de co solvente	Etanol	0 % (m/m)	5 % (m/m)

### 8.3. Resultados e discussão:

#### 8.3.1. Extração Soxhlet

O rendimento de extração via Soxhlet está expresso em porcentagem de massa em relação a matriz seca (pó de café torrado e moído). A quantidade de extrato obtido a partir de café torrado e moído está detalhada na Tabela 29, tais resultados foram utilizados como referência para as extrações de fluido supercrítico:

*Tabela 29- Extrações via Soxhlet de cafés brasileiros*

Nº Amostra	Massa do extrato (g)	Extrato (%)	Origem	Nº Amostra	Massa do extrato (g)	Extrato (%)	Origem
1	10,392	15,819	SP	16	8,678	16,074	SP
2	10,226	17,031	SP	17	9,039	15,337	SP
3	10,206	15,099	SP	18	8,764	15,891	SP
4	9,817	14,695	SP	19	8,993	12,534	SP
5	9,812	16,604	SP	20	8,903	13,975	SP
6	9,693	19,932	SP	21	9,501	14,272	SP
7	10,337	13,555	MG	22	8,741	12,309	SP
8	9,247	13,623	MG	23	9,069	13,279	PR
9	10,617	12,367	MG	24	8,493	11,055	PR
10	9,885	12,188	MG	25	9,508	12,762	BA
11	10,200	13,821	MG	26	9,111	9,990	PR
12	9,903	12,443	MG	27	8,564	11,609	PR
13	7,012	16,252	SP	28	9,667	13,902	BA
14	9,647	11,095	MG	29	9,650	19,130	BA
15	8,513	12,343	MG				

### 8.3.2. Extração com fluido supercrítico

A extração supercrítica (SFE) tem sido descrita como uma técnica que proporciona extratos de aromas com maior semelhança ao material original, comparada a outros tipos de extração por solventes (11). Um fator importante é que a maior parte dos compostos voláteis do café tem alta solubilidade em dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>) a temperaturas relativamente baixas e dispensa o aumento de temperatura durante a remoção do solvente na saída do extrator. Isto proporciona algumas vantagens especificamente relacionada com a obtenção de extratos livre de *off-notes*, com máximo rendimento na extração de compostos voláteis com notas positivas e obtenção de maior concentração de compostos aromáticos (17). As extrações supercríticas foram realizadas de acordo com o esquema da Figura 33, os parâmetros operacionais de extração supercrítica foram otimizados através de análise multivariada usando planejamento fatorial (2<sup>3</sup>), a fim de se obter as melhores condições analíticas para extração supercrítica dos compostos voláteis presentes na fração aromática do café (Tabela 28).

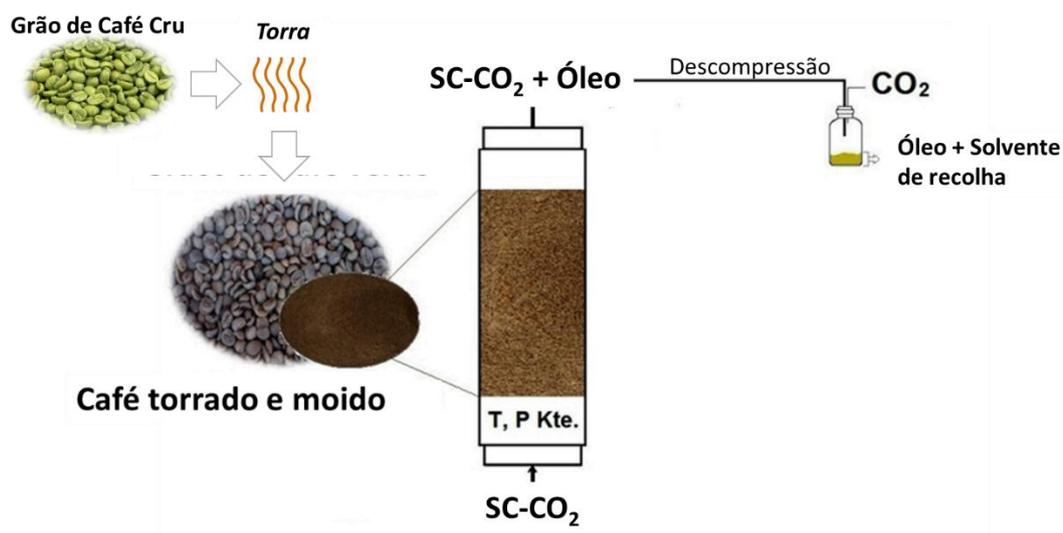


Figura 33- Esquema de extração supercrítica realizado para as amostras de café

### 8.4. Triagem das Variáveis e Planejamento Fatorial

A otimização das condições experimentais foi realizada utilizando um planejamento de experimentos (18,19). O planejamento fatorial completo é utilizado para estimar os efeitos das variáveis nos resultados obtidos através da massa obtida de extrato e dos resultados dos compostos voláteis identificados através da técnica de *Headspace*-SPME-GC-MS. Os experimentos foram realizados em duplicata e os resultados analisados utilizando os programas

Minitab 15 e Statistica 6.0.

*Tabela 30-Resultado de rendimentos em massas obtidos através da SFE em amostras de café de acordo com o Planejamento Fatorial completo realizado*

Nº Exp.	Parâmetros			Massa (g)	Extrato (g)	R <sub>total</sub> % (m/m)
	P(bar)	T(°c)	% EtOH			
1	300	40	0	41,644	3,465	8,319
2	300	80	0	51,760	3,054	5,900
3	300	80	5	51,117	4,868	9,522
4	300	40	5	52,752	5,164	9,790
5	180	40	5	51,392	3,936	7,659
6	180	40	0	50,791	2,362	4,651
7	180	80	5	52,792	0,926	1,753
8	180	80	0	51,030	0,732	1,435

A Tabela 30 exhibe os resultados experimentais do planejamento fatorial completo. O rendimento total de óleo varia na faixa de 1,43% no experimento 2 (180 bar, 80 °C, 0% EtOH) até 9,79% no experimento 4 (300 bar, 40 °C, 5% EtOH). Verifica-se um alto rendimento quando foram utilizadas condições mais agressivas de pressão (300 bar) e temperaturas mais baixas (40 °C), (massa pesada ver Tabela 30), no entanto a maior quantidade de extrato deve-se à fração lipídica e parafinas que são extraídas da matriz e não majoritariamente a compostos voláteis, como pode ser notado através dos resultados listados na Tabela 31.

*Tabela 31- Resultado em função de área de pico de compostos voláteis quantificados na fração aromática dos extratos obtidos através da SFE em amostras de café de acordo com o Planejamento Fatorial Completo realizado*

<b>Exp.</b>	<b>P(bar)</b>	<b>T(°C)</b>	<b>% EtOH</b>	<b>P(bar)</b>	<b>T(°C)</b>	<b>% EtOH</b>	<b>Voláteis (Área de pico)</b>	<b>Voláteis (Nº picos)</b>
1	300	40	0	1	-1	-1	1,38x10 <sup>09</sup>	26
2	300	80	0	1	1	-1	3,79 x10 <sup>09</sup>	44
3	300	80	5	1	1	1	4,14 x10 <sup>09</sup>	63
4	300	40	5	1	-1	1	2,11 x10 <sup>09</sup>	25
5	180	40	5	-1	-1	1	2,45 x10 <sup>09</sup>	38
6	180	40	0	-1	-1	-1	2,93 x10 <sup>09</sup>	35
7	180	80	5	-1	1	1	1,37 x10 <sup>10</sup>	143
8	180	80	0	-1	1	-1	1,54 x10 <sup>10</sup>	119

No que diz respeito à concentração total de compostos voláteis em relação a área de pico e número de picos (Tabela 31), os resultados variaram em torno de  $1,54 \times 10^{10}$  (área de pico) 119 picos experimento 8 (180 bar, 80 ° C, 0% EtOH) a  $1,38 \times 10^9$  (área de pico) 26 picos experimento 1 (300 bar, 40 ° C, 0% EtOH). Analisando-se estes resultados e aplicando ferramentas estatísticas foram construídos gráficos de efeitos principais normalizados para o rendimento total em massa e para a fração aromática (compostos voláteis) (Figura 34), gráfico de Pareto e gráfico dos Efeitos Principais (Figura 35).

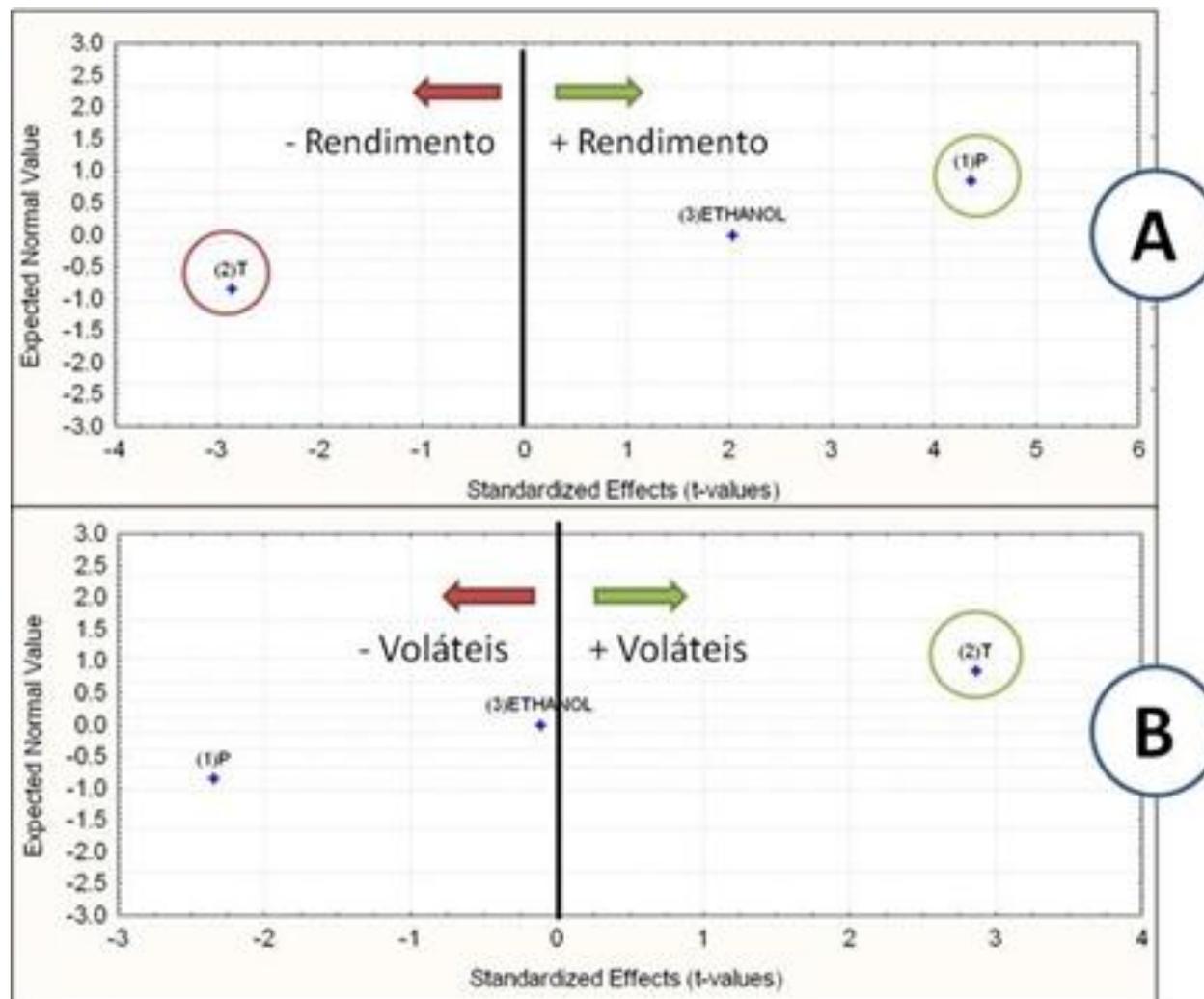


Figura 34-Gráfico de efeitos normalizados para extratos supercríticos  
(A) Massa de extrato (B) Compostos voláteis

Os resultados experimentais evidenciam que o processo de obtenção extratos aromáticos do café (mistura complexa compostos de baixo massa molar, voláteis e lipofílicos), por extração supercrítica, pode ser otimizado de modo a se extrair uma quantidade maior de compostos voláteis (Figura 34). Os compostos de maior massa molar apresentam maior solubilidade no CO<sub>2</sub> supercrítico, quando este possui densidades mais elevadas (300 bar e 40°C). Assim para a otimização das condições de extração majoritariamente de compostos voláteis, deve-se utilizar temperaturas mais altas (80 °C) e pressões menores (180 bar). Isso é observado no gráfico de efeitos principais (Figura 35), onde os fatores pressão e temperatura estão otimizados (80°C e 180 bar) e o uso de co-solvente não afeta sensivelmente a extração dos compostos voláteis (Figura 35).

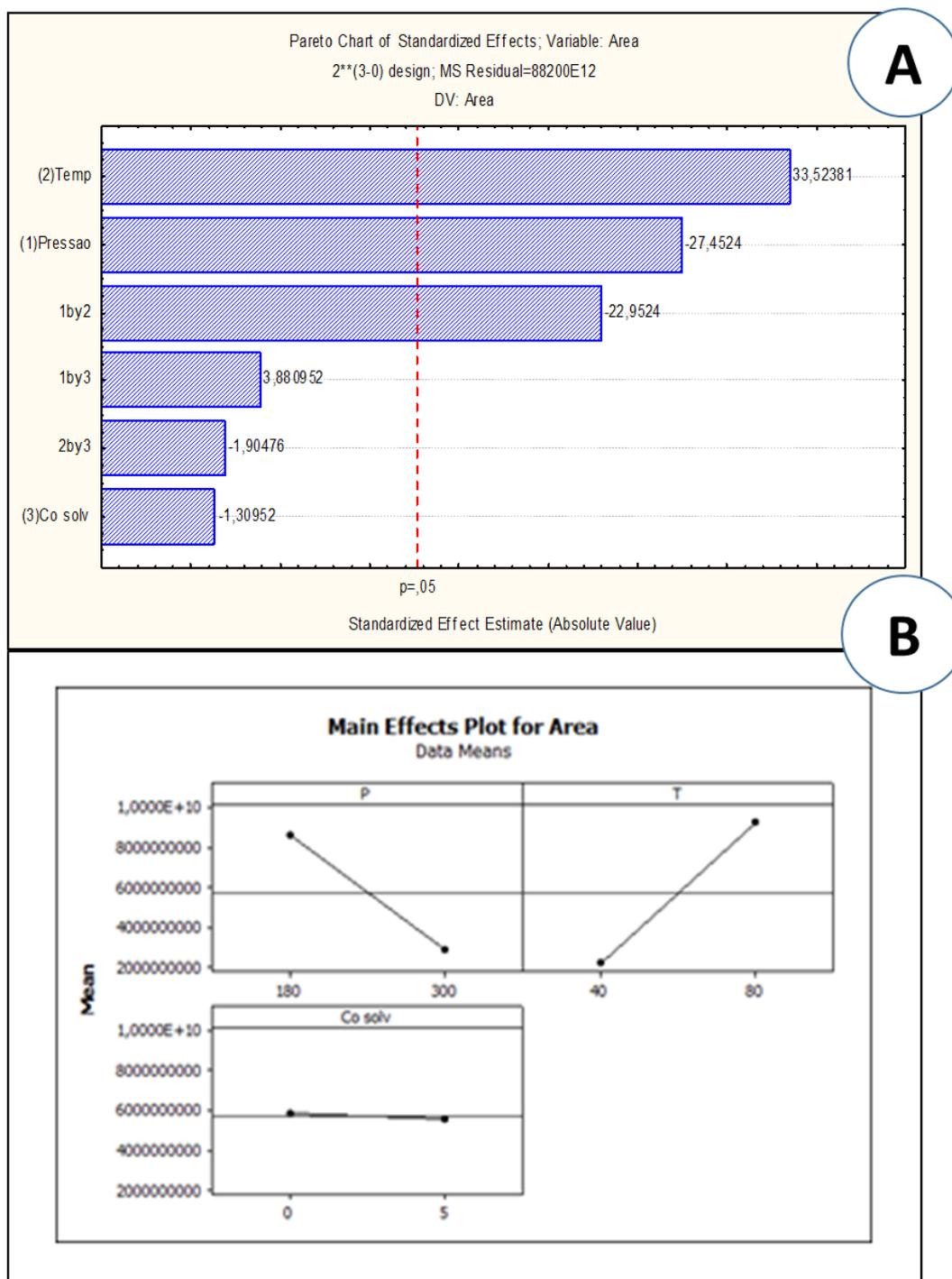


Figura 35- Gráficos de Pareto e Efeitos principais para planejamento fatorial de extratos de café

Os compostos não voláteis, com exceção das parafinas, são coextraídos em menor intensidade com os componentes voláteis e o rendimento aromático é maior, verificado por uma quantidade maior de áreas de pico dos compostos voláteis (Figura 34). Os compostos parafínicos, pelo fato de estarem localizados na superfície da matriz, apesar de possuírem uma solubilidade relativa no CO<sub>2</sub> supercrítico, são coextraídos com os compostos voláteis em

qualquer condição de extração. Esses resultados enfatizam a pertinência da otimização através do método de design de experimentos.

### 8.5. Separação por classes químicas

Adicionalmente foi realizado um agrupamento em classes químicas dos resultados obtidos dos cromatogramas das amostras de café analisadas pela técnica de HS-SPME-GC-MS. Os compostos voláteis foram identificados e agrupados por classes químicas, para facilitar a comparação de diferentes amostras. Os compostos foram divididos em 15 diferentes classes químicas: 4 aldeídos, 5 fenóis, 8 cetonas e dicetonas, 4 piridinas, 15 pirazinas, 7 ácidos carboxílicos, 5 ciclopentenos, 20 furanos, 8 pirróis, 2 álcoois, 3 piranos, 2 ésteres e outros.

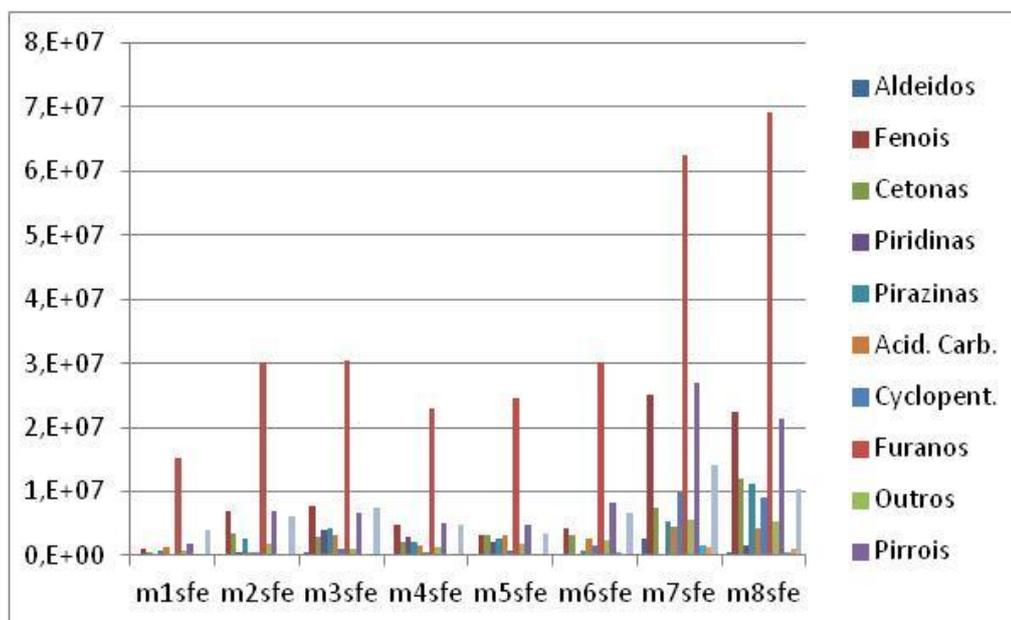
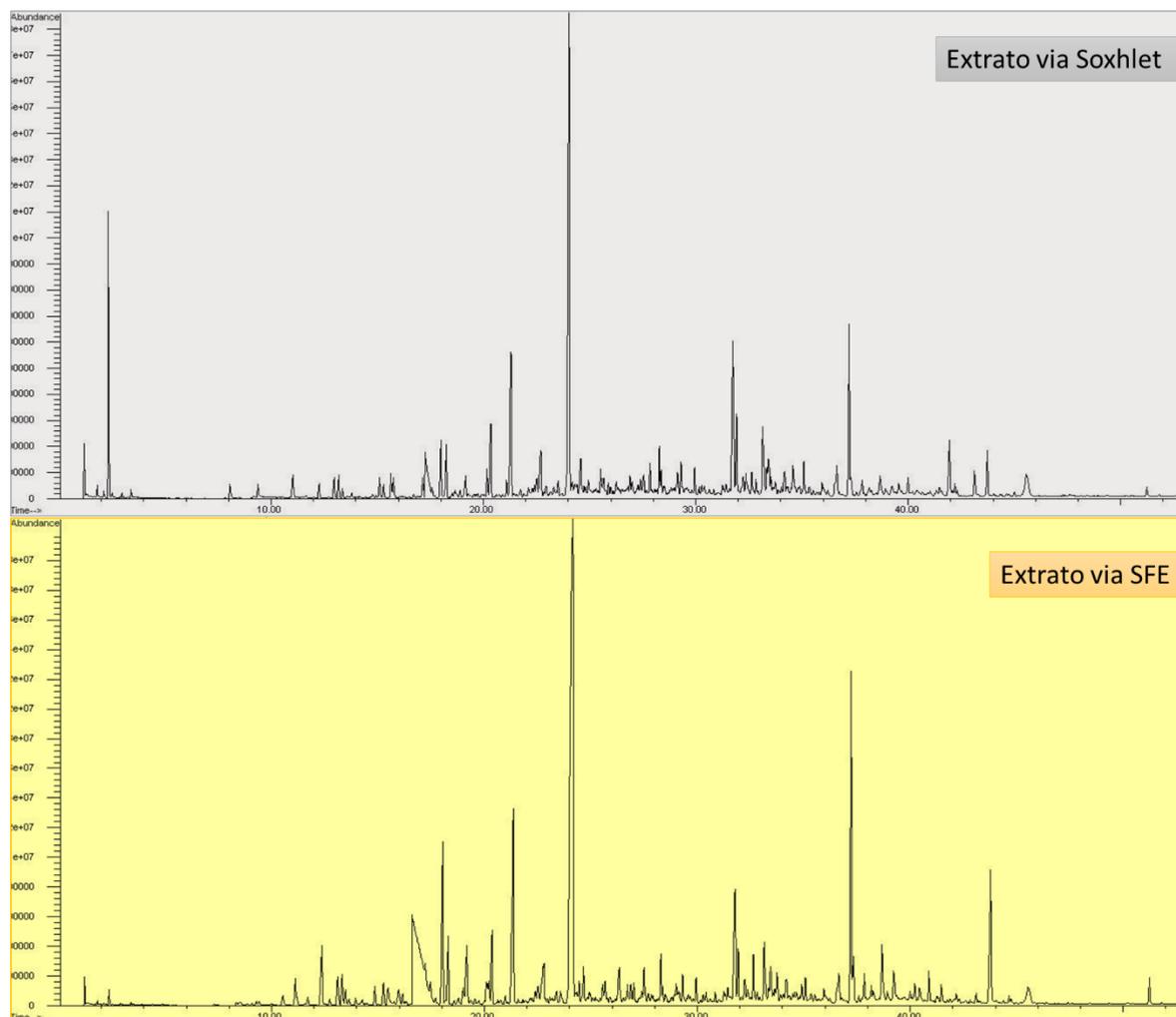


Figura 36- Comparativo por classes químicas dos compostos voláteis presentes na fração aromática dos extratos via SFE obtidos no Planejamento fatorial completo

A Figura 36 corrobora com os gráficos de otimizações dos parâmetros de extração supercrítica em que é observado que o experimento m8sfe no qual foram usadas as condições otimizadas (80°C e 180 bar) contem uma maior quantidade de classes de compostos voláteis, quando comparado com os outros experimentos do planejamento fatorial.

A adequabilidade de SFE para remover os compostos voláteis pode ser visualmente entendida, comparando os resultados cromatográficos envolvendo um extrato obtido via SFE versus uma produzida via Soxhlet convencional, utilizando diclorometano, que são apresentados na Figura 37.



*Figura 37- Cromatogramas SFE-SPME-GC-MS vs Soxhlet-SPME-GC-MS*

Em termos de número de picos, o extrato supercrítico tem visualmente o mesmo número de picos de uma extração feita a partir de Soxhlet, com as diferenças perceptíveis apoiando-se as quantidades relativas de cada pico. Os compostos voláteis presentes nos extratos resultantes do processo de extração possuem principalmente família de compostos pertencentes a furanos e pirazinas, o qual está de acordo com a composição voláteis original nos respectivos grãos de café torrados.

## 8.6. Conclusões

No presente capítulo foi realizada um estudo das melhores condições para produção de extratos através de fluido supercrítico de cafés brasileiros torrados e moídos. As variáveis otimizadas foram: pressão (180-300 bar), temperatura (40-80 ° C) e co-solvente (etanol) na corrente de CO<sub>2</sub> (0-5% m/m), usando um planejamento fatorial completo. As melhores

condições para maximizar a extração de óleos aromáticos ricos em compostos voláteis foram 180 bar / 80 °C / 0% de etanol, levaram a perfis aromáticos ricos, de uma gama variada de classes químicas nomeadamente aldeídos, fenóis, cetonas e dicetonas, piridinas, pirazinas, ácidos carboxílicos, ciclopentenos, furanos, pirróis, álcoois e ésteres. Os compostos voláteis identificados que caracterizam a fração aromática de cafés brasileiros foram encontrados em extratos obtidos dos mesmos. Consequentemente, parâmetros de processos específicos encontrado neste estudo (temperatura de 80 ° C e pressão de 180bar), podem então ser aplicados para produção em escala industrial visando extratos aromáticos ricos.

### 8.7. Referências

- 1 Oliveira, P.M.A. de; Almeida, R.H. de; et al. Enrichment of diterpenes in green coffee oil using supercritical fluid extraction – Characterization and comparison with green coffee oil from pressing. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 137–145, 2014.
- 2 Wagemaker, T.A.L.; Carvalho, C.R.L.; et al. Sun protection factor, content and composition of lipid fraction of green coffee beans. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 2, p. 469–473, 2011.
- 3 Chiari, B.G.; Trovatti, E.; et al. Synergistic effect of green coffee oil and synthetic sunscreen for health care application. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 389–393, 2014.
- 4 Ribeiro, H.; Marto, J.; et al. From coffee industry waste materials to skin-friendly products with improved skin fat levels. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 115, n. 3, p. 330–336, 2013.
- 5 Flament, I.; Bessière-Thomas, Y. **Coffee Flavor Chemistry**. 2002.
- 6 Illy, A.; Viani, R. **Espresso coffee: the science of quality**. 2005.
- 7 Blank, I.; Sen, A.; et al. Aroma impact compounds of arabica and robusta coffee. Qualitative and quantitative investigations. **ASIC. 14e Colloque**, p. 117–129, 1991.
- 8 Semmelroch, P.; Grosch, W. Studies on character impact odorants of coffee brews. **J Agric Food Chem**, v. 44, n. 2, p. 537–543, 1996.
- 9 Tressl, R.; Silwar, R. Investigation of Sulfur-Containing Components in Roasted Coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 1078–1082, 1981.
- 10 Toci, A.T.; Farah, A. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. **Food Chemistry**, v. 153, p. 298–314, 2014.

- 11 King, J.W. Modern supercritical fluid technology for food applications. **Annual review of food science and technology**, v. 5, p. 215–238, 2014.
- 12 Rocha, S.; Maeztu, L.; et al. Screening and distinction of coffee brews based on *Headspace* solid phase microextraction/gas chromatography/principal component analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 1, p. 43–51, 2004.
- 13 Wang, Y.; O'Reilly, J.; et al. Equilibrium in-fibre standardization technique for solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1072, n. 1, p. 13–17, 2005.
- 14 Salaces Avila, M.A.; Breiter, R.; et al. Development of a simple, accurate SPME-based method for assay of VOCs in column breakthrough experiments. **Chemosphere**, v. 66, n. 1, p. 18–29, 2007.
- 15 Maeztu, L.; Sanz, C.; et al. Characterization of espresso coffee aroma by static *Headspace* GC-MS and sensory flavor profile. **Journal of Agricultural ...**, v. 49, n. 11, p. 5437–5444, 2001.
- 16 Bezerra, M.A., Santelli, R.E., Oliveira, E.P., Villar, L.S., & Escaleira, L.A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, 76(5) , 965–977.
- 17 Ramos, E.; Valero, E.; et al. Obtention of a brewed coffee aroma extract by an optimized supercritical CO<sub>2</sub>-based process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4011–4016, 1998.
- 18 Calado, V. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Editora E-papers, 2003.
- 19 Barros Neto, B. de; Scarminio, I.S.; et al. **Planejamento e otimização de experimentos**. Editora da UNICAMP, 1995.

## **Capítulo 9. Conclusões Gerais**

A presente tese abordou diversos aspectos relacionados com a composição volátil e a qualidade do café, revelando a complexa relação existente. Apesar da composição volátil ter sido estudada extensivamente por muitas décadas, pouco ainda pode ser concluído sobre a relação com a qualidade. Isto se deve a falta de controle das amostras analisadas e o conhecimento profundo dos diversos parâmetros que influenciam na qualidade. Podemos citar como exemplo a influência da origem geográfica na qualidade, pois neste tópico devem ser considerados altitude, clima, índice pluviométrico, além é claro do controle com relação a espécie e cultivares para fins comparativos. Entre os diversos fatores que influenciam a qualidade, que vão desde do plantio até o momento que o café é servido, muitos continuam sem ser totalmente elucidados, incluindo origem geográfica e processamento pós-colheita, enquanto outros, que podem ser melhor compreendidos, incluem a influência de espécies, qualidade de grãos e condições de armazenamento. Pode-se concluir que foi possível uma diferenciação das amostras através de marcadores químicos, onde uma normalização previa dos cromatogramas foi realizada, onde a área de pico de piridina foi proposta como composto de referência. Metade destes marcadores pertencia à família das pirazinas, que são conhecidas por concederem notas sensoriais relacionadas à avelã e amendoim torrados, o estudo demonstrou a utilidade da DA como uma ferramenta para o controle de qualidade do tratamento de torrefação de amostras de café. Os modelos propostos foram validados e *cross-validados* com novos e independentes dados da literatura e adicionalmente foram realizados testes de permutação, assegurando assim a capacidade de previsão dos modelos propostos.

Foi também possível uma discriminação de amostras por microrregiões e categorizadas por selos de qualidade usando como parâmetro a fração aromática dos cafés torrados, e para análise das amostras foi empregada a técnica de *Headspace*-SPME, sendo os compostos identificados e quantificados através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Foi possível concluir também que é necessário um maior número de compostos para a discriminação quando comparado com os modelos propostos nos capítulos anteriores, para um modelo de discriminação robusto de perfis de qualidade.

Abordou-se detalhadamente a técnica de extração supercrítica aplicada frente a matrizes de café em diferentes etapas de processamento, foi sistematizado os compostos alvos que podem ser extraídos e seus objetivos para cada produção, nomeadamente a extração de óleo essencial, *clean up* de matérias-primas (compostos nocivos), descafeinação e controle de qualidade de amostras de café. Finalmente foi realizada a otimização da extração através de fluido supercrítico de cafés brasileiros torrados e moídos. As melhores condições para

maximizar a extração de óleos aromáticos ricos em compostos voláteis foram 180 bar / 80 °C / 0% de EtOH, que levaram a perfis aromáticos ricos, de uma gama variada de classes químicas nomeadamente aldeídos, fenóis, cetonas e dicetonas, piridinas, pirazinas, ácidos carboxílicos, ciclopentenos, furanos, pirróis, álcoois e ésteres. Os compostos voláteis identificados caracterizam a fração aromática de cafés brasileiros foram encontrados em extratos obtidos dos mesmos. Consequentemente, os modelos propostos e parâmetros de processos específicos encontrado neste estudo podem ser aplicados no controle de qualidade não subjetivo de amostras de café, além da possibilidade de aplicação de condições otimizadas para produção em escala industrial de extratos a partir de metodologias verdes visando a produção de extratos aromáticos mais ricos em compostos voláteis.

## 9. Capítulo 10 - Índices Acadêmicos

Titulo	Citações	Fator de Impacto	Ano
Toledo, P.R.A.B. Pezza, L. Pezza H.R., Toci A.T. Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds, <i>Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety</i> 15, 705-719	11	5.974	2016
Toledo, P.R.A.B. de Melo, M.M.R, Pezza, H.R, Toci, A.T, Pezza, L. Silva, C.M. Discriminant analysis for unveiling the origin of roasted coffee samples: A tool for quality control of coffee related products, <i>Food Control</i> 73, 164-174	4	3.584	2017
PRAB de Toledo, MMR de Melo, HR Pezza, L Pezza, AT Toci, CM Silva, Reliable discriminant analysis tool for controlling the roast degree of coffee samples through chemical markers approach <i>European Food Research and Technology</i> 243 (5), 761-768	2	1.664	2017
Toledo, P.R.A.B. Pezza, H.R., Toci A.T, Pezza, L. Green Determination of Urea in Moisturizers by Diffuse Reflectance Spectroscopy. <i>Analytical Letters</i> 50 (12), 2030-2043		1.150	2017
Toci, A.T.; Ribeiro, M.V.M.; Toledo, P.R.A.B.; Boralle, N.; Pezza, H. R.; Pezza, L. "Fingerprint and Authenticity Roasted Coffees by 1H-NMR: The Brazilian coffee case" <i>Food Science and Biotechnology</i> , 1-8.		0.699	2017
Toledo, P.R.A.B.; Toci, A.T.; PEZZA, H. R.; Pezza, L. "Fast and Simple Method for identification of Adulteration of cow's milk with urea using Diffuse Reflectance Spectroscopy" <i>Analytical Methods</i> , 9(45), 6357-6364.		1.900	2017
Toledo, P.R.A.B., de Melo, M. M.R., Pezza H.R., Toci, A.T., Pezza L., Silva C.M. "Control of coffee samples quality - Geographic and Roasting Factors" in <i>Coffee: Production, Consumption and Health Benefits</i> . Editora: Nova Publications, pp. 51-66. ISBN: 978-1-63484-714-8 (Maio/2016)			