



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**MURILO FERRAZ TOSTA**

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA,  
BIOQUÍMICA E SENSORIAL DE CAFÉS  
NATURAIS E DESMUCILADOS, PRODUZIDOS  
EM DIFERENTES ALTITUDES**

**LAVRAS – MG**

**2014**

**MURILO FERRAZ TOSTA**

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA, BIOQUÍMICA E  
SENSORIAL DE CAFÉS NATURAIS E DESMUCILADOS,  
PRODUZIDOS EM DIFERENTES ALTITUDES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, área de concentração em Processamento de Produtos Agrícolas, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa – Embrapa Café

(Orientadora)

**LAVRAS – MG**

**2014**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e  
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Tosta, Murilo Ferraz.

Caracterização fisiológica, bioquímica e sensorial de cafés naturais e desmucilados, produzidos em diferentes altitudes / Murilo Ferraz Tosta. – Lavras : UFLA, 2014.

79 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa.

Bibliografia.

1. *Coffea arabica* L. 2. Genótipo. 3. Processamento. 4. Quantificação de enzima. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.73

**MURILO FERRAZ TOSTA**

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA, BIOQUÍMICA E  
SENSORIAL DE CAFÉS NATURAIS E DESMUCILADOS,  
PRODUZIDOS EM DIFERENTES ALTITUDES**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras como  
parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Engenharia Agrícola, área  
de concentração em Processamento de  
Produtos Agrícolas, para a obtenção do  
título de Mestre.

APROVADA em 25 de fevereiro de 2014

Dr. Eder Pedrosa Isquierdo

UFLA

Dra. Margarete Marin Lordelo Volpato

Epamig

Dr. Marcelo Ribeiro Malta

Epamig

Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa – Embrapa

(Orientadora)

**LAVRAS – MG**

**2014**

*Aos meus pai,s Francisco Tosta e Ivonete Ferraz Tosta,  
pelo incentivo e força para minha formação.*

*À Tia Bela (in memoriam) que, com sua simplicidade, me  
auxilio no caminho dos estudos.*

*Ao meu irmão, Marcelo, pela amizade, carinho, respeito e  
união.*

*Aos demais familiares e amigos.*

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, pela nossa sublime convivência, inteligência e sabedoria que me proporcionou para que eu chegasse até aqui.

À minha família, especialmente a minha mãe, Ivonete Ferraz Tosta, pelo apoio aos estudos, trabalho duro, lutando por minha educação, ensinando sempre com amor, carinho, confiança e incentivo.

Ao meu pai, Francisco Tosta Neto, pela força, incentivo, conselhos e por nunca ter me deixado desistir, junto com minha mãe.

Ao meu irmão, pela mútua admiração e respeito, amizade, carinho e apoio.

A minha namorada, Caroline, que foi peça fundamental nessa caminhada, me incentivando, orientando, sendo a grande responsável pelo mestrado.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Departamento de Engenharia (DEG), pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação de Engenharia Agrícola da UFLA, pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Ao CNPq, pela concessão de bolsa de estudos.

À pesquisadora Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa, da Embrapa Café, que, com seu conhecimento e apoio, orientou o trabalho, sendo indispensável para mim durante o mestrado, incentivando e se dedicando, permitindo que fosse realizado.

Ao professor Dr. Flávio M. Borém, pela oportunidade, coorientação, incentivo, amizade, dedicação e ensinamentos, que foram de grande relevância para a realização deste trabalho e o meu desenvolvimento profissional.

Ao Dr. Eder Pedrosa Isquierdo, à Dra. Margarete Marin Lordelo Volpato e ao Dr. Marcelo R. Malta, pela participação na banca examinadora.

A toda a equipe do projeto coordenado pelo professor Dr. Flávio M. Borém, do qual este trabalho compôs algumas das metas, pela preciosa ajuda na condução dos experimentos.

Aos integrantes, ex-integrantes e parceiros do Laboratório de Processamento de Produtos Agrícola da UFLA (Ivan, Fabiana, Samuel, Paula, Diego Ribeiro, Isabella, Camila, Caio, Carlos Henrique, Ricardo, Gerson Giomo, Paulo César, Joel Shuler, José Henrique, Luisa, Daiane, Marcos Paulo, Lucas, Eder, Guilherme, Afonso, Danilo e Janaína, Diego Macedo, Flavio, Lourenço, Giselle), pela contribuição, convivência, aprendizado e amizade conquistada ao longo deste trabalho.

À Associação dos Produtores de Café da Mantiqueira (APROCAM), à Cooperativa Regional dos Cafeicultores do Vale do Rio Verde (COOCARIVE) e à Cooperativa Regional Agropecuária de Santa Rita do Sapucaí (COOPERRITA), pela colaboração essencial nas campanhas de campo.

Ao proprietário da Fazenda Serrado, José Antônio C. Pereira e seus funcionários, pelo apoio e a estrutura cedida para a condução dos experimentos.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>3</b>
2.1	Aspectos comerciais e econômicos.....	3
2.2	Cafés especiais.....	3
2.3	Interação entre genótipo e ambiente .....	5
2.4	Colheita e processamento.....	7
2.5	Análises sensoriais.....	12
2.6	Aspectos fisiológicos.....	14
2.6.1	Lixiviação de potássio e condutividade elétrica .....	15
2.6.2	Germinação .....	15
2.7	Aspectos bioquímicos .....	17
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
3.1	Caracterização do experimento.....	21
3.2	Colheita e processamento do café.....	24
3.3	Armazenamento e beneficiamento das amostras .....	25
3.4	Teor de água.....	26
3.5	Análise sensorial.....	26
3.6	Avaliação da qualidade fisiológica dos grãos de café.....	28
3.6.1	Protrusão radicular.....	29
3.6.2	Plântulas com folhas cotiledonares expandidas .....	29
3.7	Teste de condutividade elétrica.....	29



<b>3.8</b>	<b>Lixiviação de potássio .....</b>	<b>29</b>
<b>3.9</b>	<b>Avaliação bioquímica dos grãos de café.....</b>	<b>30</b>
3.9.1	Eletroforese de isoenzimas .....	30
3.9.2	Atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase.....	30
3.9.3	Quantificação de enzimas antioxidante .....	32
<b>3.10</b>	<b>Análises estatísticas .....</b>	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>4.1</b>	<b>Avaliação fisiológica dos grãos de café .....</b>	<b>34</b>
4.1.1	Condutividade elétrica (CE) .....	34
4.1.2	Lixiviação de potássio (LK).....	38
4.1.3	Protrusão radicular, germinação e folhas cotiledonares expandidas	40
<b>4.2</b>	<b>Avaliação bioquímica dos grãos de café.....</b>	<b>45</b>
4.2.1	Eletroforese de isoenzimas .....	45
4.2.2	Quantificação da atividade de enzimas antioxidantes.....	52
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>64</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>66</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Localização do município de Carmo de Minas na região Sul/Sudoeste do estado de Minas Gerais e no Brasil	22
Figura 02	Ilustração do método de secagem dos frutos	24
Figura 03	Ilustração do ponto de torra do café	26
Figura 04	Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via seca, revelados para a enzima superóxido dismutase. A= Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.	47
Figura 05	Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via úmida, revelados para a enzima superóxido dismutase. A= Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.	47
Figura 06	Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via seca, revelados para a enzima catalase. A= Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012	49
Figura 07	Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via úmida, revelados para a enzima catalase. A= Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.	49
Figura 08	Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via seca, revelados para a enzima esterase. A= Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.	52
Figura 09	Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via úmida, revelados para a enzima esterase. A= Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.	52
Figura 10	Biplot com PCA para a atividade das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX)	55

e endo- $\beta$ -mananase (ENDO). N<A (Natural, <1.000m, Acaiá), N=A (Natural, 1.000 a 1.200m, Acaiá), N>A (Natural, >1.200m, Acaiá); N<B (Natural, <1.000m, Bourbon), N=B (Natural, 1.000 a 1.200m, Bourbon), N>B (Natural, >1.200m, Bourbon), CD<A (Desmucilado, <1.000m, Acaiá), CD=A (Desmucilado, 1.000 a 1.200m, Acaiá), CD>A (Desmucilado, >1.200m, Acaiá), CD<B (Desmucilado, <1.000m, Bourbon), CD=B (Desmucilado, 1.000 a 1.200m, Bourbon), CD>B (Desmucilado, >1.200m, Bourbon).

Figura 11 Biplot com PCA para a atividade das enzimas catalase (CAT), 56  
superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX)  
e endo- $\beta$ -mananase (MAN) e Notas sensoriais. N<A (Natural,  
<1.000m, Acaiá), N=A (Natural, 1.000 a 1.200m, Acaiá), N>A  
(Natural, >1.200m, Acaiá); N<B (Natural, <1.000m,  
Bourbon), N=B (Natural, 1.000 a 1.200m, Bourbon), N>B  
(Natural, >1.200m, Bourbon), CD<A (Desmucilado, <1.000m,  
Acaiá), CD=A (Desmucilado, 1.000 a 1.200m, Acaiá), CD>A  
(Desmucilado, >1.200m, Acaiá), CD<B (Desmucilado,  
<1.000m, Bourbon), CD=B (Desmucilado, 1.000 a 1.200m,  
Bourbon), CD>B (Desmucilado, >1.200m, Bourbon).

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Parcelas experimentais resultantes da combinação entre altitude, genótipo e método de processamento.	23
Tabela 02	Valores atribuídos aos atributos da metodologia da SCAA em cada classe de qualidade do café.	27
Tabela 03	Escala de classificação para análise sensorial de cafés especiais, conforme protocolo SCAA.	28
Tabela 04	Valores de condutividade elétrica dos diferentes métodos de processamentos para a interação entre altitudes e genótipo, na safra 2011/2012	35
Tabela 05	Valores de condutividade elétrica dos genótipos de café para a interação entre altitude e processamento, na safra 2011/2012	36
Tabela 06	Valores de lixiviação de potássio da interação entre genótipo e altitudes submetidos a dois tipos de processamento, na safra 2011/2012	38
Tabela 07	Valores de lixiviação de potássio dos genótipos de café para a interação entre altitude e processamento, na safra 2011/2012	39
Tabela 08	Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e genótipo para os processamentos da safra agrícola 2009/2010	42
Tabela 09	Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e processamento para os genótipos da safra agrícola 2009/2010	42
Tabela 10	Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e genótipo para os processamentos da safra agrícola 2010/2011	43

Tabela 11	Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e processamento para os genótipos da safra agrícola 2010/2011	43
Tabela 12	Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e genótipo para os processamentos da safra agrícola 2011/2012	44
Tabela 13	Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e processamento para os genótipos da safra agrícola 2011/2012	44
Tabela 14	Valores médios da quantificação das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e endo- $\beta$ -mananase (MAN) para a interação entre, genótipos, altitude e processamento	53
Tabela 15	Correlações entre as variáveis dependentes (Catalase, APX, SOD e Endo $\beta$ Mananase) e os dois primeiros componentes principais	60
Tabela 16	Correlações entre as variáveis dependentes (Catalase, APX, SOD, Endo $\beta$ Mananase e Notas sensorial) e os dois primeiros componentes principais	63

## RESUMO

A cafeicultura brasileira passa por uma diferenciação, a qual indica que a comercialização do café busca o segmento dos cafés especiais. O crescimento desse setor deve-se à busca do consumidor por produtos de melhor qualidade. Para se obter cafés especiais, é importante o conhecimento dos fatores determinantes da qualidade, que são os genéticos, os ambientais e os tecnológicos envolvidos nos processos de produção. Diante disso, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos do genótipo, da altitude, das formas de processamento nos testes de condutividade elétrica, lixiviação de potássio, protrusão radicular, germinação, folhas cotiledonares expandidas e análises de quantificação das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX), esterase (EST) e endo- $\beta$ -mananase (MAN). Especificamente, buscou-se relacionar os valores da quantificação das enzimas com a qualidade sensorial da bebida. Foram coletadas amostras de café (*Coffea arabica* L.), ao longo de três safras agrícolas (2009/10, 2010/11 e 2011/12), em lavouras comerciais localizadas no município de Carmo de Minas, MG, Brasil. O delineamento experimental foi baseado no estudo da interação entre variáveis ambientais, genéticas e de processamento. O ambiente foi estratificado em três classes de altitude (< 1.000 m, entre 1.000 a 1.200 m e >1.200 m). Foram coletados frutos de dois genótipos, Bourbon Amarelo (frutos amarelos) e Acaia (frutos vermelhos). Foram coletadas duas repetições e processadas nas duas formas distintas (via seca e úmida), totalizando, 24 amostras por safra. Os cafés foram colhidos, processados, secos, armazenados e feitas as análises bioquímica, fisiológica e sensorial. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com técnicas específicas estabelecidas. Os valores de condutividade elétrica e lixiviação de potássio foram, respectivamente, menores para as altitudes maiores, para o genótipo Bourbon Amarelo e para o processamento desmucilado. Para as análises fisiológicas, os melhores resultados foram observados nos grãos desmucilados e no genótipo Bourbon Amarelo. Concluiu-se que a atividade das enzimas são marcadores pouco precisos da qualidade dos grãos de café. Por meio de PCA, em conjunto com a técnica de biplots, observou-se que o genótipo Bourbon Amarelo cultivado acima de 1.200 m, processado por via seca, teve maior atividade das enzimas superóxido dismutase e peroxidase do ascorbato, tendo relação direta com a nota sensorial da bebida. As enzimas catalase e endo- $\beta$ -mananase são responsáveis pelo agrupamento I e os menores valores de todas as enzimas separam o processamento via seca do via úmida.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L. Genótipo. Processamento. Quantificação de enzima.

## ABSTRACT

The trading of specialty coffees has increased lately, followed by changes in the Brazilian coffee production chain. It is due to the increasing in the consumer demand for high quality product. The knowledge about the factors that may influence the final sensory quality of coffee is a key point to produce specialty coffees. It is well known that genetic materials, environmental conditions, and post-harvest technology play an important role in defining coffee quality. However, the underlying biochemical changes that take place during the production of green coffee beans are still unknown and need to be the focus of several researches. Therefore, the principal aim of this work was to assess the response of different coffee genotypes to different environmental conditions and processing methods. The parameters analyzed in this evaluation were sensory quality, Electrical Conductivity (EC), Potassium Leaching (KL), root protrusion, germination, open cotyledonary leaf, and the quantification of the enzymes: catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), esterase (EST), and endo- $\beta$ -mannanase (MAN). Two coffee sample replicates (*Coffea arabica* L.) of the two genotypes (Acaia and Yellow Bourbon) were harvested in the three crop seasons (2009/10, 2010/11 and 2011/12) from coffee plots located in three different altitude ranges. The experiment was in Carmo de Minas, Minas Gerais, Brasil. After harvested, the samples were processed by the dry and wet methods, dried, stored and then submitted to the biochemical and sensory analyses. The demucilaged Yellow Bourbon samples harvested above 1200m presented lower EC and LK values. The best physiological performance was observed for the demucilaged Yellow Bourbon samples regardless the altitude range they were harvested. The enzymes expression cannot be used as markers of coffee quality, considering they presented very low precision in the results. Principal Component Analysis revealed that the genotype Yellow Bourbon grown above 1,200, processed by dry had increased activity of the enzymes superoxide dismutase and ascorbate peroxidase having a direct relationship with the sensory score of the drink. Catalase, endo- $\beta$ -mannanase is responsible for the grouping I and the lowest values of all enzymes separate the processing.

Key-words: *Coffea arabica* L.; genotype; processing, enzyme quantification.

## 1 INTRODUÇÃO

Embora seja o líder no mercado mundial de café, o Brasil ainda tem uma imagem internacional de fornecedor de grande quantidade de cafés comuns e de baixo preço, utilizados na composição de blends, enquanto países como Quênia, Colômbia, Guatemala e Costa Rica, entre outros, são reconhecidos e valorizados pela qualidade de seus cafés. A recente história da diferenciação da cafeicultura brasileira indica que a alteração do setor e da comercialização do café busca o segmento dos cafés especiais. Vale ressaltar que, quando se fala de cafés especiais, trata-se da distinção entre grãos que ocorre pelas suas características de pureza (isento de defeitos extrínsecos e intrínsecos), sabor e corpo, demandando matérias-primas diferenciadas, obtendo, assim, o conceito de cafés de qualidade.

Para se obter cafés especiais é importante conhecer os fatores determinantes da qualidade, desde a escolha da espécie e da variedade para o plantio, até o preparo da bebida. Sabe-se que a qualidade sensorial é determinada, entre outros fatores, pelos atributos sabor e aroma. Formados durante o processo de torra, os precursores destes atributos presentes no grão cru são dependentes de fatores genéticos, ambientais e tecnológicos envolvidos nos processos de produção, além de época de colheita, método de secagem, processamento e práticas de armazenamento (AVELINO et al., 2002, 2005; BORÉM, 2008; DECAZY et al., 2003). Assim sendo, é de extrema importância buscar o entendimento dos fenômenos que envolvem a expressão da qualidade, para se obter o potencial máximo dos cafés de um determinado país, estado ou região, para atender ao interesse por este novo segmento de cafés especiais.

A composição química dos grãos de café e suas variações qualitativas e quantitativas têm sido largamente pesquisadas e são decorrentes das espécies e



variedades estudadas, dos efeitos do processamento, bem como do ambiente de produção (AVELINO et al., 2005; CAMPA et al., 2005; DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010; KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006; KY et al., 2001). Durante os períodos de pré e pós-colheita, os grãos estão sujeitos às alterações bioquímicas e fisiológicas que contribuem para a manutenção ou a diminuição da qualidade. Entre essas alterações destacam-se os efeitos sobre a integridade dos sistemas de membranas (BORÉM et al., 2008; MARQUES et al., 2008) e a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), esterase (EST) e endo- $\beta$ -mananase (MAN) (BERJAK, 2006; BRANDÃO JUNIOR; CARVALHO; VIEIRA, 1999; BYTOF et al., 2007; DUSSERT et al., 2006; SELMAR et al., 2004; TAWFIK; HUYGHEBAERT, 1999; VEIGA et al., 2010).

Estudos mais detalhados que busquem o entendimento das interações entre os fatores genéticos, ambientais e tecnológicos envolvidos nos processos de produção devem ser realizados para elucidar os eventos fisiológicos e sua relação com os descritores de qualidade. Tais eventos que ocorrem da interação desses fatores podem afetar positivamente ou negativamente a qualidade dos grãos e devem ser rapidamente detectados para garantir a manutenção da qualidade dos grãos de café. Portanto, a investigação de eventos bioquímicos do sistema enzimático, bem como dos aspectos fisiológicos, pode contribuir para o entendimento dos processos deteriorativos que culminam com a queda de qualidade de grãos de café.

Diante do exposto, objetivou-se, neste trabalho, caracterizar os efeitos da interação entre genótipos, altitudes e processamentos, buscando definir a qualidade sensorial, bioquímica e fisiológica de grãos de café.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Aspectos comerciais e econômicos**

A recente história do café envolve mudanças nos padrões de consumo, indicando novas dinâmicas associadas à sua diferenciação qualitativa. Este impacto é tamanho que a demanda pelos grãos especiais cresce em torno de 15% ao ano, contra o crescimento de cerca de 2% do café commodity. O segmento de cafés especiais representa cerca de 12% do mercado internacional do café. O atual valor de venda para alguns cafés considerados especiais varia entre 30% e 40%, em relação ao café considerado convencional, podendo, em alguns casos, ultrapassar a barreira dos 100% (BRAZIL SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION - BSCA, 2014).

A região Sul de Minas é a maior produtora de café do estado e do Brasil (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2014), destacando-se pela elevada qualidade sensorial dos cafés produzidos. Inserida no sul de Minas Gerais, a microrregião da Serra da Mantiqueira é considerada uma das mais importantes regiões produtoras de cafés especiais do Brasil.

Segundo Nascimento (2013), a valorização do mercado de café é importante não só para o estado de Minas Gerais, mas para o Brasil. A produção do estado representa 13,5% do PIB da cadeia produtiva nacional, porém, esse número pode ser ampliado para 15%, almejando chegar a 20%.

### **2.2 Cafés especiais**

O segmento dos cafés especiais surgiu entre 1970 e 1980, em plena crise do consumo de café norte-americana. Pode-se dizer que ele tenha surgido como um meio de driblar preocupações relacionadas à produção ou, até mesmo, apenas para agregar valor ao produto. Os cafés especiais resistem melhor à crise.

As características de sabor e métodos de produção os tornam produtos originais e garantem um melhor preço, uma vez que são valorizados pelos torrefadores e consumidores (AVELINO et al., 2005).

A definição de café especial começa na origem da bebida e amplia-se nas etapas de produção, incluindo a escolha da variedade, até a comercialização. O conceito de café especial está intimamente ligado ao prazer que a bebida pode proporcionar ao consumidor, com a ausência de qualquer tipo de defeito, bem como o alto padrão de qualidade e o elevado potencial de expressão de aroma e sabor após a torra. É definido na xícara e, como um tipo de bebida, deve apresentar sabor agradável (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA - SCAA, 2014).

Os cafés especiais devem ser isentos de defeitos, obtendo, no mínimo, 80 pontos na escala de classificação de cafés especiais da Associação Americana de Cafés Especiais (SCAA, sigla em inglês). Esta pontuação equivale a um café de bebida mole, de acordo com a Instrução Normativa nº 8 (BRASIL, 2003), além de possuir qualidade diferenciada e elevado potencial de expressão de aroma e sabor (GIOMO; BORÉM, 2011). É tratado, ainda, como sinônimo de café fino, gourmet ou de qualidade superior, apresentando alguma característica que o diferencie dos outros, como o sabor floral, cítrico ou achocolatado, entre outros, contribuindo para agregar valor ao produto (PAIVA, 2005).

Para se investigar a possível qualidade do café, devem ser levados em consideração os fatores regionais, a espécie, a cultivar, o sistema de secagem, bem como o processamento e a comercialização, nos vários países e regiões de produção. Assim, pode-se dizer que os fatores e os cuidados na pré e na pós-colheita tornam-se fundamentais para a preservação da qualidade do produto (MALAVOLTA, 2000; MENDONÇA, 2004) e para a comercialização e o aumento do lucro do cafeicultor (FAVARIN et al., 2004). A realidade dos

mercados, nacional e internacional, apresenta uma demanda crescente por cafés especiais, de sabor e aroma excepcionais e com características marcantes na doçura, acidez e corpo. Além da qualidade sensorial, existe também um grande interesse por produtos cujas qualidades ou características estejam relacionadas com o ambiente e a localização geográfica (RODRIGUES et al., 2009).

Diante disso, pode-se considerar a qualidade e a complexidade da bebida como principais particularidades do café especial, o qual é tanto mais valorizado quanto mais raras e exóticas forem a sensação de prazer e a percepção sensorial proporcionadas ao consumidor.

### **2.3 Interação entre genótipo e ambiente**

Atualmente, são comercializados dois tipos de café, de duas espécies diferentes, o canéfora (*Coffea canephora* Pierre) e o arábica (*Coffea arabica* L.), sendo esta última a espécie economicamente mais importante da família Rubiaceae, destacando-se pela superioridade na qualidade da bebida e, conseqüentemente, por apresentar maior valorização do produto final.

Dentre as cultivares da espécie *Coffea arabica* pesquisadas, a ‘Bourbon’ têm se destacado por apresentar maior qualidade sensorial e alta adaptabilidade a regiões de altitudes elevadas, o que a torna promissora no mercado de cafés especiais. A expressão da qualidade das cultivares em relação ao ambiente de cultivo pode ser compreendida com o conhecimento sobre “terroir”. A palavra “terroir” explica a interação entre o meio natural e os fatores humanos. Esse é um dos aspectos essenciais, não abrangendo somente aspectos do meio natural (clima, solo, relevo), mas também, de forma simultânea, os fatores humanos da produção, incluindo a escolha das variedades, os aspectos agrônômicos e os aspectos de elaboração dos produtos (TONIETTO, 2007).

Em pesquisas realizadas, verificou-se que a variabilidade genética, associada a interações com o ambiente de cultivo, interfere quantitativamente e qualitativamente em alguns componentes químicos, físico-químicos e bioquímicos dos grãos de café (MALTA; CHAGAS, 2009; MALTA; SANTOS; SILVA, 2002). Com essa afirmação pode-se considerar que diferenças na composição bioquímica e na qualidade sensorial do café são oriundas de aspectos ligados ao genótipo e ao ambiente, os quais podem estar relacionados e, dessa forma, afetar a qualidade final.

Barbosa et al. (2012) afirmam que o sabor e o aroma do café estão relacionados à presença de vários constituintes químicos voláteis e não voláteis, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, compostos fenólicos e também à ação de enzimas sobre alguns desses constituintes. Além da composição química e bioquímica, o processamento pós-colheita também influencia a qualidade final do produto, originando bebidas de características distintas, evidenciando que o ambiente exerce papel chave na qualidade da bebida do café.

Dentre os fatores ambientais considerados mais impactantes na qualidade sensorial do café, altitude e precipitação têm sido os mais estudados (AVELINO et al., 2005; DECAZY et al., 2003; GUYOT et al., 1996). Avaliando genótipos de café arábica, Guyot et al. (1996) verificaram que a altitude é um dos elementos que influenciam positivamente a qualidade sensorial da bebida do café. Ainda, Decazy et al. (2003) afirmam que altitudes elevadas e precipitação anual abaixo de 1.500 mm são condições favoráveis à otimização da bebida do café.

Alguns estudos sugerem que a qualidade do café depende, principalmente, do microclima, que determina as características sensoriais (AVELINO et al., 2005). Os autores afirmam, ainda, que a qualidade da bebida é

determinada por fatores ambientais, que são semelhantes aos que influenciam a qualidade do vinho. Estes resultados abrem o caminho para cafés com sabores únicos, cujas especificidades seriam ligadas à origem dos grãos e não apenas aos processos pós-colheita. Os argumentos em favor da proteção de café com indicação geográfica são um sinal de que existe um reconhecimento internacional e que essa indicação é aplicada a produtos que, como o vinho, têm qualidades associadas com a sua origem.

De acordo com essas comprovações, evidenciou-se a necessidade da realização de estudos para relacionar a qualidade sensorial do café e as condições ambientais do local de cultivo. Barbosa et al. (2012), estudando a qualidade do café e suas interações com fatores ambientais, em Minas Gerais, Brasil, concluíram que quanto maior a altitude, maior foi a pontuação da amostra premiada em concurso realizado neste estado, sendo esta relação mais frequente em altitudes elevadas.

Tendo em vista os resultados de pesquisas realizadas nos últimos anos, sobre a influência do meio ambiente na qualidade dos cafés, nota-se carência de informações mais detalhadas sobre a interação entre genótipo e fatores ambientais.

#### **2.4 Colheita e processamento**

O café pode ser colhido de três maneiras, mecanizada, semimecanizada e manual. Pode-se utilizar a colheita seletiva, em que somente os frutos maduros são colhidos e pode-se, ainda, utilizar a derrça completa, a qual consiste em derrubar todos os frutos em um pano ou no chão (BORÉM, 2008).

Outros materiais e impurezas, como folhas, ramos, terra, paus e pedras e, ainda, frutos em diferentes estádios de maturação, os quais atrapalham a qualidade da bebida do café, estarão presentes quando a escolha da colheita for

pela derriça completa. A presença de frutos em diferentes estádios é afetada pelas fases reprodutivas do cafeeiro, que estão relacionadas com a maturação dos frutos, levando à desuniformidade, pois se trata de processos de desenvolvimento com durações variáveis e marcadas por alterações morfológicas, anatômicas e bioquímicas (PEZZOPANE et al., 2003). Essas variações no desenvolvimento e no crescimento dos cafezais são vistas repetidamente em regiões de montanha, dentre e entre as lavouras, e, como consequência, a produção e a qualidade desses cafés são diversificadas.

Sabe-se que a floração tem implicações diretas na uniformidade da maturação dos frutos de café (CLIFFORD, 1985; CORTEZ, 2001; RENA; MAESTRI, 1986), a qual poderá ter grande influência na qualidade final do produto. Assim, colheitas realizadas tardiamente podem apresentar, em sua maioria, frutos secos e passíveis de fermentações indesejáveis. Já nas colheitas antecipadas, os frutos verdes colhidos poderão resultar em defeitos verdes e verde-pretos. Para ambas as situações ocorre a depreciação do aspecto, do tipo e da bebida, e, assim, a produção de cafés especiais estará comprometida (FAGAN et al., 2011).

Por outro lado, colheitas realizadas de maneira seletiva podem reduzir estes riscos, aumentando, com isso, a possibilidade de produzir cafés de melhor qualidade, isso porque os frutos são colhidos em estágio “cereja”, considerado o ponto ideal de maturação para a colheita (CORTEZ, 2001).

Logo após a colheita, os frutos são submetidos ao processamento, não devendo ser armazenados por períodos superiores a 8 horas, devido aos riscos de ocorrerem fermentações indesejáveis e a formação do defeito ardido, inviabilizando a obtenção de cafés especiais (BRANDO, 2004). Angélico et al. (2011), em estudos variando o tempo de ensacamento dos frutos do café, verificaram aumento da condutividade elétrica, lixiviação de potássio e

diminuição da atividade enzimática nos grãos de café devido ao maior tempo de ensacamento, mesmo este tendo sido classificado como bebida dura.

Frutos em estágio “cereja” são descritos como maduros, fisiologicamente e este estágio refere-se ao momento em que o fruto se apresenta com todos os seus constituintes no pico de desenvolvimento e com sua composição química completa e equilibrada, menos defeitos (grãos pretos, verdes e ardidos), estando, assim, com o máximo de seu potencial para a expressão da qualidade (CARVALHO et al., 1970; FAGAN et al., 2011; MORAIS et al., 2008; PEZZOPANE et al., 2003). Estes resultados reforçam a necessidade da realização da colheita neste estágio de maturação para a obtenção de bebidas com melhor qualidade, oferecendo, inclusive, indicativos importantes para a produção de cafés especiais, tais como colheita seletiva e separação hidráulica de frutos, dentre outros.

Basicamente, o café pode ser processado por dois métodos: via seca e via úmida. O processamento por via seca consiste em secar os frutos na sua forma integral, ou seja, com exocarpo (“casca”), produzindo frutos secos, conhecidos como café em coco ou natural (BORÉM, 2008). Esse método é largamente utilizado em regiões tropicais, onde há uma estação seca característica durante o período de colheita, sendo o método mais utilizado no Brasil.

No processamento via úmida são produzidos os cafés em pergaminho (descascado, despulpado e desmucilado). O café cereja descascado é resultado da remoção mecânica da casca e de parte da mucilagem do fruto. O café cereja despulpado é originado de frutos descascados mecanicamente, com a mucilagem remanescente removida por fermentação. Já o café cereja desmucilado é resultado da remoção mecânica tanto da casca quanto da mucilagem. Uma das vantagens da remoção da casca e da mucilagem do café é a obtenção de lotes



mais homogêneos, o que facilita a etapa de secagem e permite maior controle sobre a qualidade final do produto. A rápida eliminação da casca e da mucilagem, fontes de fermentação e retardamento da secagem, facilita a obtenção de cafés de boa bebida, independente da zona de produção e, quando bem preparados, são sempre classificados como de bebida de alto valor comercial. Neste caso, a retirada da mucilagem reduz os riscos de desenvolvimento de microrganismos associados aos frutos, responsáveis por fermentações indesejáveis (BORÉM, 2008).

Ainda segundo Borém (2008), independentemente do método de processamento, por via seca ou via úmida, recomenda-se que o café seja submetido à separação hidráulica em lavadores, para separar por densidade, os frutos maduros e verdes dos frutos sobremaduros, brocados, chochos, resultando em lotes mais homogêneos no que se refere ao teor de água e ao estágio de maturação.

Para qualquer tipo de processamento, os grãos são secados rapidamente, removendo a água até níveis seguros para o seu adequado beneficiamento e armazenamento, aproximadamente 11% (bu), evitando-se possíveis comprometimentos na qualidade da bebida (BORÉM, 2008). Segundo Pereira et al. (2003), o tipo de processamento é variável entre os produtores, dependendo, principalmente, dos aspectos climáticos, tecnológicos, econômicos e exigências do mercado consumidor.

É comumente aceito que os cafés obtidos a partir das diferentes formas de processamento apresentam características distintas na qualidade (BORÉM, 2008; ILLY; VIANI, 1995). De modo geral, os cafés naturais apresentam mais corpo e os cafés despolpados, acidez mais desejável. No entanto, considerando que a qualidade sensorial do café se origina na interação genótipo e ambiente e se define na pós-colheita, pode-se inferir a ocorrência de eventos anteriores à

colheita capazes de, junto com as operações seguintes, conferir atributos distintos para a qualidade sensorial.

Ainda assim, são encontrados, frequentemente, na literatura, relatos que descrevem os cafés produzidos pela via seca como de qualidade comparativamente inferior à dos cafés produzidos por via úmida (LIMA et al., 2008; PEREIRA; VILLELA; ANDRADE, 2002; SANTOS; CHALFOUN; PIMENTA, 2009; VILELLA, 2002; VINCENT, 1987). Porém, esta diferença não deve ser atribuída somente à forma de processamento, mas também à ocorrência de fermentações indesejáveis que, frequentemente, estão associadas ao processamento por via seca, devido à ausência de cuidados no momento da colheita e da secagem do café natural (BORÉM, 2008). Assim sendo, os cafés naturais têm o potencial de produzir bebidas de melhor qualidade sensorial do que os cafés processados pela via úmida.

De acordo com Leloup et al. (2004), o tipo de processamento altera a composição do café cru, bem como suas características sensoriais. Rendon et al. (2013) confirmam esses resultados verificando que a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), presentes em grãos crus de café arábica, foi menor quando eles foram processados pela via úmida. Em estudos conduzidos por Bytof et al. (2005) foi demonstrado que, durante as etapas da pós-colheita, diversas rotas metabólicas ocorrem no interior dos grãos do café, alterando significativamente a composição química do grão.

Alterações podem ocorrer em grãos de café, indicando possível desorganização das membranas celulares. A fragilidade do sistema de membranas em amostras de *Coffea arabica* processadas pela via úmida foi confirmada por danos estruturais nas etapas de pós-colheita (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010; GUIMARÃES et al., 2002; LELOUP et al., 2004; SANTOS; CHALFOUN; PIMENTA, 2009). Além disso, os autores ressaltaram

a necessidade de estudos mais detalhados das implicações da composição química e bioquímica dos grãos na qualidade da bebida do café.

## **2.5 Análises sensoriais**

A qualidade do café é descrita pela avaliação de suas características físicas e sensoriais baseadas na classificação por peneira, tipo, aspecto visual e análise da bebida (BRASIL, 2003). Porém, a qualidade é determinada, principalmente, pelo sabor e o aroma formados durante a torração, a partir de precursores presentes no grão cru. A formação e a presença destes precursores no grão dependem de fatores genéticos, ambientais e tecnológicos, tais como os métodos de processamento, secagem e armazenamento (ALPIZAR; BERTRAND, 2004; FARAH et al., 2006; MALTA; CHAGAS; OLIVEIRA, 2003).

No Brasil, o café é classificado, tradicionalmente, pela prova de xícara, seguindo as recomendações da Instrução Normativa nº 8 do MAPA (BRASIL, 2003). Mas, essa é uma análise subjetiva, podendo variar de degustador para degustador. Isso porque os procedimentos para a sua realização são menos criteriosos que outros, principalmente quanto à torra do café, fazendo com que esse tipo de avaliação sensorial seja empregado exclusivamente para o café commodity, classificando-o em bebida estritamente mole, mole, apenas mole, dura, riado, rio e rio zona.

São importantes as pontuações obtidas em cada um dos atributos sensoriais que compõem a qualidade da bebida, além da nota global (GIOMO; BORÉM, 2011). Dentre as metodologias disponíveis para análise sensorial de cafés, destaca-se o método da SCCA, elaborado a partir da sistematização de avaliação sensorial proposta por Lingle (2011), a qual utiliza a escala não estruturada de 0 a 10, para a avaliação dos atributos fragrância/aroma, acidez,

corpo, sabor, sabor residual (finalização), doçura, uniformidade, xícara limpa (ausência de defeitos), equilíbrio (harmonia) e avaliação global. Essa metodologia preconiza a utilização de procedimentos padronizados (protocolo) para a sua realização, incluindo avaliações objetivas para a percepção de uniformidade, doçura e defeitos (ALVES, 2007; LINGLE, 2011).

Ainda segundo Lingle (2011), a análise sensorial dos cafés especiais é realizada por etapas ou estágios. No estágio olfativo são avaliados os compostos orgânicos voláteis, sejam eles substâncias que ocorrem naturalmente ou aquelas que são formadas depois do processo de torra. No estágio gustativo avaliam-se as substâncias solúveis em água, principalmente compostos químicos orgânicos ou inorgânicos.

O método da BSCA utiliza a metodologia do “Cup of Excellence” (CoE), indicada por Howell (1998), pela qual cada provador atribuiu notas de 0 a 8 aos atributos sensoriais corpo, aroma, acidez, doçura, balanço, bebida limpa e sabor característico, de acordo com suas intensidades na amostra.

Portanto, são considerados especiais os cafés que, mediante avaliação sensorial pelo método da SCAA ou BSCA, apresentam nota final igual ou superior a 80 pontos.

Fatores ambientais, como temperaturas mais baixas em maiores altitudes, associados a eventos fisiológicos, como períodos mais longos de enchimento dos grãos e translocação de compostos fenólicos, são os principais motivos para explicar a melhora na qualidade da bebida em altitudes superiores (FAGAN et al., 2011; GEROMEL et al., 2008; VAAST et al., 2006). Barbosa et al. (2012) afirmam que a análise das notas de café demonstrou que quanto maior a altitude, maior a nota obtida em concursos de qualidade de bebida em Minas

Gerais (MG), demonstrando a relação existente entre cafés de qualidade sensorial elevada e a altitude em que eles são cultivados.

No Brasil, é comum o uso intensivo de poucas cultivares, geralmente mais produtivas, o que leva à produção de cafés muito semelhantes em relação ao sabor e ao aroma. Portanto, o estudo de cultivares é necessário, visando à busca por novos perfis sensoriais. Para o fator genótipo, os principais relatos encontrados na literatura, que descrevem o efeito isolado do genótipo, referem-se, principalmente, a diferentes espécies do gênero *Coffea* (CAMPA et al., 2005; KY et al., 2001). Embora qualquer cultivar de *C. arabica* tenha potencial para produzir cafés de alta qualidade, os sabores e os aromas diferenciados ocorrem com elevada frequência nas cultivares de Bourbon Amarelo (FIGUEIREDO, 2010; GIOMO; BORÉM, 2011). As principais diferenças de sabor entre genótipos de *C. arabica* devem-se às diferenças na constituição genética das plantas, a qual determina a manifestação de precursores de sabor e aroma distintos entre diferentes genótipos (MEDINA FILHO, 2007).

## **2.6 Aspectos fisiológicos**

Alterações fisiológicas e bioquímicas que podem ocorrer durante o desenvolvimento de sementes e grãos, bem como durante os processos pós-colheita, acarretam em deterioração, afetando a qualidade final. Estas alterações refletem em danos à constituição química e à integridade dos sistemas enzimáticos e de membranas, podendo afetar os precursores do sabor e do aroma da bebida de café. Por meio de pesquisas recentes tem sido identificada relação entre a qualidade sensorial de grãos de café e a qualidade fisiológica dos grãos de café (SAATH, 2010; TAVEIRA et al., 2012).

### **2.6.1 Lixiviação de potássio e condutividade elétrica**

Grãos com membranas celulares desorganizadas e/ou danificadas lixiviam maior quantidade de solutos. Conseqüentemente, apresentam elevados valores de condutividade elétrica e lixiviação de potássio (GOULART et al., 2007; MARQUES et al., 2008; NOBRE et al., 2007; PÁDUA et al., 2002; PIMENTA; COSTA; CHAGAS, 2000), indicando perda de qualidade (KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006; LIMA; LOH; BUCKERIDGE, 2004). Grãos danificados constituem excelente substrato para o desenvolvimento de microrganismos que aceleram a deterioração da semente (CARVALHO; CHALFOUN, 1985; CHALFOUN; PARIZZI, 2008).

De acordo com Malta, Pereira e Chagas (2005), Pimenta (1995) e Reinato et al. (2007), os cafés de melhor qualidade, que são colhidos no estágio de maturação cereja, apresentam menos grãos defeituosos e menores taxas de lixiviação de íons de potássio, pelo fato de apresentarem as paredes celulares menos deterioradas e, conseqüentemente, menor saída desses íons do interior das células. Chagas, Malta e Pereira (2005) afirmam que os grãos de café isentos de defeitos, cujas membranas celulares sofreram menos danos, podem possibilitar uma bebida de melhor qualidade.

Segundo Goulart et al. (2007), estas variáveis podem ser utilizadas para separar cafés de bebidas estritamente mole, mole e apenas mole das bebidas dura, rio e riado. Os índices de lixiviação de potássio (LK) e condutividade elétrica (CE) aumentaram com a redução da qualidade dos cafés analisados.

### **2.6.2 Germinação**

Os eventos bioquímicos ocorridos durante a deterioração refletem na viabilidade e no vigor dos grãos, tornando fundamental a avaliação da qualidade. Na avaliação da qualidade dos grãos, o teste de germinação é uma das técnicas

tradicionalmente mais utilizadas. Por se tratar de um teste de controle de qualidade, deve ser realizado em ambiente de laboratório, sob condições controladas de temperatura, teor de água e luz (PIÑA-RODRIGUES; FILGLIOLIA; PEIXOTO, 2004). Assim, o teste de germinação fornece valores de germinação máxima sob condições ambientais consideradas ótimas para a espécie em estudo (MARCOS FILHO, 2005).

Bytof et al. (2007) e Selmar et al. (2004) observaram alterações bioquímicas durante o processamento, relacionadas ao metabolismo da germinação, cuja extensão depende do tratamento, se via úmida ou via seca, podendo ser indicativo de perda de qualidade (PIMENTA; COSTA; CHAGAS, 2000; PRETE, 1992). Portanto, a avaliação fisiológica dos grãos de café pode se tornar uma valiosa ferramenta para avaliar a qualidade dos grãos e, conseqüentemente, da bebida.

A qualidade fisiológica das sementes é avaliada pelo teste padrão de germinação. Marcos Filho (1987) relata que os testes de vigor possibilitam diferenciar dois lotes de sementes que apresentam poder germinativo semelhante, contudo, o autor menciona que este fato não deve implicar em substituir o teste de germinação pelos de vigor, mas, sim, utilizá-los como informação complementar àquelas obtidas pelo teste de germinação.

Contudo, alterações na qualidade dos grãos, na pós-colheita, constituem um fenômeno ainda pouco conhecido e são alvos de estudos mais avançados. Os eventos que ocorrem nessa fase podem interferir negativamente na qualidade e devem ser rapidamente detectados para prevenção. Portanto, estudos de sistemas enzimáticos podem contribuir para o entendimento dos eventos deteriorativos que culminam em queda na qualidade de bebida dos grãos e no desempenho fisiológico das sementes.

## 2.7 Aspectos bioquímicos

Os fatores genéticos e ambientais e aqueles relacionados à condução e ao manejo da lavoura cafeeira proporcionam diferenças na qualidade de bebida do café, como consequência de diversas alterações físico-químicas, fisiológicas e bioquímicas que ocorrem nos grãos.

Eventos bioquímicos, como oxidação, degradação e inativação de enzimas, redução da atividade respiratória e perda de integridade das membranas celulares, são algumas das alterações relacionadas ao processo de deterioração (COPELAND; MCDONALD, 2001; MCDONALD, 1999; VIDIGAL et al., 2008, 2009). Enzimas envolvidas no processo de deterioração das sementes, como esterase, malato desidrogenase, álcool desidrogenase, catalase e peroxidase, dentre outras, têm potencial para monitorar e caracterizar a qualidade de sementes e, em determinados casos, ajudam no entendimento sobre as causas da redução de vigor (VEIGA et al., 2010).

As perdas qualitativas dos grãos de café ocorrem devido à oxidação dos lipídios, causando importante modificação no sabor e odor, ou seja, como consequência da deterioração (AGUIAR et al., 2005; HAMID et al., 2002; HEIM; TAGLIAFERRO; DENNIS, 2002). Retardar ou inibir a oxidação, evitando o início ou a propagação das reações em cadeia de oxidação, é possível pela ação dos antioxidantes (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006).

A oxidação é uma parte fundamental da via aeróbica e do metabolismo dos organismos e, assim, surgem os radicais livres, que são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. O termo radical livre refere-se ao átomo ou molécula que tem um ou mais elétrons não pareados na sua órbita externa, o que lhe confere alta reatividade (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; FERREIRA; MATSUBARA, 1997), mas, como a maioria das moléculas



permanece com os elétrons pareados em meio biológico e, portanto, não se encontram na forma de radicais, tem sido empregado o termo “espécies reativas do oxigênio” (EROs) (PEREIRA, 2010).

O estresse abiótico, assim como biótico, leva à formação de EROs, tais como o radical superóxido ( $O_2^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila (OH), os quais, normalmente, são gerados nas células das plantas, como uma consequência do metabolismo, no transporte de elétrons no cloroplasto, na mitocôndria e na membrana plasmática, ou como subproduto de várias rotas metabólicas localizadas em diferentes compartimentos celulares (MONDAL et al., 2004; SHARMA et al., 2012). O sistema antioxidante de defesa, incluindo enzimas como superóxido dismutase (SOD), peroxidases do ascorbato (APX) e catalase (CAT), ajudam na remoção de EROs (MITTLER et al., 2004).

Aumento nas concentrações de EROs leva a uma série de mudanças fisiológicas, chamadas de estresse oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999). Quando as EROs estão presentes em excesso nos organismos, apresentam efeitos prejudiciais, como a peroxidação dos lipídios das membrana e agressões às proteínas, aos carboidratos e ao DNA (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; SHARMA et al., 2012), resultando em danos celulares, senescência e morte celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999). A degradação do sistema de síntese de novas enzimas também está diretamente ligada à produção de radicais livres, que afeta a formação de várias enzimas, mediante a promoção de modificações em sua estrutura (MARCOS FILHO, 2005).

A enzima superóxido dismutase (SOD) constitui o primeiro grupo de enzimas que catalisa reação de dismutação de radicais de superóxido livre ( $O_2^-$ ) para oxigênio molecular ( $O_2$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). A transferência de um elétron para o oxigênio produz o primeiro intermediário reativo, o ânion

superóxido ( $O_2^-$ ). O  $O_2^-$  é uma das EROs mais importantes e sua presença pode causar sérios danos às células, principalmente indiretamente, pois pode gerar o radical hidroxila ( $OH^\cdot$ ), porém, é convertido em oxigênio ( $O_2$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) pela ação da SOD (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003; MCDONALD, 1999; MITTLER, 2002). No entanto, o excesso de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) acarreta efeitos prejudiciais, tais como a lipoperoxidação de membranas e a oxidação de proteínas (GRATÃO et al., 2005).

A decomposição do  $O_2^-$  pode ocorrer naturalmente, mas, neste caso, é uma reação de segunda ordem, necessitando que ocorra a colisão entre duas moléculas de  $O_2^-$  (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Os autores afirmam, ainda, que a presença da enzima SOD favorece essa dismutação, tornando a reação de primeira ordem e permitindo a eliminação do  $O_2^-$ , mesmo em baixas concentrações.

O  $OH^\cdot$  é o radical mais deletério aos organismos, causando danos ao DNA, ao RNA, às proteínas, aos lipídios e às membranas celulares (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; SHARMA et al., 2012). A catalase (CAT) é uma enzima antioxidante que atua na desintoxicação do  $H_2O_2$ , catalisando sua redução em água ( $H_2O$ ) e oxigênio ( $O_2$ ) (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003; FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Embora o  $H_2O_2$  formado seja menos reativo que o  $O_2^-$  na presença de metais de transição, como o  $Fe^{+2}$ , pode ocorrer a formação de  $OH^\cdot$  por meio de algumas reações ou pela combinação do  $O_2^-$  com o  $H_2O_2$  (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

Ambos os sistemas compostos pela SOD e pela CAT atuam como desintoxicadores, antes que a lesão seja provocada, buscando neutralizar as EROs (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003; FERREIRA;

MATSUBARA, 1997; PEREIRA, 2010). Os mecanismos enzimáticos de proteção atuam quando há o avanço no processo deteriorativo (NAKADA et al., 2010).

A esterase é uma enzima envolvida na hidrólise de ésteres, estando diretamente ligada ao metabolismo dos lipídeos. Sendo a peroxidação de lipídeos um evento associado a danos de membrana dos grãos (BASAVARAJAPPA; SHEKAR-SHETTY; PRAKASH, 1991), alterações nos padrões dessa enzima podem estar contribuindo para a ocorrência de eventos deteriorativos, reduzindo a germinação à medida que são aumentados os fatores temperatura e teor de água dos grãos no processo de deterioração controlada.

Já as enzimas peroxidases são removedoras de peróxido e a perda da atividade pode tornar o grão mais sensível aos efeitos de  $O_2$  e radicais livres sobre ácidos graxos insaturados de membrana, o que provoca a degeneração das membranas e o comprometimento do vigor. As peroxidases desempenham papel crítico no metabolismo das plantas e na oxidação por peróxidos, como aceptores de hidrogênio, sendo importante nos mecanismos de defesa (FARIA et al., 2003).

Grãos de café apresentam alto conteúdo de polissacarídeos associados às células das paredes celulares (WOLFROM; PATIN, 1964 citados por SILVA, 2002), os quais, geralmente, são depositados como fonte de reserva e são degradados no momento da germinação pela ação de enzimas, incluindo endo- $\beta$ -mananase, bmanosidase, galactosidase e celulase, resultando no enfraquecimento das paredes celulares do endosperma (GIORGINI; COMOLI, 1996; SILVA et al., 2004). Veiga (2010), estudando a deterioração de sementes de café durante o armazenamento, observou que, nas sementes com os piores desempenhos fisiológicos, ocorreram as maiores atividades da enzima endo- $\beta$ -

mananase, o que pode estar relacionado, segundo os autores, com a degradação das paredes celulares resultante do processo de deterioração das sementes.

A identificação de marcadores que constituem ferramentas auxiliares na avaliação da qualidade de grãos pode, em determinados casos, ajudar na inferência da deterioração das sementes (FARIA et al., 2003). Assim sendo, Taveira et al. (2012) afirmam que transformações físicas, fisiológicas e bioquímicas ocorrem nas sementes, sendo que as análises fisiológicas associadas a marcadores bioquímicos, por serem mais sensíveis, podem medir a deterioração incipiente por meio da expressão da atividade de certas enzimas associadas à quebra de reservas ou à biossíntese de tecidos novos. Os autores ainda afirmam que estudos e análises dessas transformações podem ser relacionados com outros tipos de pesquisas para a elucidação das principais alterações que ocorram nos grãos de café, buscando associar tais alterações, à deterioração e conseqüentemente a indicadores da depreciação da qualidade da bebida.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Caracterização do experimento**

O presente estudo compôs algumas das metas propostas no projeto intitulado “Protocolo de identidade, qualidade e rastreabilidade para embasamento da indicação geográfica dos cafés da Mantiqueira”. Especificamente, com este projeto, direcionou-se à obtenção da indicação geográfica, na modalidade Denominação de Origem, dos cafés da microrregião da Serra da Mantiqueira. Para tanto, considerando a grande extensão de abrangência do projeto e a complexidade da paisagem da Serra da Mantiqueira do estado de Minas Gerais, selecionou-se, como área piloto, o município de Carmo de Minas para os estudos detalhados, incluindo a coleta de amostras.

O município de Carmo de Minas representou satisfatoriamente o ambiente característico da região da Serra da Mantiqueira quanto à pluviosidade, à temperatura, à altitude, à declividade e à área de produção de café, sendo, por essa razão, selecionado como área de estudo.

Assim, para o presente estudo, foram coletadas amostras de café (*Coffea arabica* L.), ao longo de três safras agrícolas (2009/10, 2010/11 e 2011/12), em lavouras comerciais de propriedades localizadas no município de Carmo de Minas, MG, Brasil (Figura 1), as quais foram analisadas nos laboratórios de Processamento de Produtos Agrícolas, de Análise de Sementes e de Fisiologia Vegetal, nos departamentos de Engenharia (DEG), Agricultura (DAG) e Biologia (DBI), respectivamente, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.



Figura 1 Localização do município de Carmo de Minas na região sul/sudoeste do estado de Minas Gerais e no Brasil.

O delineamento experimental (Tabela 1) foi inteiramente casualizado em esquema fatorial baseado no estudo da interação entre ambientes, genótipos e formas de processamento. O ambiente de cultivo do café foi estratificado em três classes de altitude (inferior a 1.000 m, entre 1.000 e 1.200 m e superior a 1.200 m). Para cada ambiente foram coletados frutos de dois genótipos, Bourbon Amarelo (frutos amarelos) e Acaíá (frutos vermelhos), sendo esses genótipos escolhidos em um estudo prévio, observando a presença nas diferentes faixas de

altitudes. Para todas as combinações envolvendo ambiente e genótipo, foram coletadas duas repetições processadas em duas formas distintas por via seca e por via úmida, totalizando 24 amostras por safra.

Tabela 1 Parcelas experimentais resultantes da combinação entre altitude, genótipo e método de processamento.

Ambiente - Altitude (m)	Genótipo	Processamento
<1.000	Bourbon Amarelo	Via seca
		Via úmida
	Acaiá	Via seca
		Via úmida
	Bourbon Amarelo	Via seca
		Via úmida
Acaiá	Via seca	
	Via úmida	
1.000-1.200	Bourbon Amarelo	Via seca
		Via úmida
	Acaiá	Via seca
		Via úmida
	Bourbon Amarelo	Via seca
		Via úmida
Acaiá	Via seca	
	Via úmida	
>1.200	Bourbon Amarelo	Via seca
		Via úmida
	Acaiá	Via seca
		Via úmida
	Bourbon Amarelo	Via seca
		Via úmida
Acaiá	Via seca	
	Via úmida	

### 3.2 Colheita e processamento do café

A colheita foi realizada manual e seletivamente, coletando-se em peneiras somente os frutos maduros. Em seguida, os frutos foram levados para o terreiro da fazenda Sertão e, em caixas d'água, fez a separação dos frutos por diferença de densidade, aproveitando somente os mais densos. Após a separação hidráulica, uma nova seleção manual foi realizada para garantir que as amostras fossem constituídas somente por frutos maduros. Para o processamento via seca, cerca de 14 litros de frutos selecionados foram dispostos em telas para secagem ao sol (Figura 2), obtendo-se, assim, as amostras de café natural.



Figura 2 Ilustração do método de secagem dos frutos

Para a obtenção do café por via úmida, optou-se pelo processo desmucilado, removendo-se mecanicamente a mucilagem remanescente após a operação de descascamento dos frutos. Aproximadamente 20 litros de frutos maduros, previamente selecionados, foram descascados e desmucilados, obtendo-se cerca de 7 litros de café desmucilado, os quais foram dispostos em telas para secagem ao sol. O processo de secagem iniciou-se imediatamente após o processamento.

As telas para a secagem das amostras, que têm 1 m<sup>2</sup>, moldura de madeira e malha de 2,00 x 1,00 mm, fabricadas em fios de polietileno, foram

dispostas em terreiro suspenso e distribuídas uniformemente, respeitando-se os limites de 14 L.m<sup>2</sup>, para o café natural e 7 L.m<sup>2</sup>, para o café desmucilado, sendo as amostras revolvidas 20 vezes por dia. Na primeira noite após a sua distribuição nas telas, o café permaneceu descoberto e, nas noites seguintes, as amostras foram cobertas com pano.

A secagem iniciou-se no município de Carmo de Minas e foi concluído em Lavras, e ocorreu em camadas finas, até que o café atingisse a meia seca. Em seguida, foi aumentada, progressivamente, a espessura da camada das amostras de café, até que o mesmo atingisse o teor de água de 11% (bu). Eventualmente, nos períodos em que as condições climáticas não permitiram a secagem ao sol, as amostras foram transferidas para secadores em camadas fixas, com ar aquecido entre 35 °C e 40 °C e revolvidas a cada 30 minutos, garantindo, assim, a continuidade segura do processo de secagem. O processo de secagem em secador foi realizado no Laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas do DEG/UFLA. Todos os procedimentos de colheita, processamento e secagem foram realizados segundo Borém (2008).

### **3.3 Armazenamento e beneficiamento das amostras**

Após a secagem, as amostras foram embaladas em sacos de papel, os quais foram revestidos com sacos plásticos, identificados e armazenados em câmara com temperatura controlada de 10 °C e umidade relativa de 60%, no Laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas.

Após o período de armazenamento, as amostras foram beneficiadas separando-se os grãos quanto à forma e ao tamanho. Foram utilizados somente os grãos chatos das peneiras 16 a 18/64 de polegada, eliminando-se os grãos chatos retidos na peneira de 19/64 de polegada e os grãos tipo moca retidos na peneira com crivo oblongo de 11 x ¾ de polegada. Todos os defeitos foram



retirados, visando à uniformização e, sobretudo, à minimização de interferências que não fossem relacionadas ao material genético, ao processamento ou ao ambiente de cultivo.

### 3.4 Teor de água

O teor de água dos grãos crus de café foi determinado em duas amostras de 10 g, pelo método de estufa, a  $105\pm 1$  °C, por  $16\pm 0,5$  horas, conforme o padrão internacional da ISO 6673 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO, 2003). Os resultados foram expressos em porcentagem em base úmida (% bu).

### 3.5 Análise sensorial

Foram torrados 100 g de grãos de cada amostra dentro do prazo máximo de 24 horas antes da degustação, sendo o ponto de torra determinado visualmente, utilizando-se um sistema de classificação de cor por meio de discos padronizados (SCAA/*Agtron Roast Color Classification System*), conforme Figura 3.



Figura 3 Ilustração do ponto de torra do café

A torra do café foi leve a moderadamente leve, de acordo com o protocolo de análise sensorial da SCAA, cuja coloração deve corresponder a 58

pontos da escala Agtron para o grão inteiro e 63 pontos para o grão moído, com tolerância de  $\pm 1$  ponto. Durante a torração, fatores que afetam o ponto de torra, como temperatura e tempo, foram monitorados, respeitando-se a faixa de tempo entre 8 e 12 minutos. Após a torração, as amostras foram novamente selecionadas, eliminando-se todos os grãos com coloração amarelada que destoaram da coloração padrão da amostra.

A análise sensorial foi realizada por provadores treinados e qualificados como juízes certificados de cafés especiais, utilizando-se a metodologia proposta pela Associação Americana de Cafés Especiais, ou SCAA (LINGLE, 2011). Nessa avaliação foram atribuídas notas, no intervalo de 0 a 10 pontos, para cada um dos seguintes atributos: fragrância/aroma, uniformidade, ausência de defeitos, doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio e impressão global.

Em cada avaliação, foram degustadas cinco xícaras de café de cada amostra e os resultados da avaliação sensorial foram estabelecidos a partir de uma escala que representa os níveis de qualidade com intervalos de 0,25 pontos (Tabela 2).

Tabela 2 Valores atribuídos aos atributos da metodologia da SCAA em cada classe de qualidade do café.

Bom	Muito bom	Excelente	Excepcional
6,00	7,00	8,00	9,00
6,25	7,25	8,25	9,25
6,50	7,50	8,50	9,50
6,75	7,75	8,75	9,75

A faixa inferior da escala, não apresentada e que se situa entre 2 e 6, é aplicável aos cafés comerciais cujo foco de avaliação são os defeitos da bebida e

suas intensidades. Os resultados finais da avaliação sensorial foram expressos de acordo com a escala de classificação da SCAA, apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 Escala de classificação para análise sensorial de cafés especiais, conforme protocolo SCAA.

Pontuação total	Descrição especial	Classificação
95-100	Exemplar	Especialidade super premium
90-94	Excepcional	Especialidade premium
85-89	Excelente	Especialidade
80-84	Muito bom	Especial
75-79	Bom	Qualidade boa normal
70-74	Fraco	Qualidade média
60-70		Nota exchange
50-60		Comercial
40-50		Nota baixa
<40		Sem nota

### 3.6 Avaliação da qualidade fisiológica dos grãos de café

As análises fisiológicas foram realizadas no Laboratório de Análise de Sementes (LAS), no DAG/UFLA. As análises foram realizadas na fração pura das amostras, descascados à mão para evitar danos que comprometessem a realização do teste e retiraram-se os grãos com defeitos visíveis, os quais poderiam interferir nos resultados e no teste de germinação.

As análises fisiológicas foram realizadas em quatro subamostras de 50 sementes, distribuídas em papel tipo germiteste umedecido com quantidade de água equivalente a duas vezes e meia a massa do substrato seco, em câmaras de germinação, à temperatura de 30 °C. As avaliações foram realizadas aos trinta dias após a semeadura, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e os resultados expressos em porcentagem.

### **3.6.1 Protrusão radicular**

A protrusão radicular foi realizada juntamente com o teste de germinação, sendo a contagem feita aos quinze dias após o início do teste. Foram computadas plântulas com emissão de radícula visível, com os resultados expressos em porcentagem.

### **3.6.2 Plântulas com folhas cotiledonares expandidas**

A contagem de plântulas com folhas cotiledonares expandidas foi realizada juntamente com o teste de germinação, sendo a contagem feita aos 45 dias após o início do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem.

### **3.7 Teste de condutividade elétrica**

A condutividade elétrica dos grãos de café foi determinada adaptando-se a metodologia proposta por Krzyzanowski, França Neto e Henning (1991). Foram utilizadas duas repetições de 50 grãos de cada tratamento, os quais foram descascados à mão para evitar danos que comprometessem a realização do teste, pesados com precisão de 0,001 g e imersos em 75 mL de água destilada no interior de copos plásticos de 180 mL de capacidade. Em seguida, os grãos foram mantidos em BOD, sob temperatura constante de 25 °C, por 5 horas, procedendo-se à leitura da condutividade elétrica da solução de embebição em aparelho BEL W12D, expressando-se o resultado em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  de grãos.

### **3.8 Lixiviação de potássio**

A lixiviação de íons de potássio foi realizada nos grãos de café, segundo metodologia proposta por Prete (1992). Após a leitura da condutividade elétrica, a solução de embebição foi submetida à determinação da quantidade de potássio lixiviada. A leitura foi realizada em fotômetro de chama Digimed NK-2002.

Com os dados obtidos, foi calculada a quantidade de potássio lixiviada, expressando-se os resultados em ppm.

### **3.9 Avaliação bioquímica dos grãos de café**

#### **3.9.1 Eletroforese de isoenzimas**

As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Sementes, no DAG/UFLA, na fração pura das amostras, isto é, após a retirada dos grãos com defeitos visíveis, os quais poderiam interferir nos resultados das análises. Amostras dos tratamentos foram maceradas em nitrogênio líquido e as amostras moídas armazenadas em tubos Falcon, em *deep-freezer*, a -80 °C.

Para a extração das enzimas, foi utilizado o tampão Tris HCL 0,2M pH 8,0 + (0,1% de  $\beta$ -mercaptoetanol), na proporção de 250  $\mu$ L por 100 mg de grãos. O material foi homogeneizado em vortex e mantido, por 60 minutos, em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm, por 45 minutos, a 4 °C. A corrida eletroforética ocorreu em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 50  $\mu$ L do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética efetuada a 120 V, por 5 horas. Terminada a corrida, os géis foram revelados para as enzimas esterase (EST), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD), conforme Alfenas (2006).

#### **3.9.2 Atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase**

Para a extração da enzima endo- $\beta$ -mananase, em cada microtubo com 100 mg de pó de cada amostra, foram adicionados 300  $\mu$ l do tampão de extração contendo 0,1 M Hepes e 0,5 M de NaCl (pH 8,0) mais ácido ascórbico na proporção de 5 mg do ácido para cada ml de tampão, em triplicata. Em seguida, os microtubos contendo as amostras foram agitados em vortex, por 1 minuto e

levados para centrífuga, a 10.000 g, por 30 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi aplicado em gel confeccionado com 6 ml de *locust bean gum-sigma* (LBG nr 0753), 0,24 g de agarose (Qbiogene) e 24 ml de tampão pH 5,0.

O LBG 0,5% foi preparado aquecendo-se a solução por 2 horas, a 80 °C, seguida de resfriamento em temperatura ambiente. Já o tampão pH 5,0 foi preparado adicionando-se 11 ml de ácido cítrico 1M, 50 ml de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e 149 ml de água destilada, num total de 210 ml. Os suportes do gel com U-frame (Pharmacia 8001106-89) (vidros) foram limpos com etanol. Este suporte foi coberto com Gelbond film (Pharmacia nr 80-112932), ficando o lado hidrofóbico em contato com o primeiro vidro, para que o lado hidrofílico ficasse em contato com o gel.

O gelbond foi coberto com o segundo suporte e estes suportes foram unidos por prendedores. O gel, antes de ser aplicado, foi aquecido em micro-ondas, por 1 minuto, até a total dissolução da agarose. Pelo mesmo período, o suporte foi aquecido em estufa, a 80 °C, para evitar o perigo de trincas no vidro por diferenças de temperatura entre este e o gel. Neste momento foi feita a aplicação em temperatura ambiente.

Após a solidificação, o gel foi armazenado em geladeira por um período de 24 horas. O gel foi furado com furador de 2 mm de diâmetro e estes furos foram succionados para a retirada de restos de gel com bomba a vácuo. Foram aplicados 2 µl do extrato da amostra por furo, em triplicata de cada amostra. O gel foi transferido para um germinador, a 25 °C, por período de 21 horas, no escuro, em câmara úmida.

Para a revelação, o gel foi inicialmente lavado em água destilada, lavado em tampão (tampão do gel), por 30 minutos e novamente lavado em água destilada. Logo após, o gel foi coberto com o corante vermelho congo a 0,5%,

por 30 minutos e colocado em etanol, por 10 minutos, para a remoção do corante.

Removido o etanol com água destilada, foi adicionada uma solução de 1 M de NaCl até a observação visual da formação de halos brancos nos furos que continham as amostras. Nesse momento, foi feita a medição do diâmetro dos halos em duas direções, com um paquímetro, resultando em uma média. Para o cálculo da atividade da enzima, foi feita uma comparação com a curva padrão gerada pela endo- $\beta$ -mananase comercial de *Aspergillus niger* (Megazyme). O cálculo da atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase foi realizado segundo Downie, Hillhorst e Bewley (1994).

### **3.9.3 Quantificação de enzimas antioxidante**

A atividade das enzimas do metabolismo antioxidantes foi determinada no Laboratório de Fisiologia Vegetal, no DBI/UFLA. As leituras da absorbância foram feitas em espectrofotômetro *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*, ou ELISA. Para a extração das enzimas antioxidantes, foram utilizados 100 mg de grãos macerados em nitrogênio ( $N_2$ ) líquido e homogeneizados no seguinte tampão de extração: fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 1 mM. Os homogeneizados foram centrifugados, a 13.000 g, por 20 minutos, a 4 °C, coletando-se os sobrenadantes para as análises enzimáticas da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) (BIEMELT; KEETMAN; ALBRECHT, 1998).

#### **3.9.3.1 Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)**

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977) em um meio de incubação composto por fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8, metionina 14 mM, EDTA 0,1  $\mu$ M, NBT 75  $\mu$ M e riboflavina 2  $\mu$ M. Os tubos

com o meio de reação e a amostra foram iluminados, por 7 minutos, com uma lâmpada fluorescente de 20W. Para o controle, o mesmo meio de reação sem a amostra foi iluminado. O branco foi mantido no escuro. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da enzima foi feito com a seguinte equação: % de inibição =  $(A_{560} \text{ amostra com extrato enzimático} - A_{560} \text{ controle sem enzima}) / (A_{560} \text{ controle sem enzima})$ . Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio.

### **3.9.3.2 Atividade da enzima catalase (CAT)**

A CAT foi avaliada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm, durante 3 minutos, em um tampão de incubação contendo fosfato de potássio 200 mM, pH 7,0 e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 12,5 mM, incubado a 28 °C, em que foi monitorado o consumo do peróxido de hidrogênio (HAVIR; MCHALE, 1987).

### **3.9.3.3 Atividade da enzima peroxidase do ascorbato (APX)**

A atividade da APX foi realizada segundo Nakano e Asada (1981), monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm. O tampão de incubação era composto por fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0, ácido ascórbico 0,5 mM e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,1 mM.

## **3.10 Análises estatísticas**

Os dados sensoriais, fisiológicos, de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e, para as diferenças significativas detectadas no teste F, aplicou-se o teste de Tukey, a 5% de significância.

Para o estudo dos efeitos conjuntos de genótipo, ambiente e processamento na quantificação da atividade enzimática do grão cru e na



qualidade sensorial da bebida do café, foi aplicada a análise dos componentes principais (PCA) associada à técnica de biplots, com o objetivo de tornar os dados mais acessíveis para análise visual. Esse tipo análise permite, ainda, rearranjar a distribuição das variáveis, de modo a detectar as menores dimensões significativas para explicar as suas similaridades ou dissimilaridades. Foi utilizado o software estatístico Chemoface (NUNES et al., 2012).

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Da análise dos resultados foi observada interação significativa entre genótipo, altitude e tipo de processamento para as variáveis, análise sensorial, condutividade elétrica, lixiviação de potássio e quantificação de enzimas.

Para as variáveis fisiológicas, prostrusão de radícula, germinação e folhas cotiledonares expandidas, nas três safras agrícolas investigadas, não houve interação entre os fatores estudados. Já a interação entre genótipo, altitude e tipo de processamento foi significativa para condutividade elétrica e lixiviação de potássio e, ainda, permitiu fazer relação com os resultados da análises sensorial, sendo que quanto maior os valores para estes testes, menores as notas sensoriais.

### **4.1 Avaliação fisiológica dos grãos de café**

#### **4.1.1 Condutividade elétrica (CE)**

Os testes de condutividade elétrica foram realizados somente para a safra agrícola 2011/2012, pois, nos anos anteriores, os grãos sofreram beneficiamento por maquina, o que inviabilizou a realização do teste com garantia de qualidade. Observando os valores de condutividade elétrica (Tabelas 4 e 5), nota-se que houve efeito significativo da interação entre os três fatores investigados, os tipos de processamento, a altitude e o genótipo.

Na Tabela 4, pelos resultados do desdobramento dos efeitos de tipos processamento para cada faixa de altitude e para cada genótipo, observa-se que os maiores valores encontrados de CE são para os cafés em altitudes mais baixas, porém, estatisticamente, eles não apresentam diferença, exceto para o Bourbon desmucilado acima de 1.200 m e para o Acaiaí desmucilado entre 1.000 a 1.200 m.

Foi, ainda, observada diferença entre os tipos de processamentos utilizados, sendo evidentes os maiores valores da condutividade elétrica nos grãos de café processados por via seca, indicando que, nesse processamento, os grãos ficam mais susceptíveis a danos nos sistemas de membranas celulares. Nos cafés processados pela via úmida, com exceção do genótipo Acaiaí, na faixa de altitude intermediária, os valores de CE apresentaram diferenças significativas, quando comparados às três faixas de altitudes, indicando que a altitude pode propiciar alterações nos sistemas de membranas celulares que comprometam a qualidade sensorial da bebida, sendo possível detectar tais alterações pelo teste de condutividade elétrica.

Tabela 4 Valores de condutividade elétrica dos diferentes métodos de processamentos para a interação entre altitudes e genótipo, na safra 2011/2012

Altitude (m)	Genótipo			
	Bourbon Amarelo		Acaiaí	
	Natural ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Desmucilado ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Natural ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Desmucilado ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )
< 1.000	18,61 aA	15,23 aA	19,5450 aA	10,23 aB
1.000-1.200	17,07 aA	12,23 abB	18,5425 aA	18,53 bA
> 1.200	16,42 aA	10,90 bB	16,5525 aA	12,10 aB

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Cabe ressaltar que as diferenças entre os cafés naturais e desmucilados estão relacionadas à presença do epicarpo e do mesocarpo nos cafés naturais, o

que propicia maior dificuldade para a saída de água do interior do fruto, devido às barreiras físicas, fazendo com que a temperatura no interior dos grãos aumente, podendo causar danos à integridade das membranas celulares de forma mais intensa no café natural do que no desmucilado, mesmo submetendo os grãos ao mesmo método de secagem (SAATH et al., 2012).

Na Tabela 5 são apresentados os valores de condutividade elétrica para os genótipos Bourbon e Acaia, resultantes da interação entre os métodos de processamento e altitudes. Para o processamento via seca, não houve diferenças significativas entre as diferentes altitudes, para os genótipos estudados. Porém, para altitudes inferiores a 1.200 m, quando os grãos de café foram submetidos ao processamento via úmida, observa-se que houve interação entre altitude e processamento, a qual apresentou valor maior para o genótipo Acaia na faixa entre 1.000 a 1.200 m. Quando comparados os dois genótipos no mesmo processamento, nota-se que não existe diferença, exceto para a faixa de altitude abaixo de 1.000 m e entre 1.000 a 1.200 m, para o processamento desmucilado.

Tabela 05 Valores de condutividade elétrica dos genótipos de café para a interação entre altitude e processamento, na safra 2011/2012

Altitude (m)	Processamento			
	Natural		Desmucilado	
	Bourbon ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Acaia ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Bourbon ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Acaia ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )
< 1.000	18,61 aA	19,54 aA	15,23 bB	10,23 aA
1.000–1.200	17,07 aA	18,54 aA	12,23 abA	18,53 bB
> 1.200	16,42 aA	16,55 aA	10,90 aA	12,10 aA

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Com o avanço do processo de deterioração, as primeiras alterações que ocorrem são os danos nas paredes celulares e nas membranas, resultando em peroxidações de lipídios, comprometendo, assim, a qualidade fisiológica. Tais compostos acarretam avanço da deterioração das estruturas de membranas,

refletindo em um processo de ruptura celular, sendo que, de acordo com Lima et al. (2008), quanto maiores os danos em membranas, maior quantidade de eletrólitos é liberada na solução, resultando em maior valor de CE e LK. Essas alterações nas paredes celulares e membranas, confirmadas pelo resultado da CE, são atribuídas aos cafés de pior bebida (CORADI; BORÉM; OLIVEIRA, 2008; FRANCA; MENDONÇA; OLIVEIRA, 2004; GOULART et al., 2007; SAATH, 2010; SAATH et al., 2012).

Em sementes, o aumento da condutividade elétrica é acompanhado de perda de vigor e de potencial germinativo, sendo, portanto, um método utilizado para inferir sobre processos de deterioração em grãos (VIEIRA et al., 2001). Borém et al. (2008) e Coradi et al. (2007) afirmam que o extravasamento de soluto do interior celular, devido à desorganização ou ao rompimento das membranas citoplasmáticas, pode favorecer reações oxidativas ou reações catalíticas com produtos indesejáveis e prejudiciais à qualidade sensorial do café. A perda da permeabilidade seletiva das membranas celulares permite que componentes químicos, antes compartimentalizados, entrem em contato com enzimas hidrolíticas e oxidativas, alterando a composição química dos grãos e, conseqüentemente, o sabor e o aroma da bebida do café por desencadear reações bioquímicas de varias ordens (MARQUES et al., 2008).

Em várias pesquisas foi demonstrado que cafés de pior qualidade apresentam maiores valores de lixiviação de potássio e de condutividade elétrica (BORÉM et al., 2008; MARQUES et al., 2008; SANTOS; CHALFOUN; PIMENTA, 2009), o que condiz com os resultados encontrados neste experimento.

#### 4.1.2 Lixiviação de potássio (LK)

Os testes de lixiviação de potássio foram realizados somente para a safra agrícola 2011/2012, pois, nos anos anteriores, os grãos sofreram beneficiamento por máquina, o que inviabilizou a realização do teste com garantia de qualidade.

Segundo Prete (1992), maiores valores de lixiviação de potássio estão relacionados com o processo de deterioração e a perda de qualidade dos grãos de café.

Na Tabela 6 são apresentados os valores médios de lixiviação de potássio para o desdobramento do processamento em cada faixa de altitude e para cada genótipo dos grãos de café. Verifica-se, pela análise de variância, que houve efeito significativo dos métodos de processamento nas variáveis ambientais (representadas pelas faixas de altitude) e entre os genótipos.

Tabela 6 Valores de lixiviação de potássio da interação entre genótipo e altitudes submetidos a dois tipos de processamento, na safra 2011/2012

Altitude (m)	Genótipos			
	Bourbon Amarelo		Acaiá	
	Natural (mg/kg)	Desmucilado (mg/kg)	Natural (mg/kg)	Desmucilado (mg/kg)
< 1.000	40,72 aA	40,47 aA	35,77 aB	25,30 aA
1.000–1.200	37,52 aB	28,60 bA	32,07 aA	43,17 bB
> 1.200	36,08 aB	28,28 bA	32,11 aA	30,12 aA

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Nota-se que o processamento por via seca, o qual origina os cafés naturais, propiciou grãos com maiores valores de lixiviação de potássio (LK), à exceção do genótipo Acaiá, na faixa de altitude intermediária (1.000 a 1.200 m), confirmando os resultados encontrados para os valores de CE. Em relação ao ambiente de cultivo, para o genótipo Bourbon, nas menores altitudes (<1.000

m), foram obtidos grãos com maiores valores de LK, porém, somente o processamento via úmida foi diferente estatisticamente.

Na Tabela 7 são encontrados os valores de lixiviação de potássio, para a interação entre os métodos de processamento e altitudes. O genótipo Bourbon Amarelo apresentou maior valor de LK do que o genótipo Acaiá, somente para o processamento via úmida e faixa de altitude inferior a 1.000m.

Tabela 07 Valores de lixiviação de potássio dos genótipos de café para a interação entre altitude e processamento, na safra 2011/2012

Altitude (m)	Processamento			
	Natural		Desmucilado	
	Bourbon (mg/kg)	Acaiá (mg/kg)	Bourbon (mg/kg)	Acaiá (mg/kg)
< 1.000	40,72 aA	35,77 aA	40,47 bB	25,30 aA
1.000-1.200	37,52 aA	32,07 aA	28,60 aA	43,17 bB
> 1.200	36,08 aA	32,11 aA	28,28 aA	30,12 aA

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os resultados encontrados neste trabalho corroboram os de Borém et al. (2008), Isquierdo et al. (2011, 2012), Kleinwächter e Selmar (2010), Ribeiro et al. (2011) e Saath (2010), indicando que existe uma concordância de que a degeneração das membranas celulares, com subsequente perda de permeabilidade, seja um dos primeiros eventos que ocorrem com a deterioração. De acordo com Malta, Pereira e Chagas (2005), qualquer fator que altere as estruturas da membrana, como ataque de insetos e microrganismos, alterações fisiológicas, danos mecânicos e térmicos, provoca uma rápida deterioração dos grãos de café. Essas alterações provocam reações que modificam a composição química original do grão de café e, em consequência, suas propriedades sensoriais e fisiológicas.

No presente trabalho, pôde-se constatar que os testes de LK e CE diagnosticaram precocemente algumas das transformações ocorridas nos grãos de café, durante o processamento.

#### **4.1.3 Protrusão radicular, germinação e folhas cotiledonares expandidas**

Nas Tabelas 8 a 13 são apresentados os desdobramentos dos efeitos da altitude e genótipo, para cada tipo de processamento dos grãos de café em relação à sua qualidade fisiológica, em três safras agrícolas consecutivas (2009/10, 2010/11 e 2011/12).

Observa-se que, para as diferentes faixas de altitudes, os valores de protrusão radicular não apresentaram diferenças significativas, ou seja, as variações de altitude não interferem na qualidade fisiológica avaliada por esta variável. A porcentagem de germinação dos grãos de café também não apresentou efeito significativo dos tratamentos de altitudes, exceto pela faixa intermediária de 1.000 a 1.200 m, na safra agrícola 2010/ 2011 (Tabela 10).

Ainda, para os percentuais de folhas cotiledonares abertas, a variação da altitude também não apresentou resultados significantes, exceto para a safra agrícola 2009/2010 (Tabela 8).

Assim sendo, as variações na qualidade dos grãos devidos aos fatores ambientais, não são detectáveis por meio das análises das avaliações fisiológicas, pois as alterações não ocorrem em todas as safras, consequentemente.

Com relação aos efeitos do tipo de processamento (Tabelas 8, 10, 11) sobre a qualidade fisiológica dos grãos de café, observa-se que em poucos tratamentos houve efeito significativo sobre protrusão radicular, germinação e folhas cotiledonares expandidas. Com exceção das folhas cotiledonares

expandidas para o Bourbon Amarelo entre 1.000 a 1.200 m e protrusão radicular para o Acaiá acima de 1.200 m, na safra 2009/2010 (Tabela 8), todos os tratamentos que tiveram efeitos significativos foram para os processados pela via úmida, indicando que os cafés desmucilados sofreram menos danos fisiológicos do que os cafés naturais. Mesmo para os tratamentos não significativos, podem-se observar maiores valores da avaliação fisiológica para os cafés desmucilados. Os menores valores nos cafés naturais indicam danos mais intensos nos grãos processados por via seca. Essa influência pode ter sido atenuada durante os procedimentos de secagem, pois a presença do epicarpo e do mesocarpo nos cafés naturais propicia maior dificuldade para a saída de água do interior do fruto, devido às barreiras físicas, fazendo com que a temperatura no interior dos grãos aumente, podendo causar danos à integridade das membranas celulares de forma mais intensa no café natural do que no desmucilado (SAATH, 2010), causando alterações, as quais influenciaram a qualidade fisiológica (BYTOF et al., 2007; KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006; LELOUP et al., 2004; SELMAR et al., 2004; TAVEIRA, 2009).

Os resultados da avaliação fisiológica neste trabalho corroboram os obtidos por Borém et al. (2008), Reinato et al. (2012) e Taveira et al. (2012), nos quais o processamento via úmida também possibilitou a obtenção de grãos de café de melhor qualidade fisiológica. Estes autores comprovaram que, em todas as características avaliadas, o café desmucilado apresentou melhor desempenho fisiológico em relação aos cafés naturais nas mesmas condições de secagem, em terreiro ao sol. No entanto, Joet et al. (2010), analisando uma ampla gama de metabólitos nos cafés durante o processamento do café via úmida, observaram algumas alterações no conteúdo desses e, ainda, os cafés originados de diferentes ambientes não apresentaram relação destes aspectos fisiológicos dos grãos com a qualidade da bebida dos cafés de altitudes elevadas, conhecidos como cafés de qualidade superior.



Tabela 8 Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e genótipo para os processamentos da safra agrícola 2009/2010

	Altitude (m)	Bourbon Amarelo		Acaiá	
		Natural (%)	Desmucilado (%)	Natural (%)	Desmucilado (%)
Protrusão radicular	< 1.000	73 aA	79 aA	74 aA	83 aA
	1.000 a 1.200	90 aA	96 aA	64 aA	86 aA
	> 1.200	74 aA	94 aA	71 aA	46 aB
Germinação	< 1.000	24 aA	47 aA	19 aB	63 aA
	1.000 a 1.200	62 aA	66 aA	23 aA	46 aA
	> 1.200	42 aA	59 aA	38 aA	29 aA
Folhas cotiledonares expandidas	< 1.000	25 bA	42 aA	17 aB	46 aA
	1.000 a 1.200	48 aA	28 aB	21 aA	31 abA
	> 1.200	16 bB	40 aA	22 aA	13 bA

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, diferem entre si, pelo teste de Tukey (5% de significância).

Tabela 9 Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e processamento, para os genótipos da safra agrícola 2009/2010

	Altitude (m)	Natural		Desmucilado	
		Bourbon (%)	Acaiá (%)	Bourbon (%)	Acaiá (%)
Protrusão radicular	< 1.000	73 A	74 A	79 A	83 A
	1.000 a 1.200	90 A	64 A	96 A	86 A
	> 1.200	74 A	71 A	94 A	46 B
Germinação	< 1.000	24 A	19 A	47 A	63 A
	1.000 a 1.200	62 A	23 B	66 A	46 A
	> 1.200	42 A	38 A	59 A	29 A
Folhas cotiledonares expandidas	< 1.000	25 A	17 A	42 A	46 A
	1.000 a 1.200	48 A	21 B	28 A	31 A
	> 1.200	16 A	22 A	40 A	13 B

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey (5% de significância).

Tabela 10 Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e genótipo, para os processamentos da safra agrícola 2010/2011

	Altitude (m)	Bourbon Amarelo		Acaiá	
		Natural (%)	Desmucilado (%)	Natural (%)	Desmucilado (%)
Protrusão radicular	< 1.000	77 aB	96 aA	73 aB	98 aA
	1.000 a 1.200	87 aA	97 aA	75 aA	93 aA
	> 1.200	80 aA	99 aA	82 aA	99 aA
Germinação	< 1.000	54 aB	89 aA	63 aB	91 aA
	1.000 a 1.200	80 aA	94 aA	64 aA	61 bA
	> 1.200	66 aB	96 aA	76 aB	94 aA
Folhas cotiledonares expandidas	< 1.000	22 a A	41 aA	31 aA	33 aA
	1.000 a 1.200	40 aA	56 aA	52 aA	35 aA
	> 1.200	33 aB	63 aA	22 aA	22 aA

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, diferem entre si, pelo teste de Tukey (5% de significância).

Tabela 11 Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e processamento, para os genótipos da safra agrícola 2010/2011

	Altitude (m)	Natural		Desmucilado	
		Bourbon (%)	Acaiá (%)	Bourbon (%)	Acaiá (%)
Protrusão radicular	< 1.000	77 A	73 A	96 A	98 A
	1.000 a 1.200	87 A	75 A	97 A	93 A
	> 1.200	80 A	82 A	99 A	99 A
Germinação	< 1.000	54 A	63 A	89 A	91 A
	1.000 a 1.200	80 A	64 B	94 A	61 B
	> 1.200	66 A	76 A	96 A	94 A
Folhas cotiledonares expandidas	< 1.000	22 A	31 A	41 A	33 A
	1.000 a 1.200	40 A	52 A	56 A	35 A
	> 1.200	33 A	22 A	63 A	22 B

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si, pelo teste de Tukey (5% de significância).

Tabela 12 Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e genótipo, para os processamentos da safra agrícola 2011/2012

	Altitude (m)	Bourbon Amarelo		Acaiá	
		Natural (%)	Desmucilado (%)	Natural (%)	Desmucilado (%)
Protrusão radicular	< 1.000	85 aB	96 aA	84 aB	95 aA
	1.000 a 1.200	84 aB	98 aA	89 aA	95 aA
	> 1.200	96 aA	93 aA	86 aB	97 aA
Germinação	< 1.000	76 aA	89 aA	60 aB	93 aA
	1.000 a 1.200	70 aA	94 aA	90 aA	100 aA
	> 1.200	88 aA	95 aA	87 aA	93 aA
Folhas cotiledonares expandidas	< 1.000	46 aA	43 aA	35 aA	61 aA
	1.000 a 1.200	40 aA	61 aA	51 aA	37 aA
	> 1.200	58 aA	47 aA	44 aA	37 aA

Médias seguidas de letras distintas, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, diferem entre si, pelo teste de Tukey (5% de significância).

Tabela 13 Resultados das avaliações fisiológicas da interação entre altitude e processamento, para os genótipos da safra agrícola 2011/2012

	Altitude (m)	Natural		Desmucilado	
		Bourbon (%)	Acaiá (%)	Bourbon (%)	Acaiá (%)
Protrusão radicular	< 1.000	85 A	84 A	96 A	95 A
	1.000 a 1.200	84 A	89 A	98 A	95 A
	> 1.200	96 A	86 A	93 A	97 A
Germinação	< 1.000	76 A	60 B	89 A	93 A
	1.000 a 1.200	70 A	90 A	94 A	100 A
	> 1.200	88 A	87 A	95 A	93 A
Folhas cotiledonares expandidas	< 1.000	46 A	35 A	43 A	61 A
	1.000 a 1.200	40 A	51 A	61 A	37 A
	> 1.200	58 A	44 A	47 A	37 A

Médias seguidas de letras distintas, na linha, diferem entre si, pelo teste de Tukey (5% de significância).

## **4.2 Avaliação bioquímica dos grãos de café**

A caracterização do perfil proteico dos cafés foi realizada para ser confrontada com a qualidade dos grãos de café, uma vez que o aumento na atividade dessas enzimas, em laboratório, está relacionado à perda de qualidade e deterioração, pois as enzimas antioxidantes são conhecidas como removedores de radicais livres, que são indicadores de deterioração (BRANDÃO JÚNIOR; CARVALHO; VIEIRA, 1999). A maior atividade das enzimas no laboratório indica que, para os grãos, quando estavam no campo, as enzimas não foram ativadas para combater os radicais livres que deterioram e diminuem a qualidade dos grãos. Logo, menor atividade das enzimas no campo reflete em uma maior atividade de enzimas em laboratório, indicando diminuição da qualidade dos grãos.

Em relação aos resultados das avaliações bioquímicas, as enzimas foram um bom indicativo de qualidade dos grãos, sendo que quanto maior os valores da atividade e quantificação, mais eficiente se torna o sistema de proteção contra agentes oxidativos nos grãos de café, fazendo com que estes apresentem melhor qualidade fisiologia.

### **4.2.1 Eletroforese de isoenzimas**

#### **4.2.1.1 Superóxido dismutase (SOD)**

Analisando os géis de eletroforese da enzima superóxido dismutase dos grãos de café processado via seca (Figura 4), observa-se que à altitude de <1.000 m, o genótipo Acaiá teve, nas duas primeiras safras agrícolas (09/10 e 10/11), maior atividade da enzima, em comparação com o genótipo Bourbon Amarelo, o qual teve maior atividade no terceiro ano (11/12). Na faixa de altitude de 1.000 a 1.200 m, o genótipo Acaiá teve a maior atividade da enzima, exceto para o tratamento B2 (Figura 4) que teve maior atividade da SOD. Para a faixa de

altitude >1.200 m, o genótipo Acaiá apresentou maior atividade enzimática. De maneira geral, a atividade da enzima SOD foi maior no genótipo Acaiá, para as três faixas de altitudes. No processamento via úmida, a atividade da SOD também é maior no genótipo Acaiá. Atividades mais intensas foram observadas nas altitudes intermediárias (1.000 a 1.200 m) e nas maiores altitudes (>1.200 m), com poucas variações entre as três safras agrícolas.

Esses resultados mostram que não existe um perfil predominante para a enzima SOD, quando ocorre a interação entre processamento, altitude e genótipos, para os três anos de coleta do experimento. A relativa uniformidade da atividade da SOD nos grãos de cafés pode estar relacionada à alta qualidade dos cafés, com pequenas diferenças na qualidade sensorial e fisiológica. Elevada atividade dessas enzimas em plantas promove proteção e tolerância das mesmas ao estresse (SAATH, 2010). Gomes-Júnior et al. (2006), estudando o metabolismo antioxidante em cafeeiro, observaram aumento na atividade da SOD, devido ao estresse causado pela atividade do cádmio.

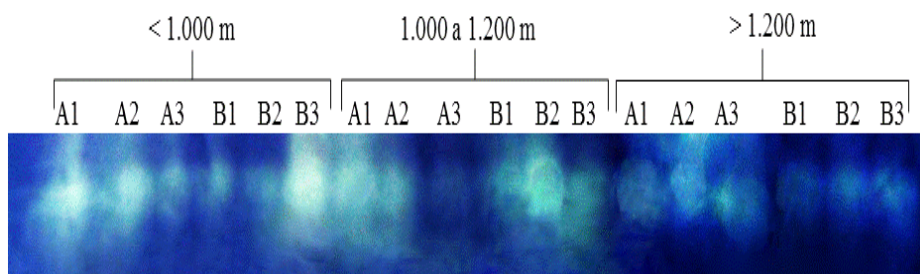


Figura 4 Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via seca revelados para a enzima superóxido dismutase. A= Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.

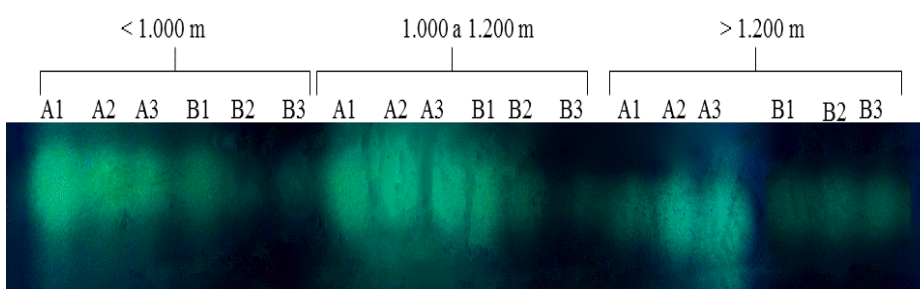


Figura 5 Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via úmida, revelados para a enzima superóxido dismutase. A = Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 = Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.

Rendon et al. (2013) observaram um aumento da atividade da enzima SOD, nos primeiros dias após o processamento, indicando que a SOD está mais ativa nos cafés cereja descascado. Porém, os autores afirmam que o comportamento desta enzima é oscilatório, devido a outros processos metabólicos e ações de outras enzimas, evitando uma maior atividade da SOD, a qual ocorre nos cafés naturais.

Por outro lado, os resultados deste trabalho não estão de acordo com os encontrados por Taveira et al. (2012) que, estudando métodos de secagem, mostraram que não houve diferença na atividade da SOD para os diferentes

métodos de processamento, para as mesmas condições deste trabalho. Saath (2010), avaliando o armazenamento de grãos de café, também encontrou resultados similares, afirmando que não há diferença entre o tratamento natural e o desmucilado, para a atividade da enzima SOD.

#### **4.2.1.2 Catalase (CAT)**

Nas Figuras 6 e 7 encontram-se os padrões enzimáticos representando a variação da atividade da enzima catalase, para os dois tipos de processamento (via seca e via úmida) e para cada ano da safra agrícola, decorrente da interação genótipo e ambiente. Pelo padrão da enzima catalase, foi possível verificar diferenças de intensidade e nitidez nas bandas dos cafés via seca e via úmida.

O genótipo Acaiá apresentou a maior atividade enzimática para ambos os processamentos. Na interação entre genótipo e ambiente, nos dois processamentos, não houve diferença entre as três faixas de altitudes, em qualquer dos três anos de colheita, para a variedade em questão. Já o genótipo Bourbon Amarelo se destacou no processamento natural, obtendo diminuição da atividade da catalase nas safras 10/11 e 11/12 (B2; B3) (Figura 6), nas três faixas de altitudes. Para o café processado pela via úmida não houve diferença na atividade enzimática (Figura 7), porém, nota-se que a safra 10/11 (safra 2) apresentou maior atividade enzimática para os genótipos, nas três faixas de altitudes.

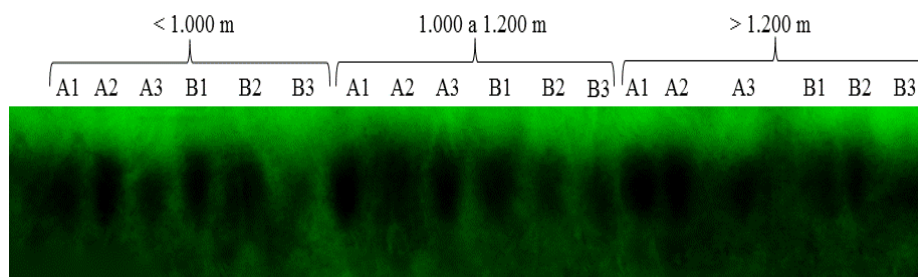


Figura 6 Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via seca, revelados para a enzima catalase. A= Acaiaí; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.

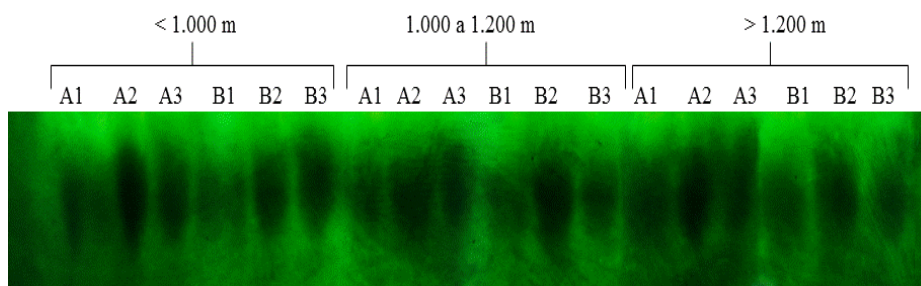


Figura 7 Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via úmida, revelados para a enzima catalase. A= Acaiaí; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.

Os resultados apresentados estão de acordo com os de Taveira et al. (2012) que observaram atividade enzimática mais intensa para os cafés naturais. Entretanto, os resultados encontrados por Saath (2010) são controversos, evidenciando que os cafés desmucilados apresentam maior atividade da enzima. A autora afirma que, em condições de estresse, o  $H_2O_2$  produzido pode ser mais consumido em processos oxidativos, como na peroxidação de lipídios, do que eliminado do metabolismo pela ação de enzimas antioxidantes. Esta afirmação pode justificar a menor atividade enzimática e a alta peroxidação lipídica no café natural.



Frequentemente, a peroxidação de lipídeos da membrana celular leva a danos celulares caracterizados pela alteração da fluidez, a modificação estrutural dos sistemas enzimáticos e a destruição das membranas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999). Os grãos perdem a viabilidade devido à peroxidação de compostos na presença de oxigênio, causando uma série de eventos indesejáveis, incluindo diminuição de lipídios, redução da competência respiratória e aumento na concentração de compostos voláteis (BRANDÃO JÚNIOR; VIEIRA; HILHOST, 2002; WILSON JUNIOR; MCDONALD JUNIOR, 1986). McDonald (2004) afirma que a peroxidação lipídica inicia-se com a geração de radicais livres pela oxidação por enzimas.

Segundo Bailly (2004), Bailly et al. (1996) e Sharma et al. (2012), a catalase é uma enzima envolvida na remoção de peróxidos de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e que pode desempenhar o controle desses peróxidos, por meio do ciclo de oxidorredução.

#### **4.2.1.3 Esterase (EST)**

Quanto à influência do processamento nas diferentes altitudes e genótipos, na atividade da enzima esterase nota-se que o processamento via seca proporciona uma maior atividade enzimática nos grãos, em comparação com o processamento via úmida.

A atividade da enzima esterase reduz a eficiência de proteção nos fosfolipídios das membranas (HENNING et al., 2009) devido à maior peroxidação de lipídios, uma vez que esta enzima está envolvida em reações de hidrólise de ésteres, estando, também, diretamente ligada ao metabolismo de lipídios (BRANDÃO JÚNIOR; VIEIRA; HILHOST, 2002; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2005; VEIGA et al., 2010). Portanto, pode-se promover a desestabilização da bicamada lipídica, acentuando o processo de deterioração

(VIEIRA; PINHO; SALGADO, 2006). Isto pode ser visto no teste de condutividade elétrica (Tabela 4), já que a esterase atua no sistema de membrana, promovendo desestruturação e extravasamento celular.

Entre os genótipos, não houve diferença para a atividade da enzima nos dois processamentos utilizados. Na interação genótipo e ambiente também não foram observadas diferenças consistentes para os padrões enzimáticos, mas pode-se notar uma leve redução nos tratamentos B2 e B3 do café natural (Figura 8) para as altitudes > 1.200 m. A atividade da enzima foi reduzida, acarretando melhora na qualidade da bebida desses cafés. Esses resultados são semelhantes aos de Santos, Menezes e Villela (2005) que, ao estudarem a atividade da esterase em sementes de feijão, verificaram aumento da atividade enzimática, devido ao avanço no grau de deterioração.

A atividade da esterase nos grãos de café está de acordo com os resultados do trabalho de Taveira et al. (2012), os quais observaram que, em condições naturais de secagem, o processamento via seca apresentou maior atividade da EST nas mesmas condições deste experimento.

Sendo a peroxidação de lipídeos um evento associado aos danos de membrana dos grãos, as alterações podem indicar a ocorrência de eventos deteriorativos, que podem contribuir para a redução na germinação, devido ao aumento do metabolismo. Ressalta-se que esta resposta pode ser de natureza genética e não de qualidade fisiológica, indicando que a atividade da enzima esterase, por si só, não é um indicativo de qualidade (BASAVARAJAPPA; SHEKAR-SHETTY; PRAKASH, 1991).

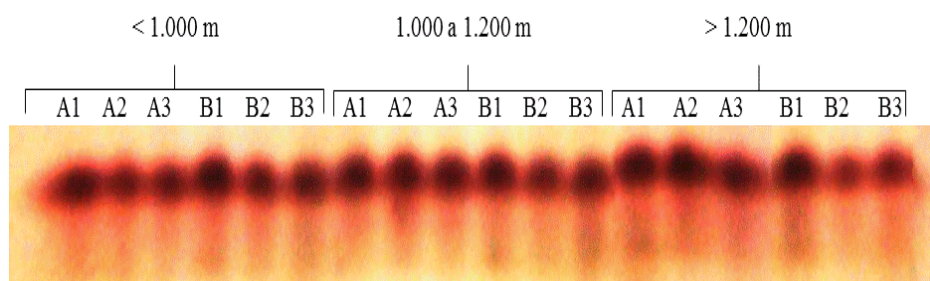


Figura 8 Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via seca, revelados para a enzima esterase. A= Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.

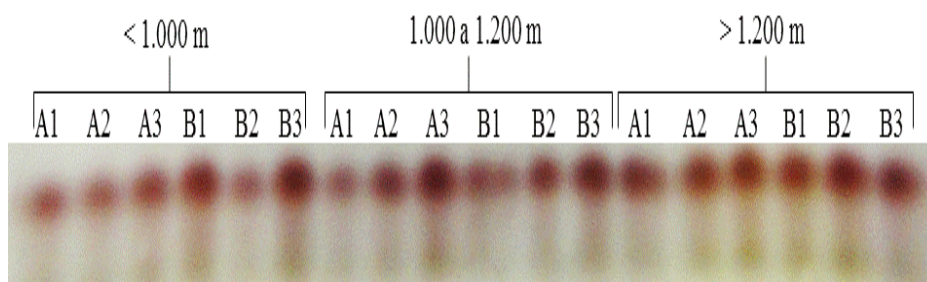


Figura 9 Padrões enzimáticos de grãos de café processado pela via úmida, revelados para a enzima esterase. A= Acaiá; B = Bourbon; 1=Safra 2009/2010; 2 =Safra 2010/2011; 3 = Safra 2011/2012.

#### 4.2.2 Quantificação da atividade de enzimas antioxidantes

Os valores médios das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e endo- $\beta$ -mananase (MAN), em função da interação altitude, processamento e genótipo, encontram-se na Tabela 14.

Tabela 14 Valores médios da quantificação das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e endo- $\beta$ -mananase (MAN) para a interação entre, genótipos, altitude e processamento

Altitude (m)	Processamento	Genótipo	CAT ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ug proteína}^{-1}$ )	APX ( $\mu\text{mol de AsA min}^{-1} \text{ug proteína}^{-1}$ )	SOD ( $\text{Umg.proteína}$ )	MAN ( $\text{pmolmin}^{-1}\text{g}^{-1}$ )
< 1.000	Natural	Acaiá	0,00338	0,00015	0,00151	2,24564
		Bourbon Amarelo	0,00507	0,00106	0,00026	7,29319
	Desmucilado	Acaiá	1,61E-07	8,83E-08	4,45E-07	3,15E-01
		Bourbon Amarelo	1,48E-07	2,82E-07	1,18E-07	5,77E-01
1.000-1.200	Natural	Acaiá	0,00518	0,00024	0,01155	2,39115
		Bourbon Amarelo	0,00462	0,00024	0,00279	3,39620
	Desmucilado	Acaiá	2,25E-07	9,93E-08	4,80E-06	0,62383
		Bourbon Amarelo	2,39E-07	1,07E-07	1,26E-06	0,58659
> 1.200	Natural	Acaiá	0,00194	0,01092	0,03922	2,91198
		Bourbon Amarelo	0,00326	0,00105	0,01203	6,12575
	Desmucilado	Acaiá	1,76E-07	3,90E-06	1,58E-05	6,10E-01
		Bourbon Amarelo	1,67E-07	5,89E-07	6,09E-06	5,42E-01

Com o objetivo de melhor compreender o efeito dos fatores investigados, os resultados das análises de enzimas antioxidantes foram submetidos à análise multivariada. Quando se utiliza análise multivariada para reduzir variáveis, considera-se adequada, para a sua realização, uma variabilidade acumulada acima de 70%. Por outro lado, quando o objetivo da análise é discriminar grupos, como é o caso deste experimento, considera-se adequado para a sua realização uma variabilidade acumulada acima de 60% (REINATO et al., 2012).

A discriminação dos grupos de tratamentos foi realizada pela análise dos componentes principais (ACP), a partir da interação entre processamento, genótipos e altitude, resultando em agrupamentos de acordo com a quantificação das enzimas e a análise sensorial do café, utilizando o software estatístico Chemoface (NUNES et al., 2012).

Por meio dos biplots (Figuras 10 e 11), verificou-se que a quantificação das enzimas contribuiu de maneira expressiva na formação de agrupamentos, em função da altitude, do genótipo e do processamento pós-colheita. O biplot construído representou cada tratamento (genótipo, altitude, processamento) por um ponto e cada variável dependente (quantificação das enzimas e nota sensorial) por um vetor com escalas representativas dos valores.

O biplot dos genótipos, das classes de altitude, e dos tipos de processamento para as enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e endo- $\beta$ -mananase (MAN) e os resultados da ACP encontram-se na Figura 10.

Observa-se uma representação dos resultados obtidos da ACP referente à distribuição dos diferentes tipos de processamento (natural e desmucilado), ambiente (três faixas de altitude) e genótipo, em função dos teores médios da

quantificação das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e endo- $\beta$ -mananase (MAN), nos grãos de café crus. Na representação gráfica, cada eixo (componente principal) explica uma porcentagem da variação total entre as amostras. Após a análise, verificou-se que os dois primeiros componentes principais explicam 93,24% da variabilidade das respostas, o que demonstra excelente explicação da variação ocorrida, em relação aos valores de atividades das enzimas analisadas.

Nos biplots apresentados nas Figuras 10 e 11, o ângulo formado pelos vetores corresponde à correlação entre os vetores, representando as variáveis estudadas. Quanto menor o ângulo entre os vetores, maior a correlação entre as variáveis. Já a representação da interação dos tratamentos é dada por pontos. Quanto mais próximo um ponto do outro, maior a similaridade entre os valores das variáveis estudadas.

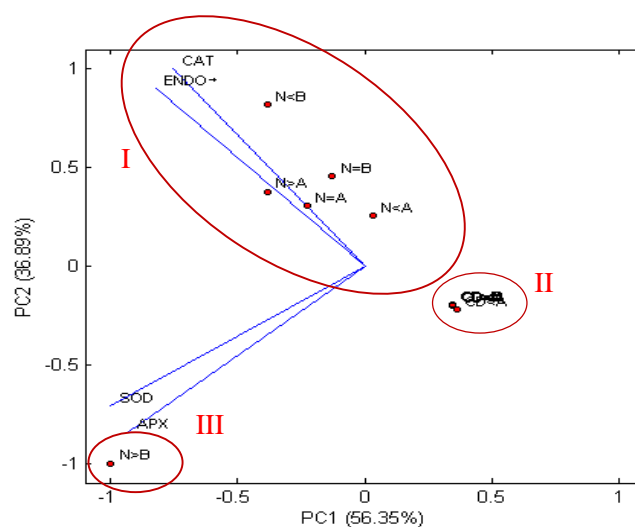


Figura 10 Biplot com PCA para a atividade das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e endo- $\beta$ -mananase (ENDO). N<A (Natural, <1.000 m, Acaia), N=A (Natural, 1.000 a 1.200 m, Acaia), N>A (Natural, >1.200 m, Acaia); N<B (Natural, <1.000 m, Bourbon), N=B (Natural, 1.000 a 1.200 m, Bourbon), N>B (Natural, >1.200 m, Bourbon), CD<A (Desmucilado, <1.000 m, Acaia),

CD=A (Desmucilado, 1.000 a 1.200 m, Acaiá), CD>A (Desmucilado, >1.200 m, Acaiá), CD<B (Desmucilado, <1.000 m, Bourbon), CD=B (Desmucilado, 1.000 a 1.200 m, Bourbon), CD>B (Desmucilado, >1.200 m, Bourbon).

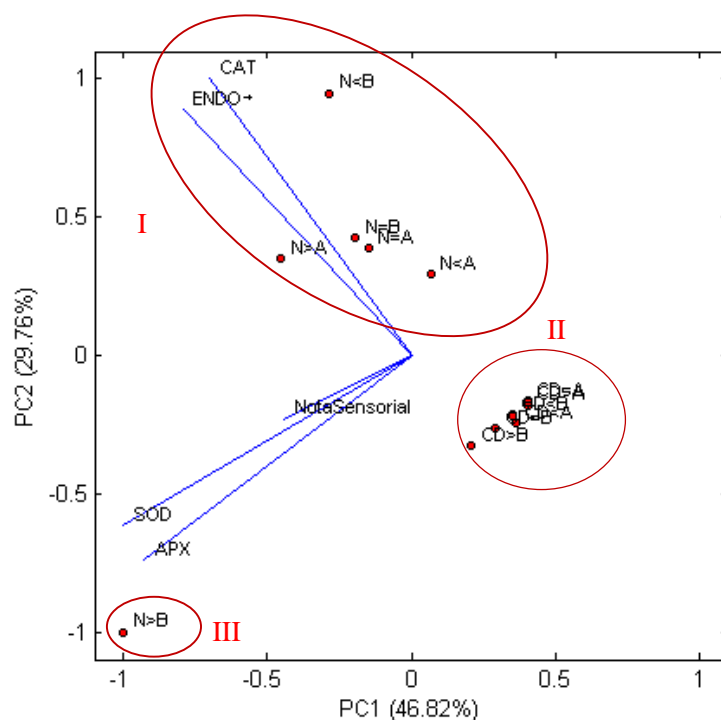


Figura 11 Biplot com PCA para a atividade das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) e endo- $\beta$ -mananase (MAN) e notas sensoriais. N<A (Natural, <1.000 m, Acaiá), N=A (Natural, 1.000 a 1.200 m, Acaiá), N>A (Natural, >1.200 m, Acaiá); N<B (Natural, <1.000 m, Bourbon), N=B (Natural, 1.000 a 1.200 m, Bourbon), N>B (Natural, >1.200 m, Bourbon), CD<A (Desmucilado, <1.000 m, Acaiá), CD=A (Desmucilado, 1.000 a 1.200 m, Acaiá), CD>A (Desmucilado, >1.200 m, Acaiá), CD<B (Desmucilado, <1.000 m, Bourbon), CD=B (Desmucilado, 1.000 a 1.200 m, Bourbon), CD>B (Desmucilado, >1.200 m, Bourbon).

Os vetores que representam as enzimas catalase e endo- $\beta$ -mananase apresentaram um pequeno ângulo entre eles, com alta correlação. Os vetores das enzimas peroxidase do ascorbato (APX) e a superóxido dismutase (SOD) apresentaram uma pequena angulação, o que indica que o teor dessas enzimas tem comportamento similar em função das variáveis estudadas, ou seja, alta relação.

A relação entre a SOD e a APX está de acordo com Matamoros et al. (2010) que, estudando função das enzimas antioxidantes em ervilhas, relataram que a atividade das enzimas diminuíram, exceto a atividade da APX e da SOD. Gill e Tuteja (2010), avaliando espécies reativas de oxigênio e mecanismos antioxidante no estresse de plantas, verificaram uma melhoria dos mecanismos de proteção e dos mecanismos de eliminação de EROS com ação análoga da SOD e APX nos cloroplastos e nas mitocôndrias.

A peroxidase do ascorbato é um componente central do ciclo glutatona ascorbato, desempenhando um papel essencial no controle dos níveis intracelulares de EROs, usando duas moléculas de ácido ascórbico para reduzir  $H_2O_2$  em água com simultânea geração de duas moléculas de monodeidroascorbato. A APX é reconhecida como uma das enzimas antioxidantes mais amplamente distribuídas em plantas, apresentando grande afinidade pelo  $H_2O_2$ , o que a torna eficiente sob condições estressantes (SHARMA et al., 2012).

No entanto, além de a APX exercer a função de regular o nível de  $H_2O_2$  nas células, existem outras enzimas para tal função (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003). Estes resultados podem ser um indicativo de que outras enzimas, como a catalase, estejam atuando preferencialmente na eliminação do peróxido de hidrogênio.



Sobre as enzimas catalase (CAT) e endo- $\beta$ -mananase (MAN), com um pequeno ângulo entre seus vetores, apresentando alta relação, é possível afirmar que esta alta interação se deve ao fato de que a enzima MAN atua no sistema de degradação do endosperma durante a germinação das sementes e em processos de deterioração. Em sementes de alface e café, esta enzima é considerada chave no processo de germinação e também relacionada aos danos de membranas, estando envolvida na degradação de mananas no momento da germinação, resultando no enfraquecimento das paredes celulares do endosperma (SILVA et al., 2004).

O fenômeno da germinação compreende uma sequência ordenada de eventos metabólicos, o qual aumenta a respiração das sementes, ocorrendo a utilização das reservas, resultando em um aumento das EROs. Para inibir a Eros, o sistema de defesa antioxidante age com a atuação das enzimas, sendo todo esse processo o reinício do desenvolvimento do embrião, originando uma plântula normal (MARCOS FILHO, 1987). Como todos os frutos colhidos no presente experimento se encontravam no estágio de maturação conhecido como “café cereja”, que fisiologicamente é o ponto de maturidade fisiológica (PMF), no qual a semente está apta a germinar, pode-se afirmar que os maiores valores da enzima MAN estão relacionados ao maior estado de deterioração de alguns tratamentos.

Veiga et al. (2007) observaram que, em sementes colhidas no estágio cereja, existe maior atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase do que em sementes colhidas no estágio verde cana, durante o processo de germinação. As sementes colhidas no estágio cereja também apresentaram maiores valores de germinação e de vigor, o que se deve ao fato de a enzima endo- $\beta$ -mananase estar envolvida na degradação das membranas para que ocorra a germinação e, ainda, estar relacionada com os danos nas paredes celulares (SILVA, 2002).

Contudo, o aumento da atividade da enzima MAN, como foi observado, indica um preparo para a germinação, fazendo com que EROs sejam produzidas devido ao estresse oxidativos. Mondal et al. (2004) concluíram que uma menor atividade das enzimas SOD e APX reduz a habilidade de remoção de radicais livres, mediando mudanças bioquímicas que levam a um processo de amadurecimento mais rápido, o que pode ter contribuído para um ciclo de maturação mais curto e o início do processo de germinação.

Esses resultados corroboram os obtidos esta pesquisa, indicando que quanto menores os valores de SOD e APX, maiores os de MAN e CAT, sendo os responsáveis pela formação dos agrupamentos I e III (Figura 10).

Ainda, Mondal et al. (2004) encontraram níveis ligeiramente decrescentes de  $H_2O_2$  em frutos de tomate com o decorrer do amadurecimento, como um possível resultado de queda na atividade da SOD e aumento na atividade da CAT. Sharma et al. (2012) observaram, para a catalase, que sua atividade apresentou valores menores que os da enzima APX, com efeitos menos pronunciados da altitude.

Portanto, a atividade da enzima catalase está mais associada ao sistema antioxidante durante a germinação do que em outros estádios de desenvolvimento dos grãos, o que é compreensível, pois a função da catalase é atuar na eliminação do  $H_2O_2$ , catalisando-a em  $H_2O$  e  $O_2$  que não causam danos ao embrião.

Na Figura 10, o primeiro componente principal sugere proximidade entre os pontos, formando três grupos distintos da interação entre processamento, genótipos e ambientes: o primeiro (I), formado pelos genótipos Acaiá e Bourbon Amarelo, para as três faixas de altitude e somente o processamento natural, com os pontos alocados na parte superior esquerda do

biplot; o segundo (II), processamento via úmida (C.D.), formado pelos genótipos Acaia e Bourbon Amarelo, para as três faixas de altitude, com pontos alocados à direita do biplot, e o terceiro (III), formando o único tratamento, sendo processamento natural, >1.200 m e genótipo Bourbon Amarelo, alocados na parte inferior esquerda do biplot (Figura 10).

Os resultados observados na Tabela 15 indicam que a contribuição que teve maior importância para as variáveis, para a formação da componente 1 (PC1), foi a atividade das enzimas APX e SOD. Já em relação à componente 2 (PC2), a atividade da catalase e a da endo- $\beta$ -mananase foram as variáveis que mais influenciaram para a sua formação.

Tabela 15 Correlações entre as variáveis dependentes (catalase, APX, SOD e endo- $\beta$ -mananase) e os dois primeiros componentes principais

Parâmetros	PC1 (56,35%)	PC2 (36,89%)
Catalase	-0,75	1,00
APX	-0,93	-0,84
SOD	-1,00	-0,71
Endo- $\beta$ -mananase	-0,82	0,90

A formação dos grupos (I, II e III), na Figura 10, deve-se, principalmente, à componente 1 (PC1), por causa da diferença nas atividades das enzimas APX e SOD. O tratamento pertencente ao grupo III apresentou alta relação com estas componentes.

Os cafés desmucilados se encontram no grupo II. Verifica-se que a primeira componente foi a que mais contribuiu para a formação desse grupo.

Portanto, pode-se inferir que os fatores que mais influenciaram na diferenciação do café desmucilado (CD) foram os menores valores das quantidades das enzimas encontradas neste processamento.

O grupo I teve alta relação com as enzimas CAT e endo- $\beta$ -mananase, quando comparado aos outros grupos. Os menores valores destas enzimas e os maiores da APX e SOD contribuíram de maneira expressiva para a formação do agrupamento III.

Para relacionar a atividade das enzimas com a qualidade da bebida do café e a interação entre o tipo de processamento, genótipo e ambiente, foi gerado um novo biplot (Figura 11). Para gerar um novo biplot, foram adicionadas as notas sensoriais das bebidas na análise multivariada, para verificar se existe interação entre a atividade das enzimas e as notas sensoriais.

Os dois primeiros componentes principais explicam 76,58% da variabilidade das respostas, o que demonstra boa explicação da variação ocorrida entre as amostras das variáveis estudadas.

Na Figura 11 foram formados três grupos distintos da interação entre processamento, genótipo e ambiente; o primeiro (I), formado pelos genótipos Acaia e Bourbon Amarelo, para as três faixas de altitude e somente o processamento natural, com os pontos alocados na parte superior esquerda do biplot; o segundo (II), processamento via úmida (C.D.), formado pelos genótipos Acaia e Bourbon Amarelo, para as três faixas de altitude, com pontos alocados à direita do biplot, e o terceiro (III,) formado por único tratamento, sendo processamento natural, >1.200 m e genótipo Bourbon Amarelo, alocados na parte inferior esquerda do biplot (Figura 11).

Verifica-se, na Figura 11, que os tratamentos presentes nos grupos I, II e III são iguais aos dos grupos da Figura 10, mesmo com menor porcentagem de explicação da variabilidade das respostas.

Os maiores valores das enzimas SOD e APX, concomitante com os maiores valores de nota sensorial, foram os responsáveis para a formação do grupo III. Já os menores valores da nota sensorial e os maiores valores das enzimas catalase e endo- $\beta$ -mananase foram os responsáveis pela formação do agrupamento I.

O grupo III, que contém o genótipo Bourbon Amarelo, processamento natural e >1.200 m, se destacou, apresentando teores de SOD e APX maiores que todos os outros tratamentos. Vale ressaltar que, quanto menor o ângulo entre os vetores, maior a relação entre as variáveis estudadas. Neste caso, infere-se que o teor das enzimas SOD e APX tem grande potencial para expressar a qualidade sensorial da bebida.

Os dados da Tabela 16 demonstram que as variáveis que mais contribuíram para a formação da componente 1 (PC1) foram a nota sensorial e os teores das enzimas APX e SOD. Já em relação à componente 2 (PC2), os teores da catalase, em conjunto com a endo  $\beta$  mananase, constituíram as variáveis que mais influenciaram para a sua formação.

Tabela 16 Correlações entre as variáveis dependentes (catalase, APX, SOD, endo- $\beta$ -mananase e nota sensorial) e os dois primeiros componentes principais

Parâmetros	PC1 (46,82%)	PC2 (29,76%)
Catalase	-0,69	1
APX	-0,92	-0,73
SOD	-1	-0,61
Endo- $\beta$ -mananase	-0,79	0,89
Nota sensorial	-0,44	-0,22

Nota-se que a relação da composição bioquímica do grão cru com a qualidade sensorial da bebida do café, decorrente da interação genótipo  $\times$  ambiente, foi distinta quanto ao tipo de processamento. O agrupamento formado nos cafés naturais apresentou o efeito conjunto das enzimas MAN e CAT, exceto para o tratamento >1.200 m e o genótipo Bourbon Amarelo, o qual apresentou efeito conjunto com as enzimas SOD E APX e, ainda, nota sensorial da bebida.

Por outro lado, os cafés desmucilados apresentaram grupo distinto em função do efeito conjunto de todos os compostos analisados e a nota sensorial da bebida.

Essas diferenças reforçam as hipóteses de que o metabolismo do grão permanece ativo após a colheita dos frutos e que, como proposto por Bytof et al. (2005), a extensão desses processos metabólicos depende do tipo de processamento aplicado. Outra possível causa refere-se ao estímulo promovido no metabolismo da germinação (BYTOF et al., 2007).

## 5 CONCLUSÕES

Este trabalho permitiu concluir, nas condições em que ele foi realizado, que:

- Os menores valores dos testes de condutividade elétrica (CE) e lixiviação de potássio (LK) foram para o genótipo Bourbon Amarelo processado pela via úmida (desmucilado) acima de 1.200 m de altitude;
- O genótipo Acaiá apresentou valores menores de condutividade elétrica (CE) e lixiviação de potássio (LK) para as faixas de altitudes abaixo de 1.000 m e acima de 1.200 m;
- Os menores valores de condutividade elétrica (CE) e lixiviação de potássio (LK) foram para os grãos de café processado pela via úmida;
- Para as análises fisiológicas, o processamento via úmida (desmucilado) e o genótipo Bourbon Amarelo apresentaram melhores resultados;
- As análises de eletroforese das isoenzimas, catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e esterase (EST) são marcadores pouco precisos da qualidade dos grãos de café e, por isso, não são recomendados para esta finalidade;
- A quantificação das enzimas demonstrou ter um enorme potencial para distinguir os processamentos. Ainda, as enzimas SOD e APX relacionam-se com as notas sensoriais, podendo ser uma ferramenta útil na avaliação da qualidade da bebida do café;
- O genótipo Acaiá processado por via seca apresentou, no grão cru, tendência à maior atividade das enzimas CAT e MAN;

- O genótipo Bourbon Amarelo cultivado acima de 1.200 m de altitude e processado por via seca apresentou, no grão cru, tendência a maiores teores das enzimas SOD, APX e qualidade sensorial da bebida maior que os outros tratamentos.
- Os cafés produzidos pela via úmida apresentaram, no grão cru, tendência a menores teores de todas as enzimas.



## 6 REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. T. E. et al. Diversidade química de cafeeiros na espécie *Coffea canephora*. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 577-582, 2005.
- ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 627 p.
- ALVES, M. Metodologia tradicional de avaliação de qualidade de café vs. métodos eletrônicos alternativos. In: SALVA, T. de J. G. et al. (Ed.). **Cafés de qualidade: aspectos tecnológicos, científicos e comerciais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007. p. 389-410.
- ALPIZAR, E.; BERTRAND, B. Incidence of elevation on chemical composition and beverage quality of coffee in Central/America. In: INTERNATIONAL CONFERENCE IN COFFEE SCIENCE, 20., 2004, Bangladore. **Proceedings...** Bangladore: ASIC, 2004. 1 CD-ROM.
- ANGÉLICO, C. L. et al. Diferentes estádios de maturação e tempos de ensacamento sobre a qualidade do café. **Coffee Science**, Lavras, v. 6, n. 1, p. 8-19, 2011.
- AVELINO, J. et al. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude *terroirs* of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of Science Food and Agriculture**, Sussex, v. 85, n. 11, p. 1869-1876, Aug. 2005.
- AVELINO, J. et al. **Ver une identification de cafés-terroir au Honduras**. Montpellier Cedex: Plantations Recherche Developpement, 2002. 11 p.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 14, n. 2, p. 93-107, May 2004.
- BAILLY, C. et al. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 97, n. 1, p. 104-110, May 1996.
- BARBOSA, J. N. et al. Coffee quality and its interactions with environmental factors in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 4, n. 5, p. 181-190, Jan. 2012.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, jan./fev. 2006.

BASAVARAJAPPA, B. S.; SHEKAR-SHETTY, H.; PRAKASH, H. S. Membrane deterioration and other biochemical-changes, associated with accelerated aging of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 19, n. 2, p. 279-286, 1991.

BERJAK, P. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 16, n. 1, p. 1-15, Mar. 2006.

BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 116, n. 2, p. 651-658, Feb. 1998.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, London, v. 91, n. 2, p. 179-194, Jan. 2003.

BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008. v. 1, 631 p.

BORÉM, F. M. et al. Qualidade do café natural e despulpado após secagem em terreiro e com altas temperaturas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1605-1615, set./out. 2008.

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

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

BRANDO, C. H. J. Harvesting and green coffee processing. In: WINTGENS, J. N. (Ed.). **Coffee: growing, processing, sustainable production**. 2<sup>nd</sup> ed. New Jersey: J. Wiley Professional, 2004. p. 605-714.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 08**, de 11 de junho de 2003. Aprova o regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru. Brasília, 2003. Disponível em: <[http://www.abic.com.br/publique/media/CONS\\_leg\\_instnormativa08-03.pdf](http://www.abic.com.br/publique/media/CONS_leg_instnormativa08-03.pdf)>. Acesso em: 12 jan. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 365 p.

BRAZIL SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION. **O que são cafés especiais**. Disponível em: <<http://bsca.com.br/cafes-especiais.php>>. Acesso em: 10 fev. 2014.

BYTOF, G. et al. Influence of processing on the generation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in green coffee beans. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 220, n. 3/4, p. 245-250, Mar. 2005.

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

CAMPA, C. et al. Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild *Coffea* species. **Food Chemistry**, Oxford, v. 93, n. 1, p. 135-139, Nov. 2005.

CARVALHO, A. et al. Ocorrência dos principais defeitos do café em várias fases de maturação dos frutos. **Bragantia**, Campinas, v. 29, n. 20, p. 207-220, 1970.

CARVALHO, V. D.; CHALFOUN, S. M. Aspectos qualitativos do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 126, p. 79-92, 1985.

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

CHALFOUN, S. M.; PARIZZI, F. C. Fungos toxigênicos e micotoxinas em café. In: BORÉM, F. M. (Ed.). **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008. p. 513.

CLIFFORD, M. N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: CLIFFORD, M. N.; WILSON, K. C. (Ed.). **Coffee botany, biochemistry and production of beans and beverage**. Beckenham: Croom Helm, 1985. p. 305-374.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café, primeiro levantamento**. Brasília, 2014. 20 p.

Disponível em:

<[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14\\_01\\_10\\_15\\_07\\_01\\_boletim\\_cafe\\_-\\_original.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_01_10_15_07_01_boletim_cafe_-_original.pdf)>. Acesso em: 12 jan. 2014.

COPELAND, L. D.; MCDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. 4<sup>th</sup> ed. New York: Chapman & Hall, 2001. 467 p.

CORADI, P. C.; BORÉM, F. M.; OLIVEIRA, J. A. Qualidade do café natural e despulpado após diferentes tipos de secagem e armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n. 2, p. 181-188, 2008.

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

CORTEZ, J. G. **Efeito de espécies e cultivares e do processamento agrícola e industrial nas características da bebida do café**. 2001. 71 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2001.

DECAZY, F. et al. Quality of different Honduran coffees in relation to several environments. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 7, p. 2356-2361, 2003.

DOWNIE, B.; HILLHORST, H. W. M.; BEWLEY, J. D. A new assay for quantifying endo- $\beta$ -mannanase activity using Congo Red dye. **Phytochemistry**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 829-835, July 1994.

DUARTE, G. S.; PEREIRA, A. A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. **Food Chemistry**, London, v. 118, n. 3, p. 851-855, Feb. 2010.

DUSSERT, S. et al. Oxidative stress, phospholipids loss and lipid hydrolysis during drying and storage of termediate seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 127, n. 2, p. 192-204, June 2006.

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

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

FARIA, M. A. V. de R. et al. **Marcadores moleculares da qualidade fisiológica de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. 63 p.

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

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

FIGUEIREDO, L. P. **Perfil sensorial e químico de genótipos de cafeeiro Bourbon de diferentes origens geográficas**. 2010. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

FRANCA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; OLIVEIRA, S. S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **LWT**, Amsterdam, v. 38, n. 7, p. 709-715, Aug. 2004.

GEROMEL, C. et al. Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 46, n. 5, p. 569-579, 2008.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases I: occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GIOMO, G. S.; BORÉM, F. M. Cafés especiais no Brasil: opção pela qualidade. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 32, n. 261, p. 7-16, mar./abr. 2011.

GIORGINI, J. F.; COMOLI, E. Effect of embryo and exogenous GA3 on endospermic endo- $\beta$ -mannanase activity of *Coffea arabica* L. during germination and early seedling growth. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 8, n. 1, p. 43-49, jan. 1996.

GOMES-JÚNIOR, R. A. et al. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, Oxford, v. 65, n. 8, p. 1330-1337, 2006.

GOULART, P. de F. P. et al. Aspectos histoquímicos e morfológicos de grãos de café de diferentes qualidades. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 3, p. 662-666, maio/jun. 2007.

GRATÃO, P. L. et al. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 32, n. 6, p. 481-494, June 2005.

GUIMARÃES, R. M. et al. Tolerância à dessecação em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica*, L). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 128-139, jan./fev. 2002.

GUYOT, B. et al. Influence de l'altitude et de l'ombrage sur la qualité des cafés arabica. **Plantation Recherche, Développement**, Versalhes, v. 3, n. 4, p. 272-280, 1996.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Oxford University, 1999. 851 p.

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

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

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

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

HOWELL, G. SCAA universal cupping form & how to use it. In: ANNUAL CONFERENCE & EXHIBITION "PEAK OF PERFECTION" PRESENTATION HANDOUTS, 10., 1998, Denver. **Proceedings...** Denver: ACPH, 1998. 1 CD-ROM.

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

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

ISQUIERDO, E. P. et al. Qualidade do café desmucilado submetido ao parcelamento da secagem. **Coffee Science**, Lavras, v. 6, n. 1, p. 83-90, 2011.

ISQUIERDO, E. P. et al. Quality of natural coffee subjected to diferente rest periods during the drying process. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 4, p. 439-445, jul./ago. 2012.

JOET, T. et al. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green arabica coffee beans. **Food Chemistry**, Oxford, v. 118, n. 3, p. 693-701, 2010.

KLEINWÄCHTER, M.; SELMAR, D. Influence of drying on the content of sugars in wet processed green Arabica coffees. **Food Chemistry**, Oxford, v. 119, n. 2, p. 500-504, Mar. 2010.

KNOPP, S. E.; BYTOF, G.; SELMAR, D. Influence of processing on the cont of sugars in green arabica coffee beans. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 223, n. 2, p. 195-201, June 2006.

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

KY, C. L. et al. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. **Food Chemistry**, Oxford, v. 75, n. 2, p. 223-230, 2001.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 976 p.

LELOUP, V. et al. Impact of wet and dry process on green coffee composition and sensory characteristics. In: INTERNATIONAL CONFERENCE IN COFFEE SCIENCE, 20., 2004, Bangalore. **Proceedings...** Bangalore: ASIC, 2004. 1 CD-ROM.

LIMA, D. U.; LOH, W.; BUCKERIDGE, M. S. Xyloglucan-cellulose interaction depends on the side chains and molecular weight of xyloglucan. **Plant Physiology and Biochemistry**, New York, v. 42, n. 5, p. 389-394, 2004.

LIMA, M. V. et al. Preparo do café despulpado, cereja descascado e natural na região sudoeste da Bahia. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 55, n. 2, p. 124-130, mar./abr. 2008.

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook**: systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor. 4<sup>th</sup> ed. Long Beach: Specialty Coffee Association of America, 2011. 66 p.

MALAVOLTA, E. **Historia do café no Brasil**: agronomia agricultura e comercialização. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2000. 464 p.

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

MALTA, M. R.; CHAGAS, S. J. R.; OLIVEIRA, W. M. Composição físico-química e qualidade do café submetido a diferentes formas de pré-processamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 6, p. 37-41, 2003. Especial café.

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

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



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

MARCOS FILHO, J. Germinação de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1., 1987, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação Cargill, 1987. p. 11-39.

MARQUES, E. R. et al. Eficácia do teste de acidez graxa na avaliação da qualidade do café arábica (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes períodos de temperatura e pré-secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1557-1562, set./out. 2008.

MATAMOROS, M. A. et al. Function of antioxidant enzymes and metabolites during maturation of pea fruits. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 1, p. 87-97, 2010.

MCDONALD, B. Orthodox seed deterioration and its repair. In: BENECH-ARNOLD, R. L.; SANCHEZ, R. A. (Ed.). **Handbook of seed physiology: applications to agriculture**. New York: The Haworth, 2004. p. 125-165.

MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MEDINA FILHO, H. P. A. A qualidade do café e o melhoramento genético clássico. In: SALVA, T. J. G. et al. (Ed.). **Cafés de qualidade: aspectos tecnológicos científicos e comerciais**. Campinas: IAC, 2007. p. 219-236.

MENDONÇA, L. M. V. L. **Características químicas, físico-químicas e sensoriais de cultivares de *Coffea arabica* L.** 2004. 153 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 405-410, Sept. 2002.

MITTLER, R. et al. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 9, n. 10, p. 490-498, Oct. 2004.

MONDAL, K. et al. Antioxidant systems in ripening tomato fruits. **Biologia Plantarum**, Copenhagen, v. 48, n. 1, p. 49-53, 2004.

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

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

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NASCIMENTO, E. **Autoridades divergem em discurso durante evento em Minas Gerais**. Disponível em: <<http://www.cafepoint.com.br/cadeia-produtiva/giro-de-noticias/autoridades-divergem-em-discurso-durante-evento-em-mg-83022n.aspx>>. Acesso em: 21 mar. 2013.

NOBRE, G. W. et al. Alterações químicas do café-cereja descascado durante o armazenamento. **Coffee Science**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 1-9, jan./jun. 2007.

NUNES, C. A. et al. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012.

PÁDUA, F. R. M. et al. Avaliação sensorial e da composição química, durante o armazenamento, do café torrado e moído. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 5, p. 15-21, 2002. Especial café.

PAIVA, E. F. F. **Análise sensorial dos cafés especiais do Estado de Minas Gerais**. 2005. 55 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

PEREIRA, A. **Avaliação das atividades cicatrizante e antitumoral de extratos provenientes da casca de banana cultivar Prata Anã (Musa spp)**. 2010. 156 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

PEREIRA, R. G. F. A. et al. Constituintes químicos de cafés despulpados, descascados, desmucilados e natural. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Brasília: EMBRAPA Café, 2003. p. 164-165.

PEREIRA, R. G. F. A.; VILLELA, T. C.; ANDRADE, E. T. Composição química de grãos de cafés (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tipos de

pré-processamento. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2002, Vitória. **Resumos...** Brasília: EMBRAPA, 2002. p. 826-831.

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

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

PIMENTA, C. J.; COSTA, L.; CHAGAS, S. J. R. Peso, acidez, sólidos solúveis, açúcares e compostos fenólicos em café (*Coffea arabica* L.), colhidos em diferentes estágios de maturação. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, n. 1, p. 23-30, 2000. Especial café.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FILGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 283-297.

PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. 1992. 125 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1992.

REINATO, C. H. R. et al. Influência da secagem, em diferentes tipos de terreno, sobre a qualidade do café ao longo do armazenamento. **Coffee Science**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 48-60, jan./jun. 2007.

REINATO, C. H. R. et al. Qualidade do café secado em terrenos com diferentes pavimentações e espessuras de camada. **Coffee Science**, Lavras, v. 7, n. 3, p. 223-237, set./dez. 2012.

RENA, A. B.; MAESTRI, M. R. Fisiologia do cafeeiro. In: RENA, A. B. et al. (Ed.). **Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação Brasileira de Pesquisa Potassa Fósforo, 1986. p. 13-85.

RENDÓN, M. Y. P. L. et al. Antioxidant enzyme activity and hydrogen peroxide content during the drying of Arabica coffee beans. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 236, n. 5, p. 753-758, 2013.

RIBEIRO, F. C. et al. Storage of green coffee in hermetic packing injected with CO<sub>2</sub>. **Journal of Stored Products Research**, London, v. 47, n. 4, p. 341-348, 2011.

RODRIGUES, C. I. et al. Stable isotope analysis for green coffee bean: a possible method for geographic origin discrimination. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 22, n. 5, p. 463-471, 2009.

SAATH, R. **Qualidade do café natural e despulpado em diferentes condições de secagem e tempos de armazenamento**. 2010. 229 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

SAATH, R. et al. Alterações na composição química e sensorial de café (*Coffea arabica* L.) nos processos pós-colheita. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 27, n. 2, p. 96-112, 2012.

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

SANTOS, M. A.; CHALFOUN, S. M.; PIMENTA, C. J. Influência do processamento por via úmida e tipos de secagem sobre a composição, físico química e química do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 213-218, jan./fev. 2009.

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

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, Oxford, v. 2012, n. 1, p. 1-26, Jan. 2012.

SILVA, E. A. A. da. **Coffee (*Coffea arabica* L., cv. Rubi) seed germination: mechanism and regulation**. 2002. 105 p. Thesis (Ph.D. in Fitotecnia) - Wageningen University, Wageningen, 2002.

SILVA, R. F. et al. Qualidade do café-cereja descascado produzido na região sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1367-1375, nov./dez. 2004.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. **Backgrounder:** what's special about specialty coffee? Disponível em: <[http://www.javadavescoffee.com/PDF\\_Documents/Press-What-is-Specialty-Coffee.pdf](http://www.javadavescoffee.com/PDF_Documents/Press-What-is-Specialty-Coffee.pdf)>. Acesso em: 12 jan. 2014.

TAVEIRA, J. H. da S. et al. Perfis proteicos e desempenho fisiológico de sementes de café submetidas a diferentes métodos de processamento e secagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 10, p. 1511-1517, out. 2012.

TAVEIRA, J. H. S. T. **Aspectos fisiológicos e bioquímicos associados à qualidade da bebida de café submetido a diferentes métodos de processamento e secagem**. 2009. 73 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

TAWFIK, M. S.; HUYGHEBAERT, A. Interaction of packaging materials and vegetable oils: oil stability. **Food Chemistry**, Oxford, v. 64, n. 4, p. 451-459, Mar. 1999.

TONIETTO, J. Afinal, o que é Terroir? **Bon Vivant**, Flores da Cunha, v. 8, n. 98, p. 8, 2007.

VAAST, P. et al. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 86, n. 2, p. 197-204, 2006.

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

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

VIDIGAL, D. de S. et al. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 129-136, 2009.

VIDIGAL, D. de S. et al. Teste de condutividade elétrica para sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 168-174, 2008.

VIEIRA, G. et al. Avaliação da qualidade de café beneficiado armazenado em silo com e sem aeração e em sacos de juta. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 3, n. 1, p. 75-90, 2001.

VIEIRA, M. G. G. C.; PINHO, E. V. R. von; SALGADO, K. C. P. C. Técnicas moleculares em sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 232, p. 88-96, 2006.

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

VINCENT, J. C. Green coffee processing. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Technology**. London: Elsevier, 1987. p. 1-33.

WILSON JUNIOR, D. O.; MCDONALD JUNIOR, M. B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 14, n. 2, p. 269-300, 1986.