



**EDUARDO CARVALHO DIAS**

**EFEITO DO PROCESSAMENTO DE FRUTOS  
IMATUROS E DA TORRAÇÃO NA  
OCORRÊNCIA E NA FORMAÇÃO DE  
COMPOSTOS RELEVANTES PARA A  
QUALIDADE E SEGURANÇA EM CAFÉ  
ARÁBICA**

**LAVRAS - MG  
2010**

**EDUARDO CARVALHO DIAS**

**EFEITO DO PROCESSAMENTO DE FRUTOS IMATUROS E DA  
TORRAÇÃO NA OCORRÊNCIA E NA FORMAÇÃO DE COMPOSTOS  
RELEVANTES PARA A QUALIDADE E SEGURANÇA EM CAFÉ  
ARÁBICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora  
Dra. Rosemary G. Fonseca Alvarenga Pereira

**LAVRAS - MG  
2010**

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

Dias, Eduardo Carvalho.

Efeito do processamento de frutos imaturos e da torração na ocorrência e na formação de compostos relevantes para a qualidade e segurança em café arábica / Eduardo Carvalho Dias. – Lavras : UFLA, 2010.

130 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Rosemary G. F. Alvarenga Pereira.

Bibliografia.

1. Café imaturo. 2. Acrilamida. 3. Compostos bioativos. 4. Aminas biogênicas. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 663.93

**EDUARDO CARVALHO DIAS**

**EFEITO DO PROCESSAMENTO DE FRUTOS IMATUROS E DA  
TORRAÇÃO NA OCORRÊNCIA E NA FORMAÇÃO DE COMPOSTOS  
RELEVANTES PARA A QUALIDADE E SEGURANÇA EM CAFÉ  
ARÁBICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 6 de julho de 2010.

Dr. Flávio Meira Borém	UFLA
Dr. José Oliveira Fernandes	FF/UP - Portugal
Dr. Carlos José Pimenta	UFLA
Dr. Mário César Guerreiro	UFLA

Dra. Rosemary G. Fonseca Alvarenga Pereira  
Orientadora

**LAVRAS - MG  
2010**

A Deus, pela luz e proteção em todos os momentos.

Aos meus pais, Lindolfo e Inelma, pelo apoio e carinho.

Aos meus irmãos Fábio, Myrna, Érika e as minhas sobrinhas Paula, Laura e Clara pelo apoio e carinho.

Aos meus familiares e amigos, pelo incentivo.

### **OFEREÇO**

A nossa mãe e intercessora Nossa Senhora Aparecida, pela luz nos momentos difíceis,

### **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realizar o doutorado.

Ao Setor de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto pelo auxílio e colaboração em todas as análises realizadas e pela orientação e participação na banca de defesa do Prof. Dr. José Oliveira Fernandes e do acompanhamento do trabalho pela Dra. Susana Casal.

À Capes, pela disponibilidade do recurso para a execução da tese.

À Prof.(a) Dra. Rosemary G. Fonseca Alvarenga Pereira pela orientação, incentivo, consideração e amizade.

Ao Prof. Dr. Flávio Meira Borém, pela orientação, pelos ensinamentos, consideração e amizade.

Ao professor Dr. Mário César Guerreiro, pela atenção, disponibilidade, paciência e amizade.

Ao Prof. Dr. Renato Ribeiro Lima, pela amizade, dedicação e ajuda nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Carlos José Pimenta, pela dedicação e empenho.

Ao colega Gilberto Westin Nobre pela disponibilidade das amostras de café utilizadas neste trabalho.

À Cristina Soares, Sara Cunha, D. Eulália, pelo apoio, dedicação, atenção no acompanhamento na realização das análises e pela amizade.

Aos funcionários e professores do Departamento de Ciência dos Alimentos, e aos funcionários e alunos da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto pela atenção e ajuda na execução do trabalho.

Aos colegas de pós-graduação, Roseane, Mirian e Hebe pelo companheirismo e sugestões.

## RESUMO

A existência do defeito verde nos lotes de café do Brasil normalmente é devido à colheita por derriça completa e do processamento via seca dos frutos. O processamento via úmida dos frutos maduros, minimiza este problema originando os cafés cereja descascados, desmucilados e despulpados, com qualidade superior quando os procedimentos pós-colheita são conduzidos de forma correta. Os lotes de cafés verdes resultantes deste processamento têm menor valor comercial por apresentarem grãos defeituosos. O descascamento dos frutos imaturos tem sido considerado como um método promissor para minimizar os impactos negativos destes grãos defeituosos na qualidade e valor comercial do café beneficiado. Durante o processamento do café podem ser utilizadas técnicas como o repouso e a imersão dos frutos em água como forma de armazenagem prévia para realizar o descascamento. A partir destes processos resultou grãos de café com composição físico-química diferenciada e qualidade sensorial superior aos grãos verdes resultantes do processamento, via seca. No entanto, os diferentes procedimentos realizados, durante o processamento, via seca e via úmida na pós-colheita do café, e as alterações químicas, bioquímicas e fisiológicas que ocorrem durante a secagem dos grãos podem resultar em variações na quantidade e qualidade de compostos com importância biológica, farmacológica e nutricional. Por isso, a composição química destes grãos necessita ser investigada, já que a utilização de novos métodos de processamento deve sempre visar além da melhoria da qualidade do produto, a segurança alimentar para o consumidor. Como o acima exposto, esta pesquisa teve como objetivo verificar as alterações ocorridas na composição química dos grãos do café imaturo e avaliar o efeito do processamento dos frutos imaturos e da torração na ocorrência e formação de compostos relevantes para a qualidade e segurança do café. Nos resultados obtidos, foram identificadas várias alterações na constituição dos grãos. Ocorreu redução nos teores de acrilamida, na torração média quando o café imaturo foi descascado, e na torração escura, independente do tipo de processamento, quando os grãos foram processados no mesmo dia a 12 horas sem água. Os níveis de trigonelina, ácidos clorogênicos e furfural foram superiores no café descascado, processado no mesmo dia com a torração média dos grãos. Os teores de cafeína mantiveram-se estáveis nos diferentes processamentos. A putrescina apresentou como a amina predominante, e as aminas espermina, espermidina e histamina com menores quantidades no café descascado, e a cadaverina, com a realização do repouso nos grãos apresentou menor quantidade no processo do café natural.

Palavras-chave: Acrilamida. Trigonelina. Cafeína. Ácidos clorogênicos. Furfural. Aminas biogênicas. Via seca. Via úmida.

## ABSTRACT

The existence of the defect in the green lots of coffee from Brazil is usually due to sample a complete detachment and dry processing of fruits. The wet processing of the mature fruits, minimizes this problem resulting in the pulped natural, pulped and depulped coffees, with higher quality when post-harvest procedures are conducted properly. The lots of green coffee resulting from this process have a lower commercial value because they have defective grains. The peeling of immature fruit has been regarded as a promising method to minimize the negative impacts of these defective grains in quality and commercial value of benefited coffee. During the processing of coffee techniques may be used as repose and immersion of fruits in water as a form of storage prior to perform the peeling. From these processes resulted coffees with different physical-chemical composition and high sensory quality than the green grains resulting from dry way processing. However, the different procedures performed during the processing of the way dry and wet post-harvest of coffee, and chemical changes, biochemical and physiological changes that occur during the drying of grains, can result in variations in the quantity and quality of biologically important compounds, pharmacology and nutrition. Therefore, the chemical composition these grains need to be investigated, since the utilization of new processing methods must always aim beyond the improvement of product quality, food safety for consumers. As indicated above, this research had as objective to verify the changes in chemical composition of immature grains of coffee and evaluate the effect of processing of immature fruit and roasted in the occurrence and formation of compounds relevant for quality and safety of coffee. The results obtained, was identified several changes in the composition of the grains. There was a reduction the levels of acrylamide, in medium roast when the immature coffee was peeled, and dark roasted, regardless of the type of processing, when the grains were processed in the same day to 12 hours without water. The levels of trigonelline, chlorogenic acids and furfural were higher in coffee peeled processed in the same day with the medium roast of the grains. The caffeine levels remained stable in different processing. The putrescine presented as the predominant amine, and amines spermine, spermidine and histamine with smaller amounts in peeled coffee, and cadaverine with completion of repose in the grains presented smaller in the process of natural coffee.

Keywords: Acrylamide. Trigonelline. Caffeine. Chlorogenic acids. Furfural. Biogenic amines. Dry processing. Wet processing.

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1</b> Introdução geral.....	10
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	13
<b>2.1</b>	<b>Processamento do café</b> .....	14
<b>2.1.1</b>	<b>Processamento do café por via seca</b> .....	15
<b>2.1.2</b>	<b>Processamento do café por via úmida</b> .....	16
<b>2.1.3</b>	<b>Processamento do café imaturo</b> .....	17
<b>2.2</b>	<b>Secagem do café</b> .....	19
<b>2.3</b>	<b>Composição química dos grãos de café</b> .....	20
<b>2.3.1</b>	<b>Composição química dos cafés imaturos</b> .....	22
<b>2.4</b>	<b>Importância e formação da acrilamida</b> .....	23
<b>2.5</b>	<b>Compostos bioativos, furfural e aminas biogênicas</b> .....	26
<b>2.6</b>	<b>Alterações nos grãos de café durante o processamento e torração</b> ..	34
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	37
	<b>CAPÍTULO 2</b> Formação de acrilamida no café imaturo torrado submetido a diferentes tipos de processamento .....	47
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	49
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	51
<b>2.1</b>	<b>Local de realização do experimento</b> .....	51
<b>2.2</b>	<b>Amostras de café</b> .....	51
<b>2.3</b>	<b>Condução do experimento e condições de amostragem</b> .....	51
<b>2.4</b>	<b>Reagentes químicos</b> .....	54
<b>2.5</b>	<b>Padrões</b> .....	54
<b>2.6</b>	<b>Processo de torração dos grãos</b> .....	55
<b>2.7</b>	<b>Equipamentos</b> .....	55
<b>2.8</b>	<b>CG – MS e as condições de funcionamento</b> .....	56
<b>2.9</b>	<b>Metodologia de análise por dispersão da matriz em fase sólida (MSPD)</b> .....	56
<b>2.10</b>	<b>Bromação das amostras e padrões</b> .....	57
<b>2.11</b>	<b>Preparação da curva analítica</b> .....	57
<b>2.12</b>	<b>Análises estatísticas</b> .....	58
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	59
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	66
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	67
	<b>CAPÍTULO 3</b> Avaliação dos níveis de trigonelina, furfural, ácidos clorogênicos e cafeína no processamento e na torração dos grãos de café imaturo .....	70
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	72

2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	75
2.1	Local de realização do experimento .....	75
2.2	Amostras de café .....	75
2.3	Condução do experimento e condições de amostragem .....	76
2.4	Processo de torração .....	77
2.5	Padrões e reagentes .....	77
2.6	Preparação da curva analítica .....	78
2.7	Extração .....	78
2.8	Equipamentos .....	78
2.9	Análises cromatográficas .....	79
2.10	Análises estatísticas .....	79
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	80
4	<b>CONCLUSÕES</b> .....	90
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	91
	<b>CAPÍTULO 4 Determinação do perfil das aminas biogênicas no processamento do café imaturo</b> .....	96
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	98
2	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	101
2.1	Local de realização do experimento .....	101
2.2	Amostras de café .....	101
2.3	Condução do experimento e condições de amostragem .....	102
2.4	Preparação das amostras .....	103
2.5	Padrões e reagentes .....	103
2.6	Equipamentos .....	103
2.7	Processo de extração .....	104
2.8	Derivação .....	104
2.9	Análises cromatográficas .....	105
2.10	Quantificação .....	106
2.11	Análises estatísticas .....	106
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	107
4	<b>CONCLUSÕES</b> .....	116
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	117
	<b>ANEXOS</b> .....	120

## CAPÍTULO 1

### Introdução Geral

#### 1 INTRODUÇÃO

O café no Brasil, geralmente, é colhido por derriça completa, originando frutos em diferentes estádios de maturação. A maioria destes grãos é processada pela via seca, em que os frutos do café são secados em grande parte, da mesma forma proveniente da lavoura. Por existirem diferenças marcantes nos teores de água, na composição química e na anatomia dos frutos do cafeeiro, após a secagem encontra-se uma determinada porcentagem de grãos normais, e também, a ocorrência de grãos de café defeituosos do tipo preto, verde e ardido (denominados grãos PVA). Esta parcela pode representar uma proporção significativa da produção de café (20% da produção) (COMPANHIA DE ARMAZÉNS E SILOS DO ESTADO DE MINAS GERAIS - CASEMG, 2007). Devido a essa elevada produção, estes grãos são misturados aos grãos normais e comercializados no mercado nacional. O resultado deste procedimento é a perda de qualidade na bebida do café, por apresentar uma composição química diferente dos grãos normais.

O fruto do cafeeiro, quando colhido verde ou seco na planta, pode ocasionar a incidência de grãos verdes, ardidos e pretos, resultando nos piores defeitos para a qualidade do café. Os grãos classificados como "verdes" apresentam essa característica devido à coloração verde brilhante da película da semente, e os grãos "ardidos" têm, como uma das suas origens, a colheita de frutos verdes. Os grãos "verdes" contribuem de forma expressiva na composição dos defeitos do café, verificando que a maior incidência de grãos "verde-

escuras” e “preto-verdes” está diretamente relacionada ao processo de secagem (TEIXEIRA; GOMES, 1970).

As operações na pós-colheita podem minimizar esse problema com a aplicação de diferentes técnicas de processamento dos frutos (ILLY; VIANI, 1995). No processamento via seca com a utilização do lavador, os grãos são separados em função da sua densidade, onde ocorre a separação hidráulica dos frutos pela diferença de densidade, formando dois lotes, um com frutos cereja e verdes e outro com frutos com densidade menor, conhecidos como bóia. Após o processamento dos frutos, estes lotes seguem separados para o terreiro, onde serão completamente secos. No processamento via úmida, ocorre a remoção da casca dos frutos do café cereja através do processo de descascamento, permitindo menor tempo de secagem destes grãos, reduzindo o risco da ocorrência de fermentações indesejáveis, formando um lote mais homogêneo de café. Entretanto, forma-se um lote de frutos verdes, que apresenta baixo potencial para a produção de cafés com boa qualidade, que exigirão cuidados especiais durante o processamento e a secagem (BORÉM, 2008).

A composição química dos grãos de café arábica é variável em consequência das condições em que foram produzidos e processados. A adoção de diferentes técnicas no processamento como o repouso e a imersão dos grãos em água, poderá ocasionar variações nos níveis de compostos relevantes para a qualidade e segurança do café imaturo. O aminoácido asparagina apresenta em quantidades expressivas na composição dos grãos do café imaturo, sendo um dos precursores da acrilamida, substância potencialmente prejudicial à saúde humana. Entretanto, Dias (2008) demonstrou que o descascamento dos frutos verdes permite uma redução nos níveis de asparagina. A diminuição nos níveis de asparagina nos grãos do café imaturo poderá contribuir para a redução dos teores de acrilamida após a torração destes grãos. O efeito do processamento e da torração dos grãos do café contribui, também para o desenvolvimento de

várias substâncias com propriedades funcionais, nutricionais e farmacológicas, que são responsáveis por efeitos benéficos à saúde humana.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito do processamento do café imaturo nas concentrações das aminas biogênicas nos grãos crus e da acrilamida, trigonelina, furfural, ácidos clorogênicos e cafeína nos grãos torrados, formando uma base científica no controle e na geração de novas tecnologias nos tratamentos realizados na pós-colheita do café, minimizando os potenciais componentes químicos prejudiciais à saúde, e otimizando os compostos benéficos, por meio da adequação dos procedimentos na pós-colheita, visando à melhoria da qualidade e segurança no processamento do café imaturo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

O café é considerado uma das mais importantes *commodities* agrícolas no mercado mundial. Além de originar uma das bebidas mais difundidas no mundo, é um dos produtos agrícolas de maior importância para o Estado de Minas Gerais, para o Brasil e para o comércio internacional, tanto pela receita gerada pela exportação e industrialização, como também pelo número de empregos diretos e indiretos relacionados ao agronegócio.

Um dos principais obstáculos na exportação do café para mercados diferenciados é a elevada exigência dos consumidores com relação à qualidade, valorizando os atributos sensoriais e higiênico-sanitários do produto, além dos aspectos relacionados à proteção ambiental e à valorização social. A qualidade sensorial do café está relacionada, diretamente, com a composição química dos grãos, que é influenciada por fatores genéticos, culturais, edafoclimáticos e por aqueles relacionados às operações de condução da lavoura, processamento e industrialização deste produto.

Para atender as demandas de produção de cafés de melhor qualidade e adequação dos procedimentos pós-colheita visando maior custo/benefício e rentabilidade, novas tecnologias de processamento dos frutos vêm sendo pesquisadas. Dentre elas, o descascamento dos frutos imaturos tem se mostrado um método promissor para a potencialização da qualidade destes cafés, minimizando atributos sensoriais indesejáveis dos grãos verdes, que originam os defeitos verdes na classificação por tipo e conferem principalmente adstringência e amargor à bebida.

## 2.1 Processamento do café

A colheita do café deve ser iniciada quando a maioria dos frutos estiver maduros e antes que se inicie a queda de frutos secos, evitando a incidência de grãos verdes, ardidos e pretos. Quando são colhidas quantidades elevadas de frutos verdes, as perdas no rendimento final dos grãos são grandes, e as classificações por tipo e bebida são comprometidas. Portanto, a separação dos frutos verdes, com o auxílio de separadores hidráulicos e descascadores, deve ser realizada no mesmo dia, para a obtenção de uma matéria-prima mais homogênea (TEIXEIRA, 1984).

A maioria dos produtores não possui condições para executar uma colheita seletiva e a pesquisa ainda não disponibilizou materiais genéticos com maior uniformidade no florescimento e, conseqüentemente na maturação dos frutos. Como a qualidade relaciona-se à quantidade dos frutos maduros presentes e à ausência ou reduzida quantidade de defeitos, o café deve então ser colhido no seu ponto ideal de amadurecimento, e a seguir, ser submetido aos procedimentos corretos de processamento pós-colheita, para evitar a incidência, principalmente, de grãos verdes, ardidos e pretos (COELHO, 2000; MYIA et al., 1974; PEREIRA, 1997; PRETE; TEIXEIRA; PIMENTEL, 1970, PIMENTA, 1995).

Os métodos de processamento pós-colheita são conhecidos como processos via úmida e via seca. No processo via seca os frutos são secos integralmente, com todos os tecidos que recobrem as sementes, enquanto no processo via úmida, os frutos maduros são descascados e dependendo da presença e método de retirada da mucilagem aderida ao pergaminho que recobre as sementes, resultam nos cafés conhecidos como despoldados, descascados e desmucilados. É bem aceito que os cafés obtidos, por meio de diferentes processos, apresentam características distintas na qualidade (ILLY; VIANI, 1995). O cafeicultor deve, portanto, selecionar criteriosamente o método de

processamento adequado para maximizar a qualidade do seu produto e rentabilidade do negócio.

### **2.1.1 Processamento do café por via seca**

A via seca é o processamento que menos afeta a condição natural do café e que menos agride o ambiente, pois origina poucos resíduos, não havendo produção de efluentes com elevado teor de matéria orgânica, como acontece na via úmida. Os cuidados nas fases de colheita e preparo como a época de colheita e a separação dos frutos com diferentes teores de água, são fatores que contribuem diretamente para a obtenção de um bom produto.

A maioria do café produzido no Brasil é processada por via seca, caracterizada, principalmente, pela secagem dos frutos íntegros em terreiros e/ou secadores mecânicos, geralmente após a operação de retirada de impurezas e lavagem em separadores hidráulicos, nos quais os frutos passas e secos, com menor densidade são separados dos frutos cereja e verdes, mais densos, em relação à água. Em geral, os cafés produzidos por via seca apresentam atributos sensoriais que os distinguem dos cafés produzidos pela via úmida, sendo ingredientes essenciais para as ligas de café expresso (BORÉM, 2008).

A secagem dos cafés naturais, portanto, pode originar grãos sadios e de melhor qualidade, quando é feita a separação prévia dos frutos verdes, ou apresentar uma mistura de grãos com quantidades variáveis de defeitos verdes. Caso ocorram problemas durante a secagem, como fermentações indesejáveis e exposição a altas temperaturas, os grãos verdes sofrem escurecimento resultando em grãos pretos-verdes, considerados oficialmente na classificação por tipo como grãos ardidos. Este fato implica em perda de qualidade do produto, e consequente prejuízo econômico na comercialização.

### **2.1.2 Processamento do café por via úmida**

O processamento do café por via úmida consiste, principalmente, na remoção da casca do fruto, com ou sem manutenção da mucilagem aderida ao pergaminho, originando os cafés despolpados, descascados e desmucilados. O descascamento do café cereja é uma opção economicamente viável para o produtor, dependendo da proporção de frutos cereja e do ágio obtido no momento da comercialização. A remoção da casca, além de propiciar uma secagem mais rápida pode reduzir o risco da ocorrência de fermentações indesejáveis, quando bem conduzida, permitindo a obtenção de grãos de alta qualidade (BORÉM, 2008).

Após a separação hidráulica, os frutos cereja e verdes são conduzidos ao descascador, que por compressão mecânica descasca os frutos maduros, mantendo intactos os frutos verdes que possuem a polpa enrijecida, impossibilitando assim a expulsão das sementes envoltas pelo pergaminho (SILVA, 2007). A secagem posterior destes grãos envoltos pelo pergaminho com mucilagem origina o café cereja descascado. Para a obtenção de cafés desmucilados estes cafés são conduzidos para um desmucilador mecânico que promove a retirada da mucilagem, por atrito com fluxo constante de água. A retirada desta mucilagem por imersão em água e consequente fermentação da mesma resulta nos cafés conhecidos como despolpados.

A parcela de frutos verdes resultantes do descascamento normalmente é submetida à secagem. Os frutos verdes podem ser submetidos a outros tratamentos, antes de uma secagem lenta, para facilitar a remoção da casca e evitar escurecimento da película prateada (BORÉM, 2008).

### 2.1.3 Processamento do café imaturo

No Brasil, a presença do defeito verde nos lotes comerciais de café é, quantitativamente, um dos principais problemas para a oferta de cafés de melhor qualidade, tendo em vista a predominância da derriça completa na colheita e no processamento por via seca (BORÉM, 2008). Puerta-Quintero (2000), avaliando a influência dos grãos verdes na qualidade sensorial do café despulpado por fermentação natural e desmucilamento mecânico, demonstrou que a presença de frutos verdes a partir de 2,5%, no momento da colheita, foi suficiente para desclassificar 30% das xícaras, em decorrência de sabores desagradáveis.

A caracterização do defeito verde, na classificação por tipo é dada pela cor verde-cana do espermoderma. Além dessa característica, outras alterações podem ocorrer no endosperma e no espermoderma do café colhido verde, prejudicando ainda mais a qualidade. Cafés verdes submetidos a altas temperaturas de secagem ou fermentações indesejáveis podem originar grãos verde-escuros e os pretos-verdes, que têm alteradas as tonalidades de cor do espermoderma e do endosperma.

Na classificação por tipo, 5 grãos “verdes” equivalem a 1 defeito, enquanto apenas 2 grãos ardidos equivalem a 1 defeito. Assim sendo, a secagem incorreta dos frutos verdes, intensifica o prejuízo econômico e qualitativo do lote de café (TEIXEIRA et al., 1979).

Os grãos “verdes” ou imaturos estão presentes na grande maioria dos cafés brasileiros, independentemente da forma de processamento. A presença de grãos verdes proporciona, além da pior qualidade de bebida, menor peso e tamanho dos grãos. A remoção dos frutos verdes pode ser realizada a partir do descascamento dos frutos maduros. No entanto, após essa operação, o lote formado, predominantemente, por frutos verdes possui baixo potencial para se produzir cafés com boa qualidade, colocando, muitas vezes em questionamento,

a viabilidade do descascamento. O valor financeiro pode ser comprometido em razão da quantidade de frutos verdes e do deságio pago para os lotes formados somente com esse tipo de café (BORÉM, 2008).

No entanto, a qualidade dos frutos imaturos poderá ser melhorada, dependendo da forma de processamento e dos cuidados adotados durante a secagem. O descascamento dos frutos verdes surgiu como uma forma de melhorar a qualidade deste café e agregar valor aos grãos do café imaturo. Os grãos resultantes desse processamento apresentam qualidade superior aos grãos oriundos dos frutos secados na sua forma integral. Além de diminuir a fermentação e favorecer uma secagem mais uniforme, a amostra do café imaturo descascado apresenta poucos defeitos, reduzindo a porcentagem de PVA (preto, verde e ardido) (BORÉM, 2008). Entretanto, no final do descascamento dos frutos imaturos ainda é formado um lote de café imaturo natural, dos frutos que mantiveram a casca após a segunda operação de descascamento, por apresentarem o mesocarpo duro e muito aderido ao exocarpo, constituindo a porção mais imatura do lote de café.

A tecnologia de processamento dos frutos verdes (imaturos) necessita ainda de maiores embasamentos científicos quanto à composição química, qualidade e o impacto na viabilidade econômica do processamento via úmida. De acordo com os resultados obtidos por Nobre (2009), o café imaturo quando descascado apresenta a composição química mais adequada se comparada a dos grãos de frutos verdes naturais, com menor quantidade de defeitos verdes e ardidos, proporcionando a melhoria de qualidade final do café na análise sensorial pela prova de xícara. O autor acima citado constatou que o café de melhor qualidade foi obtido quando o descascamento foi realizado no mesmo dia da colheita e também até 12 horas após a colheita. Após os procedimentos de descascamento e secagem, o café verde descascado apresentou apenas 2,8% de defeito preto, verde e ardido (PVA) e produziu bebida “dura/verde”. A qualidade

da bebida do café verde descascado foi similar àquela obtida do café cereja com o verde, sendo inferior à qualidade do cereja descascado. O processo do descascamento evitou o aparecimento de processos fermentativos e favoreceu uma secagem mais uniforme, sendo que a maior parte dos grãos originou-se dos frutos verdes. Nestes cafês, o espermoderma de coloração verde-cana, diferentemente da aderência esperada em defeitos verdes, destacou-se facilmente do endosperma e não apresentou a cor característica do defeito verde. Houve predominância da bebida dura/verde e a ausência da característica riada, que aliadas à menor porcentagem de PVA diminuem o deságio do café verde, dando viabilidade econômica ao processo, pelo aumento do valor de mercado (NOBRE, 2009).

## **2.2 Secagem do café**

A secagem é uma etapa crítica na pós-colheita do café em relação aos atributos de qualidade desejáveis no produto final. É empregada como forma de assegurar a manutenção das características originais do produto, pois proporciona a redução da atividade biológica e preservação da qualidade original dos grãos (SILVA, 2001).

O café necessita de cuidados especiais durante a secagem. Fatores externos, como temperatura, umidade e danos mecânicos, podem alterar a estrutura das membranas, com perda de sua organização e seletividade (AMORIM et al., 1977). Além da temperatura, que tem efeito significativo sobre a qualidade do café, a secagem é influenciada por vários fatores, como a forma e o tempo em que é realizada, a umidade relativa e temperatura do ar ambiente, teor de água inicial e final do produto. Esses parâmetros não são independentes, influenciando todo o processo de secagem de maneira simultânea (RIBEIRO et al., 2003).

A secagem pode contribuir para o surgimento de defeitos e danos nos grãos de café, com o comprometimento da sua aparência e da qualidade final da bebida. A diminuição da qualidade do café está associada à elevação da acidez, devido principalmente ao número de grãos defeituosos (FRANÇA et al., 2004), bem como às fermentações que podem ocorrer durante o processo de secagem (CARVALHO et al., 1994; MYIA et al., 1974).

Na secagem do café imaturo recomenda-se inicialmente a disposição da massa de grãos em camadas finas, intercaladas com pequenas leiras de 3 cm, tendo-se o cuidado de revolvê-lo constantemente, até que a o ponto de meia-seca seja atingido. Isto se faz para evitar uma possível fermentação nos estádios iniciais da secagem e para facilitar a rápida saída da água livre do interior dos frutos e da sua interface com a atmosfera. A partir da meia-seca, leiras com 15 a 20 cm de altura deverão ser formadas para reduzir a taxa de secagem e impedir a elevação de temperatura da massa, a fim de evitar a formação do defeito preto-verde. As leiras poderão ser periodicamente movimentadas, permitindo uma secagem lenta e uniforme. Esses cuidados têm permitido a obtenção de lotes de frutos verdes com melhor aspecto e qualidade (BORÉM, 2008).

### **2.3 Composição química dos grãos de café**

A qualidade do café está relacionada à composição química e ao número e tipo de defeitos presentes, como os grãos pretos, verdes e ardidos, os quais comprometem a qualidade da bebida (GARRUTI; GOMES, 1961; GIALLULY, 1959; MAZZAFERA, 1999; OHIOKPEHAI; BRUMEN; CLIFFORD, 1987). O sabor e o aroma do café torrado são alguns dos principais atributos relacionados, também à sua qualidade. No entanto, o desenvolvimento dessas características durante a torração varia, entre outros fatores, em função da presença dos seus precursores nos grãos crus, cuja quantidade e qualidade dependerão da

variedade, solo, altitude, condução da lavoura, colheita, estágio de maturação e método de processamento (ALPIZAR; BERTRAND, 2004; PEREIRA, 1997).

A composição química média do café arábica cru é de 13% de óleos, 60% de carboidratos, 8,2% de ácidos, 13% de proteínas e 1% de cafeína (FOLSTAR, 1985 citado por MARTIN, 2000). De modo geral, o grão de café torrado apresenta inúmeros componentes voláteis e não voláteis, tais como: ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, trigonelina, compostos fenólicos e cafeína (CLARKE; MACRAE, 1987; SIVETZ, 1963). Adicionalmente, o café possui a vitamina do complexo B, niacina, ou vitamina B3, e em uma quantidade expressiva, os ácidos clorogênicos (TRUGO, 2003). De acordo com Fisher et al. (2001), os grãos de café arábica contêm de 48-60% de polissacarídeos que são importantes na formação dos componentes do sabor e aroma. Segundo estes autores, há três tipos de polissacarídeos importantes no café: celulose, arabinogalactanas e galactomananas. A acidez é importante na formação das propriedades do aroma e sabor do café, sendo originada pela presença de ácidos como o acético, butírico, málico, propiônico, entre outros (PÁDUA, 2002).

Os constituintes químicos do café sofrem variação nos seus teores, ao longo do desenvolvimento dos frutos, entretanto vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos, com o objetivo de relacionar os componentes químicos e físico-químicos com a qualidade do café, pela proposição de parâmetros mais precisos, capazes de avaliar a qualidade com auxílio da análise sensorial do café torrado (NOBRE, 2009).

Os diferentes processos metabólicos que ocorrem na pós-colheita do café contribuem para que ocorram modificações na constituição química dos grãos de café, especialmente nos componentes solúveis em água, como a trigonelina, os ácidos clorogênicos e demais componentes precursores do sabor e do aroma que irão determinar a qualidade final da bebida (SMITH, 1985). Os

níveis desses compostos têm sido estudados, tanto para a discriminação das espécies quanto para avaliação do grau de torração, qualidade e de propriedades funcionais (BICCHI et al., 1997; CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 2000a).

### **2.3.1 Composição química dos cafés imaturos**

O café colhido no estágio de maturação verde apresenta aspecto de pior qualidade, quando comparado aos frutos colhidos maduros (TEIXEIRA, 1984). Os grãos de café classificados como “defeito verde” são assim denominados por apresentarem a película prateada da semente de coloração verde brilhante. Quando esses grãos são examinados no microscópio, é visível que as paredes celulares são mais finas (baixo teor de celulose), o que denuncia o seu amadurecimento incompleto. Possuem, ainda, sabor metálico e adstringente, baixo teor de lipídeos e ácido oléico (ILLY; VIANI, 1995).

Avaliando cafés de diferentes estágios de maturação, Pimenta (1995) concluiu que existe influência do estágio de maturação sobre a qualidade dos grãos, com o estágio do café cereja apresentando valores mais altos para atividade da polifenoloxidase, peso de 100 grãos e açúcares e valores menores para fenólicos totais, cafeína e lixiviação de potássio, enquanto que os frutos colhidos no estágio de maturação verde apresentaram maiores valores para fenólicos totais, elevada lixiviação de potássio e atividade da enzima pectinametilesterase.

Os cafés imaturos, quando descascados, comparativamente, aos cafés verdes naturais apresentam melhor qualidade, demonstrada pelos menores valores de condutividade elétrica, lixiviação de potássio, acidez titulável total e maiores teores de sólidos solúveis e de todos os açúcares analisados, apresentando também o menor número de defeitos e melhor qualidade de bebida (NOBRE, 2009). Este autor obteve também maiores valores médios dos ácidos

clorogênicos nos grãos crus do café natural imaturo, quando comparados aos cafés verdes descascados. Mazzafera (1999) comparou a composição química dos grãos de café cereja, dos grãos preto-verde e verde imaturo. A quantidade de proteína aumentou na seguinte sequência: grãos preto-verdes, verdes e cereja; entretanto, não houve nenhuma interação com o conteúdo de aminoácidos livres, com concentrações mais elevadas nos grãos imaturos. A asparagina foi o principal aminoácido encontrado nos grãos imaturos, e apresentou maior concentração naqueles processados por via seca, quando comparados com aos processados pela via úmida. A arginina, treonina, glutamina, triptofano, valina, isoleucina e histidina apresentaram níveis superiores nos frutos imaturos processados por via seca, em comparação com o processamento via úmida. A fenilalanina, aspartato e o glutamato apresentaram-se em maiores quantidades nos cafés submetidos ao processamento via úmida (DIAS, 2008).

#### **2.4 Importância e formação da acrilamida**

A acrilamida ( $C_3H_5NO$ , peso molecular 71) é um sólido branco cristalino, estável à temperatura ambiente, solúvel em água, etanol, metanol, dimetil éter e acetona, e insolúvel no benzeno. Fazem parte de sua estrutura química uma função amida polar, que confere a característica de alta solubilidade em água, e uma função vinil, que permite a polimerização. A acrilamida, também é conhecida como 2-propenamida (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA, 1994).

A acrilamida tem sido produzida desde a década de 50, através da hidratação de acrilonitrila e é utilizada, principalmente, para produzir poliácrlamida, que é empregada, por exemplo, no tratamento de clarificação da água e do esgoto e na produção de géis para eletroforese. Além de produzir

poliacrilamida, a acrilamida é utilizada em fundações para a construção de túneis e barragens (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2002).

Os riscos associados à acrilamida não são recentes e, provavelmente, a população tem sido exposta a esta substância por algumas gerações. Segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), a acrilamida é classificada como uma substância provavelmente carcinogênica em humanos (grupo 2A) e, além disso, pode ser tóxica ao sistema nervoso e reprodutivo de homens e animais em determinadas doses (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC, 1994).

Devido ao potencial tóxico deste contaminante e, conseqüentemente, aos riscos que a sua ingestão, através de alimentos, poderia representar para a saúde humana, o Comitê do Codex sobre Aditivos e Contaminantes em Alimentos (CCFAC), em 2004, recomendou ao Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS (JECFA) que realizasse uma avaliação do risco da acrilamida e, eventualmente, estabelecesse limites para sua ingestão, já que esta substância nunca tinha sido avaliada anteriormente.

Após a descoberta da formação de acrilamida em alimentos, a Agência Nacional de Alimentos da Suécia foi o primeiro órgão que realizou um estudo sobre a determinação de acrilamida em produtos disponíveis no mercado, confirmando sua presença em diferentes níveis, em muitos alimentos processados termicamente (SWEDISH NATIONAL FOOD AGENCY - SNFA, 2002). De modo geral, os resultados das avaliações indicaram que alimentos ricos em carboidratos submetidos a altas temperaturas apresentavam altos níveis de acrilamida. Alimentos que não eram fritos ou assados durante seu processamento ou preparação e alimentos ricos em proteínas, não apresentavam níveis significativos de acrilamida, e tampouco a presença desta substância foi detectada, em alimentos crus ou cozidos em água.

Produtos à base de batata, como batatas fritas e batatas *chips*, torradas, biscoitos, cereais matinais e café apresentaram os maiores teores de acrilamida. Em 240 amostras avaliadas, o nível de acrilamida encontrado estava entre 30  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e 3500  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , dependendo do produto. Observou-se ainda que estes níveis variavam significativamente, dentro da mesma categoria de alimento, sendo sugerido que o modo de preparo dos alimentos poderia interferir no teor de acrilamida formada. Esta avaliação tornou-se uma orientação para outros países, em relação à escolha das amostras a serem analisadas e ao intervalo dos resultados obtidos (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FAO, 2002).

Um estudo sobre a ocorrência de acrilamida em alimentos brasileiros foi realizado entre 2004 e 2006, através da análise de 111 amostras, representando 19 categorias diferentes de alimentos. Os níveis de acrilamida determinados variaram entre 20  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e 2528  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , dependendo do produto. Os resultados mostraram que os níveis médios foram de 582  $\mu\text{g kg}^{-1}$  no café instantâneo, variando de 333 a 683  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e de 174  $\mu\text{g kg}^{-1}$  no café torrado e moído, variando entre 128 a 202  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (ARISSETO et al., 2007).

Diversos estudos são realizados para avaliar as variáveis que estão envolvidas no processo de formação da acrilamida em alimentos, sendo que a presença de seus precursores, asparagina e açúcares redutores, na matéria-prima, e as condições de processamento, as mais discutidas. O estudo destas variáveis tem sido útil no desenvolvimento de estratégias para a diminuição do potencial de formação desta substância em alimentos.

A presença do aminoácido asparagina nas plantas propicia condições para o seu acúmulo durante as alterações fisiológicas em situações adversas (JIA et al., 2001). Há evidência de que a asparagina é acrescida em todos os tecidos da planta durante os períodos de baixas taxas de síntese de proteína e provisão abundante de nitrogênio, ocorrendo principalmente durante os processos fisiológicos normais, como a germinação de sementes e no transporte de

nitrogênio (LEA et al., 2007). A mudança no conteúdo de asparagina parece ser um bom indicador de alterações no metabolismo de nitrogênio nas plantas induzidas por fatores ambientais. Entretanto, o aumento no conteúdo desse aminoácido pode ser causado por stresse induzido, como a secagem.

O principal caminho para a formação de acrilamida em alimentos envolve a reação de Maillard, entre o aminoácido asparagina e os açúcares redutores. A formação da acrilamida a partir da asparagina poderia explicar as altas concentrações em alimentos que apresentam quantidades expressivas deste aminoácido na sua composição (MOTTRAM; WEDZICHA; DODSON, 2002). O teor de asparagina associado ao método de aquecimento parece ser o fator mais relevante na formação da acrilamida (BRATHEN et al., 2005; FREDRIKSSON et al., 2004).

## **2.5 Compostos bioativos, furfural e aminas biogênicas**

O café constitui uma bebida de grande popularidade, com aroma e sabor característicos. Por esta razão, numerosos estudos relacionados à segurança e as implicações da sua bebida, na saúde, têm sido realizados (ABRAHÃO, 2007). Nos últimos anos, os ácidos clorogênicos, a cafeína e a trigonelina são objetos de várias investigações, em virtude dos seus potenciais efeitos biológicos positivos em seres humanos.

A trigonelina tem recebido considerável atenção, tanto do ponto de vista sensorial como nutricional, pois tem efeito sobre o sistema nervoso central, na secreção da bile e na motilidade intestinal (CLARKE; MACRAE, 1987). A trigonelina pode contribuir indiretamente na formação de compostos desejáveis e indesejáveis do aroma durante a torração dos grãos (MACRAE, 1985; MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000). Durante a torração dos grãos, a trigonelina é degradada, sendo a sua perda proporcional à drasticidade do processo, ocorrendo a formação de compostos, de relevante importância, para o

aroma do café (ILLY; VIANI, 1995). Além disso, é convertida em niacina, que faz do café um dos únicos alimentos que tem seu valor nutricional aumentado após o processamento térmico (CASAL et al., 2000b; MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999).

Os ácidos clorogênicos são compostos fenólicos que representam 6-12% dos componentes do café (FARAH et al., 2005), e são conhecidos por serem responsáveis pela pigmentação e adstringência do café (FARAH; DONANGELO, 2006). A degradação térmica dos ácidos clorogênicos, durante a torração resultará na formação de substâncias fenólicas, que contribuem para o amargor (CLIFFORD, 1985) e de compostos aromáticos como os fenóis, que são indesejáveis na qualidade da bebida (TOCI; FARAH, 2008). Além disso, os ácidos clorogênicos participam da formação da cor através da sua incorporação na estrutura das melanoidinas (FARAH; DONANGELO, 2006). As principais classes dos ácidos clorogênicos no café são os ácidos cafeoilquínicos (ACQ), feruloilquínicos (AFQ) e dicafeoilquínicos (di-ACQ), com pelo menos três isômeros por classe (CLIFFORD, 2000).

O termo ácido clorogênico, originalmente, refere-se ao ácido cafeoilquínico (5-ACQ), um dos ácidos mais importantes do grupo de compostos fenólicos no reino vegetal, particularmente, abundante em muitos alimentos e ervas medicinais. Este composto tem uma ampla gama de atividades biológicas como: antibacteriano (LI; STEFFENS, 2002), antifúngico (SHADLE et al., 2003), repelente de insetos (BENINGER et al., 2004), ansiolítico (BOUAYED et al., 2007), hepatoprotetor (XIANG et al., 2001), antitrombótico (SATAKE et al., 2007) e antiviral (CHIANG et al., 2002), incluindo a inibição do HIV (ZHU et al., 2004). Suas propriedades antioxidantes são amplamente pesquisadas e apresentam-se como benéficas contra o estresse oxidativo em várias condições relacionadas, tais como arteriosclerose (CHENG et al., 2007), câncer (LEE; LEE, 2006), e a doença de Alzheimer (SILVA et al., 2004).

A cafeína é um derivado da xantina, que apresenta um sabor amargo característico do café (FARAH et al., 2006). É um alcalóide encontrado em grande variedade de bebidas (chás, cafés, refrigerantes etc.). A cafeína atua no organismo humano, principalmente, como estimulante do sistema nervoso central e diurético, relaxa a musculatura lisa dos brônquios, do trato biliar, do trato gastrointestinal e de partes do sistema vascular. É bastante estável com a torração, mantendo os níveis presentes no grão cru (ILLY; VIANI, 1995). Ocorre livre no citoplasma, apresentando alta variabilidade e marcantes diferenças interespecíficas exibidas pela ação do genótipo sobre a produção deste alcalóide (CHARRIER; BERTHAUD, 1975). A ingestão de cafeína em excesso pode causar sintomas desagradáveis, inclusive a irritabilidade, dores de cabeça, insônia, diarreia e palpitações do coração (BRENELLI, 2003).

O furfural é um produto da Reação de Maillard, utilizado como identificador dos efeitos do aquecimento, podendo ser considerado, também como indicador da degradação de alimentos e bebidas, quando encontrado em grandes concentrações, entretanto, quando presente em baixas concentrações compõe o aroma de algumas bebidas (GRANADOS et al., 1995; SCHULTHEISS; JENSEN; GALENSA, 2000). É uma substância formada durante as reações de escurecimento não enzimático dos alimentos e seus derivados são intermediários na formação dos pigmentos (melanoidinas) no estágio mais avançado da reação de Maillard. As melanoidinas são essenciais ao sabor, cor e textura dos alimentos. As pentosanas são decompostas, parcialmente, em furfural, que está presente em um nível alto na torração clara do café, sendo sua presença facilmente identificada pela fragrância de cereal (SIVETZ, 1963).

Dentre os diversos tipos de substâncias biologicamente ativas presentes no café estão as amins bioativas. São compostos orgânicos que podem estar naturalmente presentes nos alimentos ou serem formadas pela atividade

enzimática da microbiota acompanhante, sendo classificadas como poliaminas e aminas biogênicas. Os diferentes níveis das aminas presentes nos alimentos dependem de fatores como a presença dos aminoácidos livres, da atividade bioquímica, considerando a origem e as condições de processamento (SANTOS, 1996). Em alimentos não fermentados, a presença das aminas biogênicas acima de um determinado nível tem sido associada à atividade microbiana indesejável. Assim, o nível das aminas pode ser um indicativo de contaminação microbiológica (BARDÓCZ, 1995; SANTOS, 1996).

As alterações nos níveis das aminas biogênicas variam de acordo com a necessidade diária do organismo, uma vez que estão diretamente relacionadas ao crescimento celular. As aminas atuam como substratos, produtos finais ou intermediários de diferentes processos metabólicos. Além de seu papel como fonte de armazenamento de nitrogênio, algumas agem como precursoras na síntese de hormônios, alcalóides, ácidos nucleicos e proteínas desempenhando papéis importantes em diversas funções fisiológicas dos seres vivos, incluindo a regulação do crescimento celular, temperatura corporal e atividade cerebral (SANTOS, 1996).

As aminas biogênicas podem ser classificadas de acordo com o número de funções amina, estrutura química, ou processo de biossíntese. Segundo o número de funções aminas podem ser mono-amina (tiramina, feniletilamina), di-aminas (histamina, serotonina, triptamina, putrescina, cadaverina), ou poliaminas (espermina, espermidina, agmatina). Com base na sua estrutura química podem ser alifáticas (putrescina, cadaverina, espermina, espermidina, agmatina), aromáticas (tiramina, feniletilamina), ou heterocíclicas (histamina, serotonina, triptamina). Estas últimas podem ainda ser indolaminas (serotonina) ou imidazolaminas (histamina). De acordo com o seu caminho biossintético, podem ainda ser classificadas naturais ou biogênicas. As aminas biogênicas são formadas pela descarboxilação de aminoácidos por enzimas microbianas

(histamina, serotonina, tiramina, feniletilamina, triptamina, putrescina, cadaverina e agmatina), e as naturais são formadas por síntese de novo a partir de precursores, cuja formação ocorre *in situ* nas células à medida que são requeridas (putrescina, agmatina, espermina, espermidina e histamina) (BARDÓCZ, 1995).

As aminas biogênicas são geralmente vasoativas ou psicoativas. As psicoativas, como a histamina e serotonina, atuam no nível dos transmissores neurais no sistema nervoso central. As vasoativas podem agir direta ou indiretamente, no sistema vascular, como a tiramina, triptamina e feniletilamina causando um aumento da pressão arterial pela constrição do sistema vascular, bem como um aumento da frequência cardíaca e na sua força de contração. Algumas características toxicológicas, reações alérgicas e surtos de intoxicação alimentar são associados com a histamina e tiramina (GLÓRIA, 2005).

As aminas bioativas participam de importantes processos fisiológicos no homem, animais e plantas: aceleram o processo metabólico ou a conversão enzimática, atuam como reserva de nitrogênio, fatores de crescimento e são biomoduladoras. As aminas, putrescina, espermina e espermidina estão presentes em tecidos com altas taxas de crescimento e podem estar envolvidas com a divisão celular participando de vários processos fisiológicos como o florescimento, o desenvolvimento do fruto, resposta ao estresse, inibição da produção de etileno e da senescência (GLÓRIA, 2005).

A formação das aminas depende da ação de enzimas descarboxilantes, sendo que a temperatura interfere de forma significativa no processo. Em temperaturas inferiores a 30 °C as descarboxilases são mais ativas, a 40 °C são inativadas e na faixa de 0 a 10 °C a atividade dependerá da microbiota presente (HALÁSZ et al., 1994). A cadaverina e a putrescina foram encontradas em produtos em fase de decomposição ou putrefação. Já a espermina e espermidina foram isoladas pela primeira vez no fluido seminal (LIMA; GLÓRIA, 1999). A

atividade antioxidante das poliaminas também foi estudada por Choi et al. (2007), que evidenciaram elevada atividade antioxidante dos compostos N-dicumaroilputrescina, N,N-diferuloilputrescina, p-cumaroil-N-feruloilputrescina. Estes autores também evidenciaram uma forte atividade antimelanogênica destes compostos, sugerindo que os mesmos poderiam ser utilizados como agentes antioxidantes naturais e agentes protetores da pele. A denominação das aminas bioativas é em função dos aminoácidos precursores. A histamina origina-se da histidina, a tiramina da tirosina e a triptamina do triptofano (Figura 1).

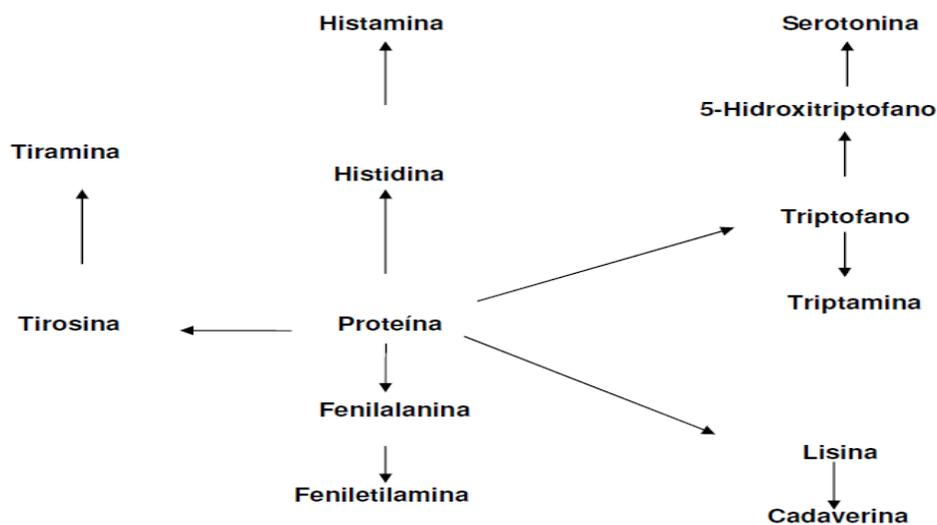


Figura 1 Vias metabólicas para a formação de aminas biogênicas  
Fonte: Lima e Glória (1999)

O tipo e a quantidade de cada amina depende da natureza e origem do produto. Os seus teores podem ser alterados com as condições de processamento, armazenamento e condições higiênicas. Dada a sua relativa termo-estabilidade, os seus teores poderão ser indicadores de contaminação de alimentos (CASAL et al., 2004). A putrescina e a espermidina podem ser consideradas ubiqüitárias nos alimentos, sejam estes de origem animal ou

vegetal, podendo ser acompanhadas por outras aminas (BARDÓCZ, 1995). A putrescina, espermina, espermidina podem acelerar o desenvolvimento de tumores, devendo ter sua ingestão limitada para pacientes que estejam sob tratamento de câncer (LIMA; GLÓRIA, 1999). O conhecimento dos seus teores é reduzido em alimentos de origem vegetal, incluindo o café. Este conhecimento seria importante do ponto de vista toxicológico e tecnológico.

Os aminoácidos ornitina e arginina são precursores das poliaminas, sendo a putrescina um composto intermediário obrigatório (Figura 2).

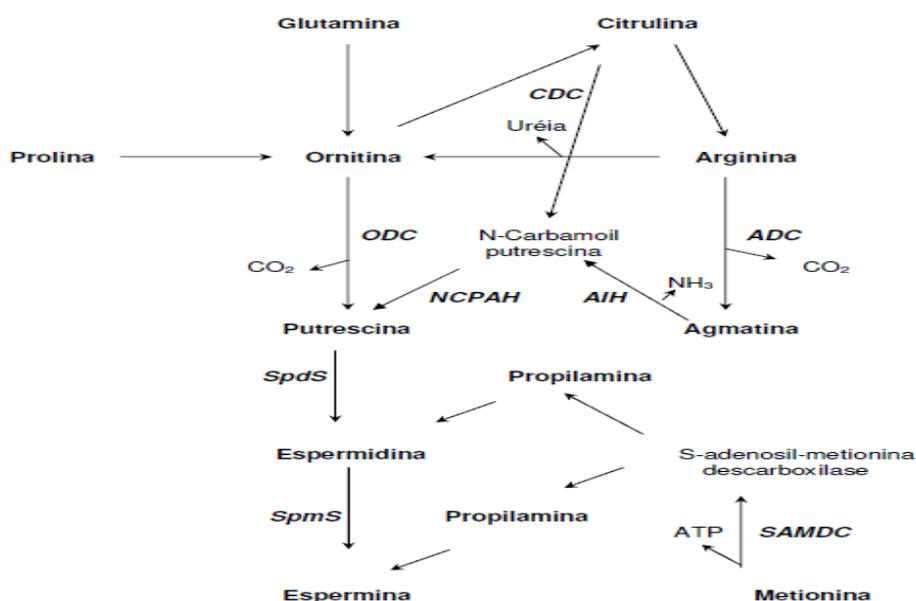


Figura 2 Vias para a síntese de poliaminas. Fonte: (GLÓRIA, 2005). ODC = ornitina descarboxilase; ADC = arginina descarboxilase; CDC = citrulina descarboxilase; AIH = agmatina iminohidrolase; Spm S = espermina sintase; Spd S = espermidina sintase; SAMDC = S-adenosilmetionina decarboxilase

Poucos estudos têm discutido a presença de aminas no café (AMORIM et al., 1977; CASAL et al., 2004; CIRILO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005). Além disso, diferentes conteúdos de aminas foram relatados como putrescina,

cadaverina, serotonina, tiramina, espermidina e espermina em cafés arábica e robusta (AMORIM et al., 1977; CASAL et al., 2004). Os teores de putrescina e tiramina foram significativamente diferentes nas amostras de café arábica e robusta, sendo que a putrescina foi detectada em maior concentração no café arábica e a tiramina no café robusta (SILVEIRA, 2008). Os resultados são diferentes daqueles observados para os vegetais em geral, nos quais a espermidina é a amina predominante (STARLING, 1998). As poliaminas putrescina, espermina e espermidina são predominantes durante a ontogenia de frutos e os seus níveis aumentam com o avanço no desenvolvimento do fruto (SRIDEVI; GIRIDHAR; RAVISHANKAR, 2009).

Foram encontradas outras aminas também no café cru, entre elas a serotonina (CASAL et al., 2004; CIRILO et al., 2003; VASCONCELOS et al., 2007) tiramina, histamina e cadaverina (CASAL et al., 2002, 2004). A serotonina foi encontrada em níveis superiores, enquanto tiramina, histamina e cadaverina estavam presentes em menores níveis (CIRILO et al., 2003). Nas amostras de café analisadas por Oliveira et al. (2005), não apresentavam a mesma origem, o que indica que os níveis das aminas biogênicas podem estar relacionados não somente à qualidade do café, mas com o crescimento dos frutos e nas condições do processamento.

Foi realizada por Vasconcelos et al. (2007) uma avaliação nos grãos de café sem defeito e nos defeituosos para verificar a presença das aminas biogênicas. Os níveis de putrescina foram mais elevados nos grãos de café sem defeito em comparação com os grãos defeituosos. A putrescina é precursora da espermidina e espermina, o que poderia explicar os seus níveis mais elevados. Os níveis de espermina e espermidina foram semelhantes entre os grãos imaturos, fermentados e nos grãos não defeituosos. Nos grãos pretos foram encontrados traços de cadaverina e nos grãos do café verde a presença de

triptamina, e em níveis residuais também nos grãos de café fermentados. A serotonina foi detectada em apenas algumas amostras.

Foram detectadas cinco das dez aminas pesquisadas nos grãos de café analisados por Oliveira et al. (2005): espermidina, espermina, putrescina, histamina e triptamina. Os teores totais das aminas variaram entre as amostras de bebida mole e rio. A putrescina foi encontrada em teores significativamente maiores nos grãos de bebida rio. A histamina e triptamina foram detectadas em maiores quantidades nas amostras de café de baixa qualidade (bebida rio). Estudos são necessários para traçar o perfil das aminas nos grãos de café com o intuito de verificar a possibilidade de minimizar os seus teores no produto final a fim de garantir uma melhor qualidade e maior segurança ao consumidor.

## **2.6 Alterações nos grãos de café durante o processamento e na torração**

A quantidade e a composição dos compostos solúveis dependem das condições características do processamento do café (BUCHELI et al., 1996; BYTOF et al., 2005; KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006). Apesar de existirem estudos sobre a influência do processamento via úmida na composição química, os mecanismos bioquímicos e fisiológicos ainda necessitam ser melhor investigados (BYTOF et al., 2007; SELMAR; BYTOF, 2007). Diversas atividades metabólicas ocorrem nos grãos de café durante o processamento (SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2002; SELMAR et al., 2006), em decorrência dos processos de germinação (BYTOF et al., 2007), bem como da alteração ao metabolismo do estresse da secagem, responsáveis por significativas mudanças na composição de substâncias presentes nos grãos de café e, portanto, na sua qualidade (BYTOF et al., 2005).

A constituição química dos grãos poderá ser modificada durante o processamento e a secagem do café, devido às transformações físicas, químicas,

bioquímicas e fisiológicas que podem ocorrer (MAZZAFERA; PURCINO, 2004). Foram verificadas variações no conteúdo de glicose e frutose, bem como de aminoácidos livres dos grãos crus de café, dependendo da forma do processamento e da secagem (BYTOF et al., 2005). Essas alterações modificam a composição original do grão de café e, em consequência, as propriedades sensoriais da bebida (MALTA; PEREIRA; CHAGAS, 2005).

Os grãos de café despulpados apresentaram menores níveis de glicose e frutose que os grãos processados pela via seca (KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006). Nos cafés analisados por Selmar et al. (2002), foi verificado um maior conteúdo de aminoácidos livres nos grãos processados via seca em comparação com o processo via úmida. Essas diferenças, segundo Bytof (2003), ocorrem principalmente devido a maior quantidade de ácido glutâmico na constituição dos grãos de café processados via seca, em comparação aos grãos processados via úmida. O metabolismo dos frutos e das sementes do café torna-se mais ativo quando esses são processados pela via úmida (BYTOF et al., 2005). As diferenças na constituição dos grãos de café podem estar relacionadas, entre outros fatores, à indução ou inibição dos processos de germinação, dependendo da presença ou não da casca dos frutos, conforme relatado por Bytof (2003).

Complexos mecanismos bioquímicos encontram-se envolvidos na formação das características da cor, sabor e aroma do café durante a torração, ocorrendo as reações de Maillard e de Strecker, caramelização de açúcares, degradação dos ácidos clorogênicos, proteínas e polissacarídeos. A torração é um ponto importante processo, pois nela ocorre a formação do sabor e aroma característicos do café, devido as alterações físicas e químicas, que resultarão na potencialização ou redução dos atributos de qualidade (ILLY; VIANI, 1995).

Os efeitos do tempo e do grau de torração dos grãos sobre a formação de acrilamida foram determinados em um estudo detalhado por Lantz et al. (2006). O grau de torração foi medido pela reflexão da luz e expresso em

unidades de reflexão de luz (LRU), a partir do escuro para os cafés torrados mais claros. No estudo utilizou-se segundo os autores uma torração rápida, posteriormente o tempo de torração foi prolongado, o que alterou o conteúdo de acrilamida. O processo de torração pode alterar drasticamente a qualidade, pois mudanças físicas e químicas importantes ocorrem rapidamente em intervalos de tempo relativamente curtos. A forma como o processo é realizado tem impacto na concentração da acrilamida, que apresenta-se com menores teores nas torrações mais escuras.

Os componentes químicos presentes nos grãos de café definem a qualidade da bebida tanto do ponto de vista sensorial quanto o da saúde do consumidor (SALVA; LIMA, 2007). A temperatura e o tempo utilizados na torração dos grãos contribuem para que a composição do café torrado seja significativamente diferente consoante o grau de torração utilizado. Alguns compostos existentes nos grãos do café são alterados com o aumento da temperatura, como as proteínas por desnaturação, sendo esta proporcional ao grau de torração, variando de 20-40% na torração média, e mais de 50% na torração escura (CASAL, 2000). Na torração média, o aroma e o corpo são mais acentuados, sendo por isso, indicada para cafés expressos e na preparação de bebidas com a utilização de filtros, pois ressalta o sabor e aroma característicos do café. Na torração escura ocorre a diminuição da acidez, intensificando o sabor amargo e o escurecimento, devido à carbonização de alguns componentes, reduzindo a doçura e originando bebidas mais escuras, sendo utilizada com finalidades de atender segmentos de consumo que interpretam a coloração mais intensa como um produto que fornece um maior rendimento no preparo, ou que tem preferência por bebidas com maior amargor (PEREIRA, 2003).

## **REFERÊNCIAS**

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

ALPIZAR, E.; BERTRAND, B. Incidence of elevation on chemical composition and beverage quality of coffee in Central America. In: ASSOCIATION FOR SCIENCE AND INFORMATION ON COFFEE COLLOQUIUM, 20., 2004, Bangalore. **Proceedings...** Bangalore: ASIC, 2004. 1 CD-ROM.

AMORIM, H. V. et al. Polyamines in green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 4, n. 2, p. 957-958, Feb. 1977.

ARISSETO, A. P. et al. Determination of acrylamide levels in selected foods in Brazil. **Food Additives & Contaminants**, London, v. 24, n. 3, p. 236-241, June 2007.

BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 6, n. 10, p. 341-346, Oct. 1995.

BENINGER, C. W. et al. A flavanone and two phenolic acids from *chrysanthemum morifolium* with phytotoxic and insect growth regulating. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 30, n. 3, p. 589-590, Mar. 2004.

BICCHI, C. P. et al. Characterization of roasted coffee and coffee beverages by solid phase microextraction: gas chromatography and principal component analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 12, p. 4680-4686, Dec. 1997.

BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. 103 p.  
\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Lavras: UFLA, 2008. v. 1, 631 p.

BOUAYED, J. et al. Positive correlation between peripheral blood granulocyte oxidative status and level of anxiety in mice. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdam, v. 77, n. 1/3, p. 146-149, June 2007.

BRATHEN, E. et al. Addition of glycine reduces the content of acrylamide in cereal and potato products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 8, p. 3259-3264, Apr. 2005.

BRENELLI, E. C. S. A extração de cafeína em bebidas estimulantes: uma nova abordagem para um experimento clássico em química orgânica. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 136-138, jan./fev. 2003.

BUCHELI, P. et al. Determination of soluble sugars by high performance anion exchange chromatography (HPAE) and pulsed electrochemical detection (PED) in coffee beans upon accelerated storage. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 12, n. 1, p. 325-329, 1996.

BYTOF, G. **Einfluss der nacherntebehandlung auf die qualitätsausgang bei Arabica-Kaffee (*Coffea arabica* L.)**. 2003. Thesis (Ph.D.) TU Braunschweig.

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

\_\_\_\_\_. Transient occurrence of seed germination processes during coffee post-harvest treatment. **Annals of Botany**, London, v. 100, n. 1, p. 61-66, Jan. 2007.

CARVALHO, V. D. et al. Relações entre a composição físico-química e química do grão beneficiado e da qualidade de bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 449-454, mar. 1994.

CASAL, S. Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid and caffeine content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 8, p. 3420-3424, Aug. 2000.

CASAL, S. et al. Free and conjugated biogenic amines in green and roasted coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 20, p. 6188-6192, Sept. 2004.

CASAL, S.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. Aminas heterocíclicas aromáticas: implicações da sua presença nos alimentos tratados termicamente. **Revista Portuguesa de Farmacia**, Lisboa, v. 50, n. 2, p. 65-79, 2000a.

\_\_\_\_\_. HPLC/diode-array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. **Food Chemistry**, London, v. 68, n. 4, p. 481-485, Apr. 2000b.

CASAL, S.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; FERREIRA, M. A. Determination of biogenic amines in coffee by an optimized liquid chromatographic method. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, New York, v. 25, n. 16, p. 2535-2549, June 2002.

CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. Variation de la teneur en caféine dans le genre Coffea. **Café Cacao Thé**, Paris, v. 11, n. 4, p. 251-264, 1975.

CHENG, J. C. et al. Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: mechanism and structure-activity relationship. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 1, p. 132-139, Jan. 2007.

CHIANG, L. C. et al. In vitro anti-herpes simplex viruses and anti-adenoviruses activity of twelve traditionally used medicinal plants in Taiwan. **Antiviral Research**, Amsterdam, v. 26, n. 11, p. 1600-1604, 2002.

CHOI, S. W. et al. Antioxidant and antimelanogenic activities of polyamine conjugated from corn bran and related hydroxycinnamic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 10, p. 3920-3925, May 2007.

CIRILO, M. P. G. et al. Profiles and levels of bioactive amines in green and roasted coffee. **Food Chemistry**, London, v. 82, n. 3, p. 397-402, Aug. 2003.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee technology**. New York: Elsevier Applied Science, 1987. v. 2, 321 p.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Coffee chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 153-202.

\_\_\_\_\_. Chlorogenic acids and others cinnamates-nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 1033-1043, July 2000.

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

COMPANHIA DE ARMAZÉNS E SILOS DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Áreas protegidas no Brasil**. Disponível em: <<http://www.casemg.com.br/download/CASEMG%20Colheita%20Caf%C3%A9%20-%20Monte%20Carmelo.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2007.

DIAS, E. C. **Perfil de aminoácidos nos frutos verdes do cafeeiro processados por via seca e via úmida**. 2008. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 18, n. 1, p. 23-36, Feb. 2006.

FARAH, A. et al. Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated Arabica coffees. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 2, p. 374-381, Jan. 2005.

\_\_\_\_\_. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, London, v. 98, n. 2, p. 373-380, Feb. 2006.

FISHER, M. et al. Polysacharides of green Arabica and robusta coffee beans. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 330, n. 1, p. 93-101, Jan. 2001.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Health implications of acrylamide in food**. Geneva, 2002. Disponível em:  
<<http://www.who.int/fsf/acrylamide/SummaryReportFinal.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2003.

FRANÇA, A. S. et al. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 1/2, p. 89-94, Mar./Apr. 2004.

FREDRIKSSON, H. et al. Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 81, n. 5, p. 650-653, Sept. 2004.

GARRUTI, R. S.; GOMES, A. G. Influência do estágio de maturação sobre a qualidade da bebida do café do Vale do Paraíba. **Bragantia**, Campinas, v. 20, n. 44, p. 989-995, 1961.

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

GLÓRIA, M. B. A. Bioactive amines. In: HUI, H.; SHERKAT, F. (Ed.). **Handbook of food science, technology and engineering**. London: CRC, 2005. p. 32-36.

GRANADOS, J. Q. et al. Comparison of spectrophotometric and chromatographic methods of determination of furanic aldehydes in wine distillates. **Food Chemistry**, London, v. 52, n. 2, p. 203-208, June 1995.

HALÁSZ, A. et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. **Trends Food Science and Technology**, London, v. 5, n. 2, p. 42-49, Feb. 1994.

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

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Acrylamide**. Lyon, 1994. Disponível em: <<http://www-cie.iarc.fr/htdocs/monographs/vol60/m60-11.htm>>. Acesso em: 16 mar. 2004.

JIA, M. et al. Ion chromatographic analysis of selected free amino acids and cations to investigate the change of nitrogen metabolism by herbicide stress in soybean (*Glycine max*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 1, p. 276-280, Jan. 2001.

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

LANTZ, I. et al. Studies on acrylamide levels in roastings, storage and brewing of coffee. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 50, n. 11, p. 1039-1046, Nov. 2006.

LEA, P. J. et al. Asparagine in plants. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 150, n. 1, p. 1-26, Jan. 2007.

LEE, K. W.; LEE, H. J. The roles of polyphenols in cancer chemoprevention. **Biofactors**, Sussex, v. 26, n. 2, p. 105-121, 2006.

LI, L.; STEFFENS, J. C. Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic in enhanced bacterial disease resistance. **Planta**, Berlin, v. 215, n. 2, p. 239-247, Mar. 2002.

LIMA, A. S.; GLÓRIA, M. B. A. Aminas bioativas em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 70-79, jan./fev. 1999.

MACRAE, R. Nitrogenous compounds. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Coffee chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 115-152.

MALTA, M. R.; PEREIRA, R. G. F. A.; CHAGAS, S. J. 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.

MARIA, C. A. B. de; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. Compostos voláteis do café torrado: parte I, compostos heterocíclicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 209-217, mar./abr. 1999.

MARTIN, M. J. Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffee varieties differentiation. **Talanta**, London, v. 54, n. 4, p. 291-297, Nov. 2000.

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

MAZZAFERA, P.; PURCINO, R. P. Post harvest processing methods and physiological alterations in the Coffee fruit. In: ASSOCIATION FOR SCIENCE AND INFORMATION ON COFFEE COLLOQUIUM, 20., 2004, Bangalore. **Proceedings...** Bangalore: ASIC, 2004. 1 CD-ROM.

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; MARIA, C. A. B. de. Compostos voláteis do café torrado: parte II, compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 195-201, mar./abr. 2000.

MOTTRAM, D. S.; WEDZICHA, B. L.; DODSON, A. T. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. **Nature**, London, v. 419, n. 6906, p. 448-449, Oct. 2002.

MYIA, E. E. et al. Defeitos do café e a qualidade da bebida. **Coletânea de Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 5, p. 417-432, 1974.

NOBRE, G. W. **Processamento e qualidade dos frutos verdes de café arábica**. 2009. 85 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

OHIOKPEHAI, O.; BRUMEN, G.; CLIFFORD, M. N. The chlorogenic acids content of some peculiar green beans and the implications for beverage quality. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LA CHIMIE DU CAFE, 10., 1987, Salvador. **Anais...** Salvador: EMBRAPA, 1987. p. 177-185.

OLIVEIRA, S. D. et al. The effect of roasting on the presence of bioactive amines in coffees of different qualities. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 1/2, p. 287-291, Feb. 2005.

PÁDUA, F. R. M. **Composição química e qualidade de diferentes tipos de café torrado e moído durante o armazenamento**. 2002. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

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

\_\_\_\_\_. **Tecnologia e qualidade de café, raízes e tubérculos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. 54 p.

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

PRETE, C. E. C.; ABRAHÃO, J. T. M.; BARCA, A. A. L. Efeito da temperatura de secagem de frutos de café colhidos nos estádios de maturação cereja e verde, sobre a condutividade elétrica dos grãos. In: CONGRESSO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 21., 1995, Caxambu. **Anais...** Rio de Janeiro: MA/PROCAFÉ, 1995. p. 119-121.

PUERTA-QUINTERO, G. I. Calidad en taza de mezclas de variedades de café de la especie *Coffea arabica* L. **Cenicafe**, Chinchiná, v. 65, n. 4, p. 265-278, 2000.

RIBEIRO, D. M. et al. Taxa de redução de água do café cereja descascado em função da temperatura da massa, fluxo de ar e período de pré-secagem. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 28, n. 7, p. 97-107, 2003. Edição especial.

SALVA, T. J. G.; LIMA, V. B. A composição química do café e as características da bebida e do grão. **O Agrônomo**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 57-59, 2007.

SANTOS, M. H. S. Biogenic amines: their importance in foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 29, n. 2, p. 213-231, Apr. 1996.

SATAKE, T. et al. The Anti-thrombotic active constituents from centella asiatica. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 30, n. 5, p. 935-940, 2007.

SCHULTHEISS, J.; JENSEN, D.; GALENSA, R. Determination of aldehydes in food by high-performance liquid chromatography with biosensor coupling and micromembrane suppressors. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 880, n. 1/2, p. 233-242, June 2000.

SELMAR, D.; BYTOF, G. Green coffee is ALIVE!: a review on the metabolic processes taking place in coffee beans during processing and their implication for modern coffee research. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 21., 2007, Paris. **Proceedings...** Paris: ASIC, 2007. 1 CD-ROM.

SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S. E. New aspects of coffee processing: the relation between seed germination and coffee quality. In: DIX-NEUVIÈME COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFE, 16., 2002, Paris. **Proceedings...** Trieste: ASIC, 2002. p. 316-324.

SELMAR, D. et al. Germination of coffee seeds and its significance for coffee quality. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 8, n. 2, p. 260-264, Feb. 2006.

SHADLE, G. L. et al. Phenylpropanoid compounds and disease resistance in transgenic tobacco with altered expression of L-phenylalanine ammonia-lyase. **Phytochemistry**, Oxford, v. 64, n. 1, p. 153-161, Sept. 2003.

SILVA, B. A. et al. Neuroprotective effect of *H. perforatum* extracts on alfa-amyloid-induced neurotoxicity. **Neurotoxicity Research**, Berlin, v. 6, n. 2, p. 119-130, Mar. 2004.

SILVA, J. S. **Secagem e armazenagem do café: tecnologias e custos**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 162 p.

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. 2007.

SILVEIRA, T.M.L. **Aminas bioativas livres e conjugadas no café**

**solúvel: metodologia de análise e influência do processamento.** 2008. 179 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos.) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

SIVETZ, M. **Coffee processing technology.** Westport: AVI, 1963. 364 p.

SMITH, A. W. Agricultural practices. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Coffee chemistry.** Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 18-23.

SRIDEVI, V.; GIRIDHAR, P.; RAVISHANKAR, G. A. Endogenous polyamine profiles in different tissues of *Coffea sp.*, and their levels during the ontogeny of fruits. **Acta Physiologiae Plantarum**, Berlin, v. 31, n. 4, p. 757-764, July 2009.

STARLING, M. F. V. **Perfil e teores de aminas biogênicas em hortaliças.** 1998. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

SWEDISH NATIONAL FOOD AGENCY. **Acrylamide in food.** Helsingfors, 2002. Disponível em:  
<[http://www.slv.se/templates/SLV\\_DocumentList.aspx?id=4089](http://www.slv.se/templates/SLV_DocumentList.aspx?id=4089)>. Acesso em: 13 out. 2003.

TEIXEIRA, A. A. Observações sobre várias características do café colhido verde e maduro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 11., 1984, Londrina. **Anais...** Londrina: MAA/PROCAFÉ, 1984. p. 152-153.

TEIXEIRA, A. A. et al. Efeito da temperatura de secagem na caracterização dos defeitos verdes provenientes de frutos colhidos verdes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 7., 1979, Araxá. **Anais...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1979. p. 353-357.

TEIXEIRA, A. A.; GOMES, F. P. A influência de grãos verdes em ligas com cafés bebida mole. **Boletim Técnico do Instituto Brasileiro do Café**, Rio de Janeiro, n. 3, p. 3-15, 1970.

TOCI, A. T.; FARAH, A. Volatile compounds as potential defective coffee seeds' markers. **Food Chemistry**, London, v. 108, n. 3, p. 1133-1141, June 2008.

TRUGO, L. C. Analysis of coffee products. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L. C.; FINGLAS, P. **Encyclopedia of food sciences and nutrition**. London: Academic, 2003. v. 10, p. 1498-1506.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Acrylamide, document EPA 749-F-94-005**. Washington, 1994. Disponível em: <[http://www.epa.gov/chemfact/f\\_acryla.txt](http://www.epa.gov/chemfact/f_acryla.txt)>. Acesso em: 17 abr. 2005.

VASCONCELOS, A. L. S. et al. A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 1, p. 26-32, Mar. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Acrylamide in food: frequently asked questions**. Geneva, 2002. Disponível em: <[http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/acrylamide\\_faqs.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/acrylamide_faqs.pdf)>. Acesso em: 9 dez. 2003.

XIANG, T. et al. Studies on the hepatocyte protective activity and the structure-activity relationships of quinic acid and caffeic acid derivatives from the flower buds of *Lonicera bournei*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 67, n. 4, p. 322-325, June 2001.

ZHU, X. et al. Simultaneous analysis of theanine, chlorogenic acid, purine alkaloids and catechins in tea samples with the help of multi-dimension information of on-line high performance liquid chromatography/electrospray-mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 34, n. 3, p. 695-704, Jan. 2004.

## CAPÍTULO 2

## **Formação de acrilamida no café imaturo torrado submetido a diferentes tipos de processamento**

### **RESUMO**

O café natural produzido no Brasil apresenta atributos de qualidade extremamente variáveis, comprometendo a comercialização dos grãos. A presença do defeito verde é relevante na determinação da qualidade do café, pois está associada a fatores decorrentes do processo de colheita e da forma do processamento e secagem realizados. As operações na pós-colheita podem minimizar esse problema, desde que corretas técnicas de processamento sejam aplicadas. No descascamento do café cereja, ocorre a separação dos frutos verdes, que apresentam baixo potencial para produção de café de qualidade. O descascamento dos frutos verdes apresenta como uma forma de melhorar a qualidade deste café, propiciando maior valor agregado. Após o processamento do café, durante a secagem dos grãos, em função da presença ou ausência da casca dos frutos, ocorrem diversas alterações químicas, bioquímicas e fisiológicas, interferindo significativamente na qualidade e na quantidade dos aminoácidos, que são importantes precursores do sabor e aroma do café. O aminoácido asparagina é o principal precursor da acrilamida, substância potencialmente prejudicial à saúde. Os níveis de asparagina tornam-se relevantes na composição do café, pois sua concentração é maior nos frutos imaturos. O descascamento dos frutos verdes possibilita uma redução nos níveis de asparagina. A composição do café torrado é modificada consoante o grau de torração utilizado e vários compostos formados durante a reação de Maillard são importantes no desenvolvimento do sabor e aroma do café. O objetivo desse estudo foi determinar os níveis de acrilamida em função dos níveis de asparagina e do tipo de torração realizada nos grãos do café imaturo oriundos de diferentes formas de processamento. Foi verificado que o descascamento do café imaturo contribuiu para a redução nos níveis da acrilamida na torração média e não houve diferença na sua concentração na torração escura. Os grãos íntegros ou descascados podem ser processados entre 0 a 12 horas na realização da torração escura, diminuindo a formação de acrilamida, apresentando resultados promissores no controle e na formação desta substância.

Palavras-chave: Acrilamida. Café imaturo. Processamento.

### **ABSTRACT**

Natural coffee produced in Brazil shows a pattern of highly variable quality, affecting the marketing of grain. The presence of the green defect is relevant in determining the quality of coffee, because it is associated with factors arising from the harvesting process and the manner of processing and drying performed. Operations in post-harvest can minimize this problem since the correct processing techniques are applied. In the stripping of the coffee cherry, is the separation of green fruits, which have low potential for producing quality coffee. The stripping of the green fruits presented as a way to improve the quality of coffee, providing a greater value. After processing the coffee during the drying of grains, depending on the presence or absence of fruits peel, various changes occurring chemical, biochemical and physiological traits in grains, interfering significantly in quality and quantity of amino acids, which are important precursors of flavor and aroma of coffee. The amino acid asparagine is the main precursor of acrylamide, a substance potentially harmful to health. The levels of asparagine become relevant in the composition of the fruits of coffee, because its concentration is higher in immature fruits. The peeling of unripe enables a reduction in the levels of asparagine. The composition of roasted coffee is altered depending on the degree of roasting and used various compounds formed during the reaction of Maillard are important in the development of aroma and flavor. Acrylamide is degraded with increasing temperature, possibly compromising the sensory properties of the product in the realization of dark roasting grains. Aiming to minimize the formation of this substance in roasted beans, it was found that immature coffee stripping contributed to reducing acrylamide in medium roast and there was no difference in the processing of dark roasted grains. Whole grains can be peeled or processed between 0-12 hours on the day of dark roasted, reducing the formation of acrylamide, showing promising results in control and in the formation of this substance.

Keywords: Acrylamide. Immature coffee. Processing.

## **1 INTRODUÇÃO**

As alterações indesejáveis nas características químicas e bioquímicas dos grãos de café são causadas por muitos fatores como: fermentações por microorganismos, manejo inadequado desde a colheita até o processamento e condições climáticas adversas, como temperatura e umidade relativa elevadas. Além desses fatores sabe-se que a presença do defeito verde nos lotes de café deprecia o sabor e o aroma da bebida (BARTHOLO; GUIMARÃES, 1989). A quantidade máxima de frutos verdes recomendada comumente na planta para o início da colheita é de 5%. Porém, muitos produtores colhem quantidades superiores, que comprometem significativamente a qualidade da bebida quando esses frutos são misturados aos maduros no mesmo lote.

As reações bioquímicas que ocorrem na pós-colheita dos grãos de café interferem significativamente na qualidade e na quantidade dos aminoácidos livres. No processamento por via seca, o tempo disponível para que ocorra a reação de descarboxilação é maior em decorrência da menor taxa de secagem que ocorre nos frutos intactos comparativamente com a secagem do café despulpado (BYTOF, 2003; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2002). Além disso, a ocorrência de eventos relacionados à germinação não são considerados em razão do curto tempo e rápida desidratação durante o processamento. A importância na alteração dos aminoácidos e peptídeos está no fato de participarem na formação dos compostos voláteis responsáveis pelo sabor e aroma do café (BYTOF et al., 2005). Entre os aminoácidos presentes no grão cru, a asparagina é o principal precursor da acrilamida, substância potencialmente cancerígena, e os teores desse aminoácido no grão de café tornam-se relevantes, pois sua concentração apresenta-se ainda maior nos frutos imaturos do cafeeiro (MAZZAFERA, 1999).

Os principais fatores que afetam a quantidade de acrilamida formada no café são a espécie (arábica/robusta), o tempo e a condição da temperatura durante a torração. A quantidade de asparagina na matéria-prima é um fator muito importante na formação de acrilamida (BAGDONAITE, 2008).

Nos primeiros estudos que abordaram misturas de aminoácidos e açúcares redutores submetidos a altas temperaturas, verificou-se que a presença de asparagina aumentava significativamente o nível de acrilamida formada, principalmente acima de 120° C (BECALSKI et al., 2003; MOTTRAM; WEDZICHA; DODSON, 2002; STADLER et al., 2002). Os grãos de café geralmente são torrados em temperaturas elevadas e a quantidade de acrilamida encontrada no café torrado e moído no final do processo é relativamente baixa quando comparada com a obtida nos primeiros minutos da torração, em torno de 7000 ng g<sup>-1</sup> (FRIEDMAN, 2003). O aumento do tempo de torração leva à degradação de acrilamida, mas também à formação de compostos indesejáveis do sabor e aroma nas torrações muito escuras.

No café, os carboidratos e os aminoácidos são os principais constituintes que contribuem para a formação do sabor e do aroma típico durante a torração. Como o aroma é resultado do processo de torração e está relacionado com a composição química dos grãos de café, cada alteração na matéria-prima ou no processo de torração pode resultar em diferentes características do produto final (BAGDONAITE, 2008). A cor dos grãos depois de torrados é muitas vezes considerada um critério de qualidade. Portanto, a otimização das condições de torração na redução da formação de acrilamida mantendo a qualidade do produto necessita ser investigada (GUENTHER et al., 2007).

O objetivo deste estudo foi determinar os níveis de acrilamida em função dos níveis de asparagina e do tipo de torração realizada nos grãos do café imaturo oriundos de diferentes formas de processamento.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local de realização do experimento

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Lavras (Lavras/MG), e no Setor de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (Portugal).

### 2.2 Amostras de café

Os frutos do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) da cultivar Topázio, (safra 2006/2007) foram colhidos no campus da Universidade Federal de Lavras. As amostras foram provenientes do experimento de Nobre (2009) que avaliou a qualidade de frutos imaturos de café processados por via seca e via úmida, submetidos a diferentes períodos de repouso, com presença e ausência de água. Foi feita a determinação do grau de maturação e do rendimento do descascamento da matéria-prima do experimento (café verde imaturo), separando-se os estádios de maturação, em frutos passas (sobre-maduro), cereja (cor característica de pleno amadurecimento), verde (cor verde com grande firmeza mecânica) e verde-cana (qualquer mescla da cor cereja no verde). A porcentagem de descascamento dos frutos verdes foi calculada com o volume de café imaturo antes do descascamento (volume total) e o volume do café imaturo que ficou sem descascar, de acordo com a equação abaixo:

$$n_d = V_t - V_{sd} / V_t \times 100$$

$n_d$  – rendimento de descascamento (%)

$V_t$  – volume total (L)

$V_{sd}$  – volume do café não descascado (L).

A composição do café proveniente da lavoura apresentou proporções similares dos diferentes estádios de maturação, em todas as colheitas realizadas, contribuindo para a adequada condução do trabalho.

### **2.3 Condução do experimento e procedimentos de amostragem**

Foi realizado o descascamento dos frutos cereja, a partir do lote de café cereja e verde, com a pressão do descascador regulada permitindo a obtenção na saída do descascador de no máximo 10% de frutos cerejas na porção de frutos verdes. A porção de 90% de frutos verdes e 10% de frutos maduros foi dividida em 3 parcelas, constituindo a matéria-prima deste trabalho. A primeira parcela foi usada como controle (A). Outra parte desta mistura foi descascada com pressão regulada, resultando em uma parcela natural (B) e outra de café descascado (E). A terceira parte da mistura foi colocada em duas caixas durante 12 horas. Uma das caixas foi preenchida com água. Após o período de repouso os frutos foram descascados com pressão regulada originando o café verde descascado (G) e o natural (D) em repouso na água, e descascado (F) e natural (G) em repouso sem água (NOBRE, 2009).

A secagem do café imaturo natural foi realizada em terreiros ao sol, em camadas finas intercaladas com pequenas leiras de no máximo 2 cm com revolvimento de até 12 vezes por dia. Ao atingir a meia-seca, a secagem foi conduzida em leiras de 15 cm, revolvidas pelo menos 10 vezes ao dia, até atingir 11% do teor de água. O café verde descascado foi seco em terreiro em camadas de no máximo 2 cm com revolvimento de 16 vezes no dia.

Na Figura 1 é representado o fluxograma do processamento dos frutos do cafeeiro.

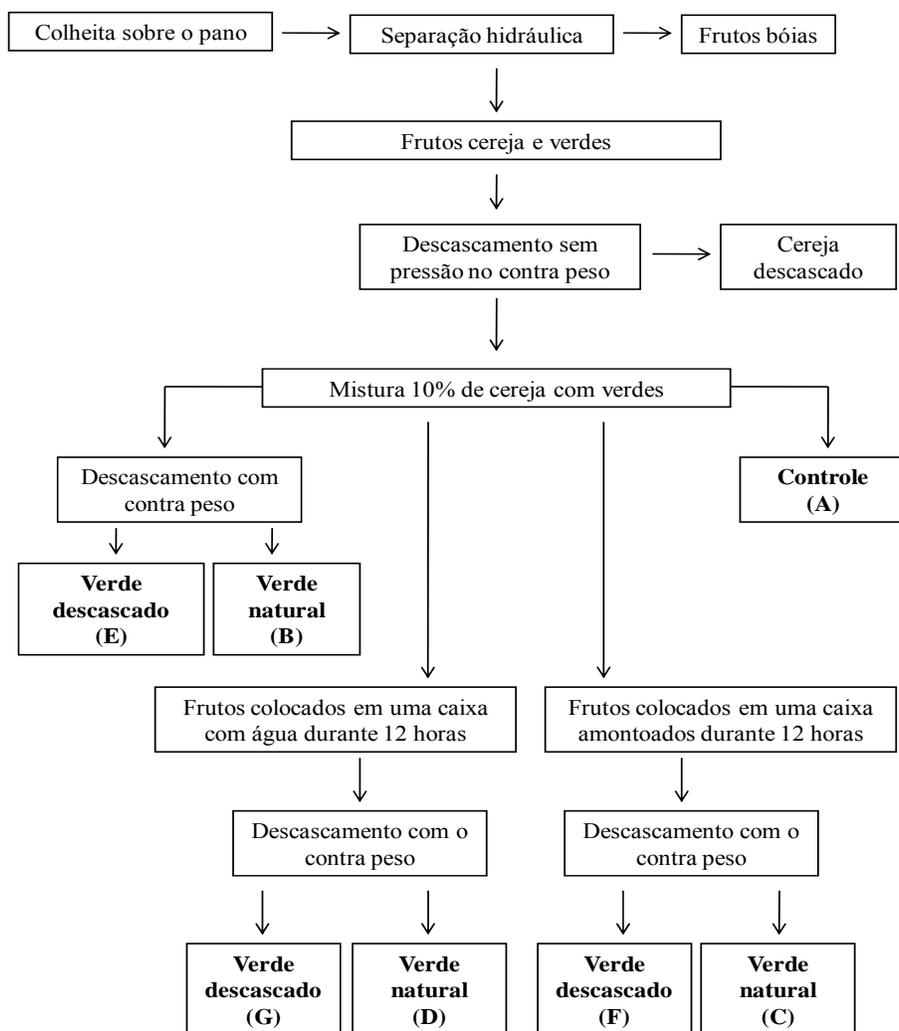


Figura 1 Representação esquemática do processamento do café (NOBRE, 2009)

## 2.4 Reagentes químicos

A acrilamida com grau de pureza 99% foi adquirida na Aldrich (Steinheim, Alemanha). O padrão interno de acrilamida 1,2,3 -  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}_3$  - acrilamida, padrão interno) a  $1\text{mg mL}^{-1}$  com 99% de grau de pureza em metanol foi obtido na Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA, E.U.A.). As colunas  $\text{C}_{18}$ /Multimode ISOLUTE (1g/1g) foram provenientes da Biotage (Uppsala, Suécia). O  $\text{C}_{18}$  a granel 125 Å, 55-105  $\mu\text{m}$  foi adquirido na Waters (Milford, E.U.A.). As colunas ISOLUTE e o  $\text{C}_{18}$  a granel (2g/amostra) foram condicionados com 10 mL de metanol seguido de 10 mL água antes da utilização tendo o cuidado de evitar a sua secagem. O hexano e o acetato de etila para análise de resíduos e o acetonitrila ultrapuro, foram obtidos da Fluka. O brometo de potássio para uso em espectroscopia e o bromo para a análise foram adquiridos na Merck (Darmstad, Alemanha). O cloreto de sódio de grau analítico foi comprado na J.T. Baker (Deventer, Holanda). O ácido bromídrico 48% e a solução de tiosulfato de sódio a  $1\text{ mol L}^{-1}$  foram obtidos na Riedel-de Haën (Seelze, Alemanha).

## 2.5 Padrões

Uma solução estoque de acrilamida ( $2\text{ g L}^{-1}$ ) foi preparada através da dissolução do composto em acetonitrila e devidamente diluída para preparar soluções de trabalho a  $1\text{ mg L}^{-1}$ . Uma solução de trabalho do padrão interno,  $^{13}\text{C}_3$ -acrilamida, foi elaborada a partir da solução de  $1\text{mg mL}^{-1}$  com uma concentração de  $10\text{ mg L}^{-1}$ . Todas as soluções foram armazenadas a  $4\text{ }^\circ\text{C}$ . A solução de bromo saturada foi preparada pela adição de bromo ( $\sim 3\text{ mL}$ ) a 200 mL de água até precipitação visível.

## 2.6 Processo de torração

As amostras de café foram torradas em um torrador modelo Probat BRZ - 6, no grau de torração médio e escuro, sendo a temperatura inicial no torrador de 150 ° C. Os pontos finais da torração foram determinados por exame visual e instrumental com um colorímetro (Chromameter-2 Reflectance, Minolta, Osaka, Japão) acoplado a um processador de dados (OP-300). Foram utilizados os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , como controle do grau de torração (PITTIA et al., 1996; PIZZIRANI et al., 1996). Os grãos torrados foram embalados a vácuo e as amostras refrigeradas na temperatura de 4 ° C até a realização das análises. Os grãos foram moídos em um moedor elétrico na granulometria de 20 mesh (Moulinex, modelo A843, Ecully, França).

## 2.7 Equipamentos

As centrifugações foram realizadas em um centrífuga da marca Sepatek Heraeus, modelo Ae Labofuge (Osterode, Alemanha) a 3000 g. As extrações MSPD (Matrix Solid Phase Dispersion) foram efetuadas em um sistema de aspiração a vácuo modelo Visiprep – Solid Phase Extraction Manifold da Supelco (Taufkirchen, Alemanha) com capacidade para 12 colunas. A evaporação dos solventes foi realizada sob fluxo de nitrogênio em um evaporador da marca Pierce, modelo Reacti-Therm 18790 (Rockford, IL, E.U.A.) com capacidade para 9 frascos. As análises foram realizadas por GC-MS, modelo HP GC-6890, split-splitless, acoplado a um detector seletivo de massa modelo Agilent MSD-5973N (Agilent, Palo Alto, CA, E.U.A.). A separação analítica foi realizada em uma coluna capilar MDN-12 (30 mm x 0,25 mm x 0,25 µm DI) da Supelco (Steinheim, Alemanha).

## 2.8 CG - MS e as condições de funcionamento

No cromatografo gasoso (CG) acoplado ao espectrômetro de massas (MS), o gás de arraste utilizado foi hélio com fluxo constante de 1 mL minuto<sup>-1</sup>. O volume de injeção de amostra foi de 1 µL (splitless, pressão pulsante 32 psi, 60 seg). As temperaturas do injetor foram de 280 ° C, e a do forno de 85 ° C durante 1 min., 15 ° C min<sup>-1</sup> até 280 ° C, mantida durante 10 minutos (tempo total 24 minutos) e com a linha de transferência a 280 ° C. O espectrômetro de massas, com energia de elétrons, 70 eV. O modo de aquisição com monitoramento de íons selecionados (SIM), e a relação, m/z 106, 150 e 152 para 2,3-dibromopropionamida (2,3-DBPA) e m/z 110, 153, 155 para 2,3-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-dibromopropionamida (2,3-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-DBPA). Os íons m/z 150 para 2,3-DBPA e o íon m/z 155 para 2,3-DBPA (<sup>13</sup>C<sub>3</sub>) foram utilizados para a quantificação e os restantes íons para confirmação. A acrilamida foi determinada a partir da razão das áreas entre o íon m/z 150 da 2,3-DBPA e o íon m/z 155 da 2,3-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-DBPA. A identidade do pico foi confirmada pelo tempo de retenção.

## 2.9 Metodologia de análise por dispersão da matriz em fase sólida (MSPD)

Uma alíquota de 0,5 g de café moído e 2 g de C<sub>18</sub> pré-condicionados foram colocados em um almofariz de vidro, enriquecido com 0,25 µg de padrão interno (25µl da solução de padrão interno a 10 mg L<sup>-1</sup>) e misturados com um pilão de vidro durante cerca de 2 minutos. A mistura obtida foi transferida para uma coluna pré-condicionada de ISOLUTE C<sub>18</sub>/Multimode (1g/1g) (SOARES et al., 2010). Uma tampa foi colocada no topo da mistura e a compressão feita com um êmbolo da seringa. Após o enchimento da coluna, esta foi colocada no Visiprep e a acrilamida foi extraída com 6 mL de água, parando o fluxo para garantir o contato da água com a amostra por 5 minutos. A solução de água foi

coletada até atingir o limite superior da tampa, para evitar a secagem dos solventes, e uma segunda alíquota de 6 mL de água foi adicionada, repetindo o procedimento anterior. O segundo volume de eluição foi totalmente recolhido e a coluna foi mantida sob vácuo durante 5 minutos para recolher toda a água restante. Todas as amostras analisadas foram preparadas em duplicata.

### **2.10 Preparação da curva analítica**

Alíquotas da solução de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de acrilamida (equivalentes de 0 a  $0,75 \text{ } \mu\text{g}$  do composto) foram colocadas em um almofariz de vidro com 2 g de  $\text{C}_{18}$  e  $0,25 \text{ } \mu\text{g}$  de padrão interno e preparadas, segundo o procedimento descritos, para as amostras de modo a obter 7 padrões com concentrações de 0 a  $1500 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$  nas amostras.

### **2.11 Bromação das amostras e padrões**

Foi adicionado ao extrato aquoso obtido 1 g de KBr calcinado. As soluções foram acidificadas com HBr até pH 1-3 ( $100\text{-}150 \text{ } \mu\text{L}$ ) e foram adicionados 2 mL da solução de bromo saturada. As soluções foram colocadas em um banho de gelo e mantidas ao abrigo da luz, pelo menos durante 1 hora. O excesso de bromo foi decomposto pela adição de solução de tiosulfato de sódio  $1 \text{ mol L}^{-1}$  até a cor amarela dos extratos desaparecer ( $50\text{-}150 \text{ } \mu\text{L}$ ). As soluções obtidas foram saturadas com 2 g de NaCl e os derivados de acrilamida extraídos duas vezes com 10 mL e 5 mL de acetato de etila/hexano 4:1 (v/v). O volume da fase orgânica foi reduzido para 3 mL sob corrente de nitrogênio e foi adicionada uma pequena quantidade de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Finalmente, a solução foi centrifugada a 3000 rpm durante 3 minutos, e o sobrenadante foi transferido para outro frasco e evaporado com uma ligeira corrente de nitrogênio até 0,5 mL. Os

extratos dos derivados de acrilamida foram injetados no cromatógrafo de fase gasosa.

### **2.12 Análises estatísticas**

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com um esquema fatorial  $2 \times 3 \times 2$  [2 processamentos (via seca e via úmida); 3 procedimentos (sem repouso, 12 horas imerso em água e 12 horas amontoado) e dos graus de torração (médio e escuro)] em 3 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O modelo linear utilizado foi o procedimento GLM do SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2001).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A formação de acrilamida no café torrado é resultante principalmente da reação entre os aminoácidos precursores e os açúcares redutores na reação de Maillard. A presença da asparagina no café é o fator que determina a propensão na formação de acrilamida, que parece não ser alterada com a redução no teor de açúcares e está relacionada com a concentração de asparagina nos grãos de café (LANTZ et al., 2006). Os grãos de café imaturos segundo Mazzafera (1999) apresentam valores significativamente mais elevados de asparagina livre em comparação com os grãos maduros. Além disso, os níveis de asparagina dependem do processamento usado. Segundo Dias (2008), diferentes formas de processamento alteram o conteúdo de asparagina nos grãos de café imaturo, com menores valores nos cafés imaturos descascados comparativamente aos cafés imaturos em coco. Esse autor, no entanto, não analisou a relação entre os níveis de acrilamida formada após a torração dos grãos de café imaturo.

A presença dos defeitos verdes em lotes de café, formados a partir da colheita e processamento de frutos imaturos, pode ser um fator que contribui para que os teores de acrilamida apresentem-se em níveis mais elevados. A relação entre os níveis de asparagina e acrilamida nos cafés imaturos submetidos aos processamentos por via seca e via úmida e à torração média e escura encontram-se nos Gráficos 1 e 2, respectivamente.

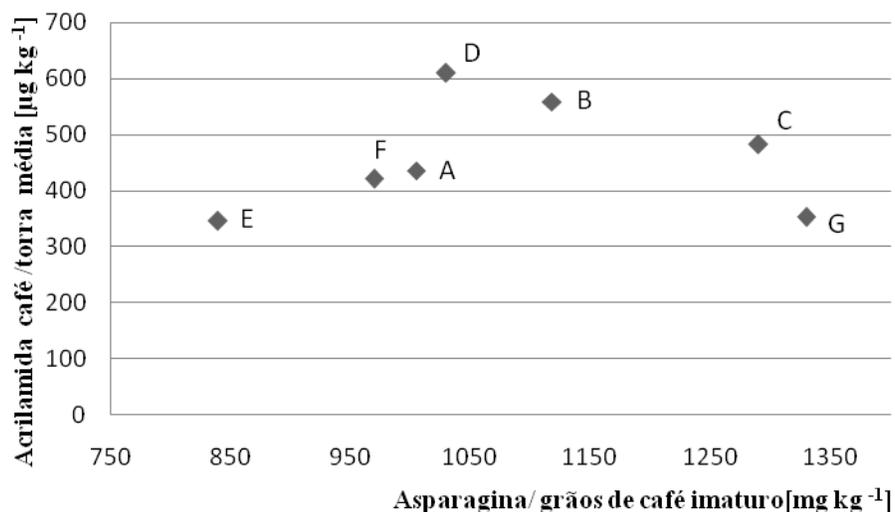


Gráfico 1 Níveis de asparagina ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) em comparação com os níveis de acrilamida ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) nos procedimentos realizados (A – controle, B - 0 hora natural, C – 12 horas natural amontoado, D – 12 horas natural imerso em água, E - 0 hora descascado, F – 12 horas descascado amontoado, G – 12 horas descascado imerso em água) na torração média dos grãos do café imaturo

As maiores quantidades de asparagina verificadas nos grãos do café imaturo natural correspondem aos maiores teores de acrilamida verificados nos procedimentos 12 horas natural imerso em água (D), 0 hora natural (B) e 12 horas natural amontoado sem água (C) e controle (A), na torração média dos grãos. Esse fato pode estar relacionado à maior quantidade de asparagina presente no café natural em comparação com o café descascado, como demonstrado por Dias (2008).

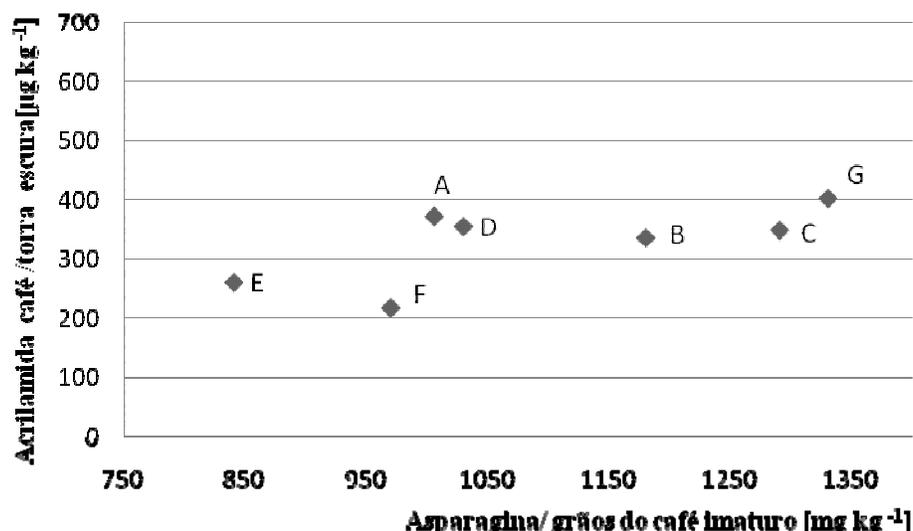


Gráfico 2 Níveis de asparagina ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) em comparação com os níveis de acrilamida ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) nos procedimentos realizados (A – controle, B - 0 hora natural, C – 12 horas natural amontoado, D – 12 horas natural imerso em água, E - 0 hora descascado, F – 12 horas descascado amontoado, G – 12 horas descascado imerso em água) na torração escura dos grãos do café imaturo

Os menores níveis de asparagina presentes nos grãos imaturos foram resultantes do processamento do café descascado correspondendo à menor quantidade de acrilamida formada. Observa-se que nos procedimentos 0 hora descascado (E) e, 12 horas descascado amontoado (F) resultaram em grãos com menores teores de acrilamida, para a torração média, comparando-se com os mesmos procedimentos realizados na torração escura do café imaturo descascado, exceto o procedimento 12 horas descascado imerso em água (G), que apresentou a maior quantidade de acrilamida na torração escura.

Durante a torração, os altos níveis de asparagina nos grãos de café imaturo natural contribuíram para a formação da acrilamida. Entretanto, a imersão em água, seguido do descascamento dos grãos induz o processo de

germinação da semente, estabelecendo maiores níveis de asparagina. Na planta o aumento dos teores de asparagina ocorre durante o período de germinação devido às baixas taxas de síntese de proteína e provisão abundante de nitrogênio (LEA et al., 2007). A abordagem da capacidade fisiológica dos grãos de café requer um conhecimento mais detalhado dos processos metabólicos, que abrangem inúmeras reações, com alternância do início e o retorno do processo e mudanças no âmbito da divisão celular.

No café processado por via úmida, Selmar e Bytof (2007), verificaram que a atividade máxima na divisão celular ocorreu cerca de dois dias após o início do processamento, enquanto que no processamento via seca, a divisão celular máxima ocorreu cerca de uma semana após o início da secagem, contribuindo para determinar as diferenças na constituição dos frutos a partir das alterações químicas, bioquímicas e fisiológicas ocorridas nos grãos. Estes processos não ocorrem de forma simultânea, e junto com a germinação, outros processos relacionados ao metabolismo, decorrentes do estresse da secagem, acontecem de forma paralela, e a elucidação de ambos é um desafio na pesquisa para avaliar as transformações ocorridas na composição do café.

As mudanças ocorridas na pós-colheita do café irão definir o potencial de formação de acrilamida a partir das alterações nas concentrações dos seus precursores. O conteúdo de acrilamida foi alterado em função dos níveis da asparagina e do tipo de processamento apresentando uma diferença significativa após a torração do café.

Os grãos imaturos de café, quando processados via seca e submetidos à torração média, apresentaram níveis superiores de acrilamida. Entretanto, não ocorreram alterações significativas nos níveis de acrilamida na torração escura, tanto para o café imaturo natural quanto para o café descascado (Tabela 1).

Tabela 1 Níveis de acrilamida ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) em grãos imaturos de café submetidos à torração média e escura

PROCESSO	TORRAÇÃO	
	Média	Escura
Natural	550,41 B	346,26 A
Descascado	373,45 A	292,71 A

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais dentro de cada coluna não diferem entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste F

A torração é um ponto importante a ser considerado, pois possibilita a formação de substâncias importantes para os atributos qualitativos do café. Através das reações de Maillard e de Strecker, os efeitos das várias reações bioquímicas contribuem para a formação de substâncias como a acrilamida durante a torração do café (SENYUVA; GOKMEN, 2005). Portanto, torrações mais acentuadas ou escuras dos grãos auxiliam na diminuição do conteúdo de acrilamida.

No processamento do café natural e descascado foi realizada a comparação entre os diferentes procedimentos para cada tipo de torração (média e escura). Independentemente do tipo de processamento realizado, houve diminuição dos níveis de acrilamida para os procedimentos sem repouso e 12 horas sem água, nos grãos do café imaturo na torração escura. Não ocorreram diferenças nos níveis de acrilamida quando foi realizada a torração média, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 Níveis de acrilamida ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) nos grãos do café imaturo submetidos aos diferentes procedimentos realizados nos processamentos e na torração média e escura dos grãos

PROCEDIMENTOS	TORRAÇÃO	
	Média	Escura
Sem repouso	452,53 a	297,92 ab
12 horas sem água	451,85 a	282,28 a
12 horas com água	481,42 a	378,25 b

Médias seguidas por letras minúsculas iguais dentro da coluna não diferem entre si ( $p>0,05$ ) pelo teste Tukey

No café descascado, os maiores níveis encontrados de asparagina e de acrilamida ocorreram do procedimento repouso com a água, provavelmente devido às alterações fisiológicas ocasionadas pela embebição de água pela semente, favorecendo o início do processo de germinação. A asparagina quando é acrescida nos tecidos indica as mudanças no metabolismo do nitrogênio nas plantas induzidas por fatores ambientais e estabelecendo uma condição ideal para o seu acúmulo em situações adversas, conforme descrito por JIA et al.(2001).

Entretanto, o café preparado em uma torração média pode conter quantidades relativamente mais elevadas de acrilamida do que em torrações mais escuras. Os níveis de acrilamida verificados em amostras de café foram inferiores quando realizada a torração escura em comparação a torração mais clara (GRANBY; FAGT, 2004; SENYUVA; GOKMEN, 2005). Em amostras de café torrado é necessária maior temperatura de torração dos grãos para chegar a uma coloração final escura que contém menor conteúdo de acrilamida. A

torração escura favorece a degradação de acrilamida, mas têm efeito negativo sobre os atributos sensoriais do produto (THEURILLAT et al., 2006), diminuindo a acidez, reduzindo a doçura e intensificando o amargor, devido à carbonização de alguns componentes (PEREIRA, 2003).

A quantidade média de acrilamida verificada na torração média dos grãos imaturos foi de 458,2  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e na torração escura de 326,8  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Os grãos de café torrados podem apresentar níveis de acrilamida entre 40 a 400  $\mu\text{g kg}^{-1}$  com um valor médio de 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (HOENICKE; GATERMANN, 2005; MURKOVIC, 2004), enquanto que no café instantâneo podem ser encontrados teores superiores a 500  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (ANDRZEJEWSKI et al., 2004). No final da torração dos grãos, de acordo com os dados da Comissão Européia, o café apresenta nível médio de acrilamida entre 265-290  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (GUENTHER et al., 2007). Na torração escura dos grãos do café imaturo, os níveis médios estão próximos aos valores recomendados pela Comissão Européia, considerando que os níveis de acrilamida na bebida dependem de outros fatores como a espécie e o tipo de preparo para o consumo.

Atualmente, não existem muitas opções disponíveis para a diminuição da acrilamida no processo de torração dos grãos de café. O controle nos níveis dos precursores na matéria-prima parece ser a forma mais eficiente na diminuição da acrilamida durante a torração dos grãos. O descascamento do café imaturo, independente do tipo de torração, contribuiu para a diminuição dos níveis de asparagina e conseqüentemente dos níveis da acrilamida, demonstrando que a partir do processamento é possível alterar a concentração de substâncias precursoras, que podem estabelecer um posterior efeito no aumento ou na diminuição de compostos formados durante a torração dos grãos de café.

#### **4 CONCLUSÕES**

O descascamento dos frutos imaturos do café contribui para a redução nos níveis de acrilamida do café na torração média.

Não existem diferenças nos níveis de acrilamida entre o café imaturo natural e o café imaturo descascado em relação à torração escura.

Independentemente do tipo de processamento, o teor de acrilamida será menor na torração escura dos grãos, caso o café imaturo seja processado no mesmo dia ou até 12 horas sem água.

## REFERÊNCIAS

- ANDRZEJEWSKI, D. et al. Analysis of coffee for the presence of acrylamide formation in coffee during roasting. **Food Additives and Contaminantes**, London, v. 22, n. 7, p. 214-220, Apr. 2004.
- BAGDONAITE, K. Determination of acrylamide during roasting of coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 15, p. 6081-6086, Sept. 2008.
- BARTHOLO, G. F.; GUIMARÃES, P. T. G. Cuidados na colheita, no preparo e no armazenamento do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 14, n. 162, p. 33-44, 1989.
- BECALSKI, A. et al. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modelling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 3, p. 602-608, Feb. 2003.
- BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008. v. 1, 631 p.
- BYTOF, G. **Einfluss der nacherntebehandlung auf die qualit\_tsauspr\_gung bei arabica-kaffee (Coffea arabica L.)**. 2003. Thesis (Ph.D.) - TU Brau.
- BYTOF, G. et al. Influence of processing on the generation of g-aminobutyric acid in green coffee beans. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 220, n. 3/4, p. 245-250, Mar. 2005.
- DIAS, E. C. **Perfil de aminoácidos nos frutos verdes do cafeeiro processados por via seca e via úmida**. 2008. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- FRIEDMAN, M. Chemistry, biochemistry and safety of acrylamide: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 16, p. 4504-4526, Aug. 2003.
- GRANBY, K.; FAGT, S. Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 520, n. 1/2, p. 177-182, Aug. 2004.

GUENTHER, H. et al. Acrylamide in coffee: review of progress in analysis, formation and level reduction. **Food Additives and Contaminantes**, London, v. 24, n. 1, p. 60-70, 2007. Supplement.

HOENICKE, K.; GATERMANN, R. Studies on the stability of acrylamide in food during storage. **Journal of the AOAC International**, Maryland, v. 88, n. 1, p. 268-273, 2005.

JIA, M. et al. Ion chromatographic analysis of selected free amino acids and cations to investigate the change of nitrogen metabolism by herbicide stress in soybean (*Glycine max*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 1, p. 276-280, Jan. 2001.

LANTZ, I. et al. Studies on acrylamide levels in roastings, storage and brewing of coffee. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 50, n. 11, p. 1039-1046, Nov. 2006.

LEA, P. J. et al. Asparagine in plants. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 150, n. 1, p. 1-26, Jan. 2007.

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

MOTTRAM, D. S.; WEDZICHA, B. L.; DODSON, A. T. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. **Nature**, London, v. 419, n. 6906, p. 448-449, Oct. 2002.

MURKOVIC, M. Acrylamide in Austrian foods. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, Amsterdam, v. 61, n. 1/2, p. 161-167, Oct. 2004.

NOBRE, G. W. **Processamento e qualidade dos frutos verdes de café arábica**. 2009. 85 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

PEREIRA, R. G. F. A. **Tecnologia e qualidade de café, raízes e tubérculos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. 54 p.

PITTIA, P. et al. Evoluzione di alcune caratteristiche fisiche del caffè durante la torrefazione. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v. 35, n. 351, p. 945-950, 1996.

PIZZIRANI, S. et al. Studio sulle caratteristiche chimiche e chimico-fisiche del caffè torrefatto e della bevanda di estrazione. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v. 34, n. 1, p. 658-663, 1996.

SELMAR, D.; BYTOF, G. Green coffee is ALIVE!: a review on the metabolic processes taking place in coffee beans during processing and their implication for modern coffee research. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 21., 2007, Paris. **Proceedings...** Paris: ASIC, 2007. 1 CD-ROM.

SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S. E. New aspects of coffee processing: the relation between seed germination and coffee quality. In: DIX-NEUVIÈME COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFE, 16., 2002, Paris. **Proceedings...** Paris: ASIC, 2002. p. 316-324.

SENYUVA, H. Z.; GOKMEN, V. Study of acrylamide in coffee using an improved liquid chromatography mass spectrometry method: investigation of colour changes and acrylamide formation in coffee during roasting. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 22, n. 3, p. 214-220, 2005.

SOARES, C. M. D. et al. Development and validation of a matrix solid-phase dispersion method to determine acrylamide in coffee and coffee substitutes. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 75, n. 3, p. 57-63, Mar. 2010.

STADLER, R. H. et al. Acrylamide from Maillard reaction products. **Nature**, London, v. 419, p. 449-450, Oct. 2002.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **The SAS system for windows**: release 8.02. Cary, 2001. 842 p.

THEURILLAT, V. et al. Impact of roasting conditions on acrylamide formation in coffee. In: ASSOCIATION FOR SCIENCE AND INFORMATION ON COFFEE INTERNATIONAL CONFERENCE, 21., 2006, Montpellier. **Proceedings...** Paris: ASIC, 2006. 1 CD-ROM.

### **CAPÍTULO 3**

#### **Avaliação dos níveis de trigonelina, furfural, ácidos clorogênicos e cafeína no processamento e na torração dos grãos do café imaturo**

##### **RESUMO**

As modificações ocorridas na constituição química dos frutos imaturos em função dos procedimentos realizados no processamento do café são importantes do ponto de vista da qualidade da bebida e da saúde do consumidor, originando diferentes níveis dos compostos encontrados nos grãos de café como a trigonelina, furfural, ácidos clorogênicos e cafeína. As mudanças observadas nesses componentes dos grãos de café são decorrentes da realização de diferentes procedimentos, como a imersão em água, repouso dos grãos amontoados e na presença e ausência da casca dos frutos durante a secagem. Na realização da torração média e escura ocorrem mudanças na constituição dos grãos de café, em razão das variações do tempo, temperatura e a cor dos grãos. A qualidade do café está associada ao sabor e aroma, e devido à complexidade das alterações químicas, bioquímicas e fisiológicas que irão definir as mudanças na qualidade do café. Este trabalho teve como objetivo verificar as diferenças na constituição química dos grãos em relação aos diversos procedimentos aplicados na pós-colheita do café imaturo. Os níveis de trigonelina apresentaram alterações em função dos procedimentos aplicados, tanto na realização da torração média como na escura. Os ácidos clorogênicos e o furfural apresentaram diferenças significativas na realização da torração média. Não ocorreram variações nos teores da cafeína nos diferentes processos. O aumento no conteúdo dos ácidos clorogênicos, trigonelina e furfural foram verificados no café descascado em comparação com o café imaturo natural.

Palavras-chave: Trigonelina. Furfural. Ácidos clorogênicos. Cafeína.

## ABSTRACT

Alterations in the chemistry of immature fruits on the basis of procedures performed in processing coffee are important from the standpoint of beverage quality and the health of consumers, generating different levels of compounds found in coffee such as trigonelline, furfural, chlorogenic acids and caffeine. The observed changes in these components of coffee beans are involved in undertaking various procedures such as immersion in water, rest heaps of grain and in the presence and absence of the skin of fruit during drying. In conducting the medium roast and dark changes occur in the constitution of coffee beans, because of the variations of time, temperature and color of the grains. The quality of coffee is associated with the flavor and aroma, and because of the complex chemical changes, biochemical and physiological changes that will define the quality of coffee. This work aims to correlate with differences in the chemical composition of the grains on the different procedures applied in post-harvest coffee immature. The levels of trigonelline showed changes in terms of procedures both in terms of medium roast as in the dark. Chlorogenic acids, furfural showed significant differences in the performance of medium roast coffee, and caffeine did not vary in the different processes. The increase in the content of chlorogenic acids, trigonelline and furfural were observed in the stripped coffee compared with unripe natural coffee.

Keywords: Trigonelline. Furfural. Chlorogenic acids. Caffeine.

## 1 INTRODUÇÃO

A constituição original dos grãos de café é alterada durante o processamento e as diferenças na composição química e nas características dos grãos de café beneficiados que contribuem para que os mesmos, quando submetidos ao processo de torração forneçam bebidas com características diferenciadas (BORÉM, 2008). A qualidade da bebida do café está associada ao sabor e aroma da bebida e ocorrem devido à complexidade dos compostos presentes no café torrado (FRANÇA; MENDONÇA; OLIVEIRA, 2004).

Durante a torração, a trigonelina converte-se em uma vitamina do complexo B (niacina), o que faz do café um dos únicos alimentos que aumenta seu valor nutricional após o processamento térmico (CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 2000; MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999). O conhecimento prévio da concentração de trigonelina permite estimar o potencial de degradação para formação dos compostos voláteis e do ácido nicotínico. Durante a torração, a trigonelina sofre desmetilação e forma o ácido nicotínico (niacina), que pode chegar a teores próximos a 20 mg 100g<sup>-1</sup> de café torrado. A niacina é precursora das coenzimas NAD e NADP, importantes em várias reações de oxidação (AGUIAR et al., 2005). Foi verificado o acúmulo de trigonelina em diversas plantas sujeitas a vários tipos de estresse (TRAMONTANO; JOUVE, 1997). A presença de trigonelina e outras betaínas, frequentemente, é associada à defesa da planta contra infecções fúngicas (BERGLUND; OHLSSON, 1995).

O furfural é originado da sacarose presente no grão do café cru, pelas reações de Maillard e pirólise. Também, parece que parte pode advir das arabinogalactanas (MARIA et al., 1994), um dos polímeros mais importantes da parede celular do café cru e torrado (BRADBURY; HALLIDAY, 1990; FISCHER et al., 2001). A partir do furfural foram identificados compostos constituintes de melanoidinas que inibem o crescimento de células tumorais.

Estudos demonstraram que a sua capacidade antioxidante parece depender do grau de torração. Acredita-se que as melanoidinas presentes no café atuam como antioxidantes e também na ativação quimiopreventiva de enzimas (DIAS, 2009).

Os ácidos clorogênicos são parcialmente degradados durante a torração e apresentam propriedades antioxidantes que produzem derivados com diferentes atividades biológicas (NOGUEIRA; TRUGO, 2003; VITORINO et al., 2001). São responsáveis pela pigmentação, formação do aroma e adstringência do café (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999). Além do aspecto nutricional, são importantes na avaliação sensorial da bebida. A atividade antioxidante do café diminui à medida que se avança o processo de torração, pela perda de componentes fenólicos (CASTILLO; AMES; GORDON, 2002; DUARTE et al., 2005). No entanto, a atividade antioxidante do café não se restringe apenas à perda de componentes fenólicos, outros componentes antioxidantes são formados durante a torração, principalmente resultantes da reação de Maillard (ANESE; NICOLI, 2003; CASTILLO; AMES; GORDON, 2002).

A cafeína não sofre grandes alterações com a torração dos grãos de café. É um derivado da xantina, e conhecida por estimular o sistema nervoso central. Estudos indicam que esta se acumula preferencialmente nos rebentos novos, nas folhas e sementes imaturas (ZHENG; ASHIHARA, 2004). A cafeína não diminui a concentração ao longo de maturação, não tanto como os ácidos clorogênicos, como tem sido apontado por Clifford e Kazi (1987). É geralmente associada a melhorias do estado de alerta, na capacidade de aprendizagem e no desempenho de exercício quando consumida moderadamente (FARAH et al., 2005). Seu sabor característico amargo é um importante determinante na formação do sabor do café (FARAH et al., 2006).

A caracterização dos componentes químicos presentes nos grãos do café é importante para a determinação da qualidade da bebida. Os constituintes do

café sofrem variação nos seus teores ao longo do desenvolvimento dos frutos, atingindo níveis considerados ideais na maturação plena do café (GIRANDA, 1998). A qualidade dos frutos do café imaturo poderá ser alterada em função do processamento via seca e via úmida, sendo que o procedimento repouso dos grãos, na presença ou ausência de água, estabelece as diferenças na constituição química dos grãos após o processo de torração.

O objetivo deste trabalho foi estudar as variações nas concentrações de trigonelina, ácidos clorogênicos, furfural e cafeína presentes nos grãos do café imaturo na realização das diferentes formas de processamento, verificando as alterações ocorridas após a torração média e escura dos grãos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local de realização do experimento

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Lavras (Lavras/MG), e no Setor de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (Portugal).

### 2.2 Amostras de café

Os frutos do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) da cultivar Topázio, (safra 2006/2007) foram colhidos no campus da Universidade Federal de Lavras. As amostras foram provenientes do experimento de Nobre (2009) que avaliou a qualidade de frutos imaturos de café processados por via seca e via úmida, submetidos a diferentes períodos de repouso, com presença e ausência de água. Foi feita a determinação do grau de maturação da matéria-prima do experimento (café verde imaturo), separando-se os estádios de maturação, em frutos passas (sobre-maduro), cereja (cor característica de pleno amadurecimento), verde (cor verde com grande firmeza mecânica) e verde-cana (qualquer mescla da cor cereja no verde). A porcentagem de descascamento dos frutos verdes foi calculada com base no volume de café imaturo antes do descascamento (volume total) e no volume do café imaturo que ficou sem descascar de acordo com a equação abaixo (NOBRE, 2009).

$$n_d = V_t - V_{sd} / V_t \times 100$$

$n_d$  – rendimento de descascamento (%)

$V_t$  – volume total (L)

$V_{sd}$  – volume do café não descascado (L)

A composição do café proveniente da lavoura apresentou proporções similares dos diferentes estádios de maturação, em todas as colheitas realizadas, contribuindo para a adequada condução do trabalho.

### **2.3 Condução do experimento e procedimentos de amostragem**

Foi realizado o descascamento dos frutos cereja, a partir do lote de café cereja e verdes, com a pressão do descascador regulada permitindo a obtenção na saída do descascador de no máximo 10% de frutos cerejas na porção de frutos verdes. A porção de 90% de frutos verdes e 10% de frutos maduros foi dividida em 3 parcelas, constituindo a matéria-prima deste trabalho. A primeira parcela foi usada como controle (A). Outra parte desta mistura foi processada regulando a pressão, resultando em uma parcela natural (B) e outra de café descascado (E). A terceira parte da mistura com 10% de frutos cereja foi colocada em duas caixas, em repouso durante 12 horas. Uma das caixas foi preenchida com água. Após o período de repouso os frutos foram descascados e originaram o verde descascado (G) e o natural (D) em repouso na água, e descascado (F) e natural (G) em repouso sem água (NOBRE, 2009).

A secagem do café imaturo natural foi realizada em terreiros ao sol, em camadas finas intercaladas com pequenas leiras de no máximo 2 cm, com revolvimento de até 12 vezes por dia. Ao atingir a meia-seca, a secagem foi conduzida em leiras de 15 cm, revolvidas pelo menos 10 vezes ao dia, até atingir 11% do teor de água. O café verde descascado foi seco em terreiro em camadas de no máximo 2 cm com revolvimento de 16 vezes no dia.

## 2.4 Processo de torração

As amostras de café foram torradas em um torrador modelo Probat BRZ - 6, no grau de torração médio e escuro, sendo a temperatura inicial no torrador de 150 ° C. Os pontos finais da torração foram determinados por exame visual e instrumental com um colorímetro (Chromameter-2 Reflectance, Minolta, Osaka, Japão) acoplado a um processador de dados (OP-300). Foram utilizados os parâmetros L\*, a\* e b\*, como controle do grau de torração (PITTIA et al., 1996; PIZZIRANI et al., 1996). Os grãos torrados foram embalados a vácuo e as amostras foram refrigeradas na temperatura de 4 ° C até a realização das análises. Os grãos foram moídos em um moedor elétrico na granulometria de 20 mesh (Moulinex, modelo A843, Ecully, França).

## 2.5 Padrões e reagentes

Foram empregados padrões Sigma C - 3878 para a determinação de ácido clorogênico (1,3,4,5 tetraidroxycyclohexanrcarboxylic acid 3 – 3,4 – dihydroxycinnamate minimum 95% FW 354-3 – 5ACQ), cafeína C-0750 (1,2,7 trimetilxantina); trigonelina (1-metilpiridinium-3-carboxilato monoidrato) e furfural (2 -furfuraldeido – 99%), 2 – Aldrich 18591- 4. A água ultrapura no preparo da fase móvel, dos padrões e demais soluções foi obtida por sistema de purificação e filtração da marca Milliq com condutividade de 0,16 µS. Os solventes utilizados na fase móvel foram o metanol (Sigma), o ácido acético glacial de grau cromatográfico, e a solução foi desgaseificada por 15 minutos, em um banho de ultrassom.

## 2.6 Preparação da curva analítica

Foram preparadas soluções padrões da cafeína, trigonelina, ácido clorogênico na concentração de  $5\text{mg mL}^{-1}$  e do furfural a  $1\text{mg mL}^{-1}$ , diluídas em água ultrapura e armazenadas a  $5^\circ\text{C}$ . Várias diluições foram feitas obtendo as áreas a partir dos cromatogramas com as diferentes concentrações dos padrões de trigonelina, ácido clorogênico, furfural e cafeína, onde foram geradas as curvas analíticas para os cálculos das concentrações de cada composto.

## 2.7 Extração

Foi realizada a extração com água quente, colocando 0,5 g de café torrado e moído em 100 mL de água ultrapura segundo Chambel et al. (1997) para a determinação da cafeína, furfural, trigonelina e ácido clorogênico (ácido 5 - cafeoilquinico). O extrato final foi filtrado duas vezes, primeiro em membrana de  $0,45\ \mu\text{m}$ , e logo após em uma membrana de  $0,22\ \mu\text{m}$  (Millipore), e parte da solução obtida foi injetada diretamente no cromatógrafo. As soluções obtidas das amostras de café foram diluídas quatro vezes na determinação da cafeína.

## 2.8 Equipamentos

As análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), em um cromatógrafo da marca Gilson 811 C (Modelo 302-303) Dynamic Mixer Piston Pump, com uma coluna em fase reversa  $\text{C}_{18}$  Ace ( $5\ \mu\text{m} \times 250\ \text{mm} \times 4,6\ \text{mm}$ ). O sistema encontrava-se acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Holochrome (modelo 4270/4290), conectado com um integrador 4270/4290 Varian.

## **2.9 Análises cromatográficas**

Uma alíquota de 20  $\mu\text{L}$  foi injetada no HPLC, utilizando como fase móvel uma solução de água com 0,2% de ácido acético (A) e metanol (B), em temperatura ambiente, com um fluxo de 1 mL  $\text{minuto}^{-1}$  com um gradiente de eluição de: 0 minuto = 2,5% B; 10 minutos = 15% B; 12 minutos = 30% B; 20 minutos = 35% B e 25 minutos = 2,5% B. A detecção foi realizada por UV/Vis em um comprimento de onda de 272 nm para a determinação da trigonelina, ácidos clorogênicos, furfural e cafeína.

## **2.10 Análises estatísticas**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 x 2 [2 processamentos (via seca e via úmida), 3 procedimentos (sem repouso, 12 horas imerso em água e 12 horas amontoado) e dos graus de torração (médio e escuro)] em 3 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O modelo linear utilizado foi o procedimento GLM do SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2001).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os constituintes químicos do café torrado podem ser divididos em substâncias voláteis, responsáveis pelo aroma da bebida, e não voláteis, que contribuem para o gosto amargo, ácido e a sensação de adstringência (BUFFO; CARDELLI-FREIRE, 2004). Embora as alterações de ordem física sejam mais facilmente verificadas, as alterações químicas são muito mais complexas e ainda não completamente elucidadas, que irão desenvolver as características organolépticas procuradas pelo consumidor da bebida do café.

A composição do café sujeita a uma torração média será, no entanto, significativamente diferente consoante a forma de condução do processo, já que os parâmetros que usualmente definem a torração são a sua duração, temperatura e intensidade. Dentre os diferentes componentes químicos que podem ser alterados ou perdidos durante a torração, uma atenção especial tem sido direcionada para a trigonelina e principalmente para os ácidos clorogênicos. A quantidade de trigonelina presente em amostras de café torrado vai depender do binômio tempo e temperatura de torração dos grãos (CASAL et al., 2004).

Os procedimentos realizados na pós-colheita do café contribuem para que ocorram modificações na constituição química dos grãos, principalmente nos componentes solúveis em água, como a trigonelina e os ácidos clorogênicos. As alterações ocorridas podem ser devidas ao processo de germinação, ocorrendo reações de hidrólise enzimática que afetam a estabilidade do grão na composição dos compostos solúveis, abrangendo inúmeros eventos metabólicos que irão desenvolver características específicas na composição química do café. Os níveis destes compostos no procedimento repouso com água apresentaram em quantidades menores e similares no café imaturo natural e descascado após a torração média dos grãos, representados nas Tabelas 1 e 2.

Os níveis de trigonelina apresentaram diferenças quando realizadas as torração média e escura dos grãos do café imaturo, entretanto, verifica-se maior quantidade no café descascado com os procedimentos sem repouso e repouso sem água. O procedimento sem repouso no café descascado propiciou maior quantidade de trigonelina comparando com o mesmo procedimento no café natural. Na torração escura, o café descascado apresentou maior conteúdo quando processado no mesmo dia. Na comparação entre os processos, o café descascado apresentou maior nível no repouso com água, diminuindo a quantidade com o procedimento repouso sem água, representados na Tabela 1.

Tabela 1 Níveis de trigonelina ( $\text{g kg}^{-1}$ ) na torração média e escura a partir de diferentes procedimentos realizados no processamento dos grãos do café imaturo

Processo	Torração	Procedimentos		
		Sem repouso	Repouso com água	Repouso sem água
Natural	Média	6,11 Ab	5,66 Aa	8,01 Aa
Descascado	Média	8,53 Aa	5,84 Ba	6,18 ABa
Natural	Escura	3,25 Aa	2,90 Ab	3,99 Aa
Descascado	Escura	4,81 Aa	4,07 Ba	3,24 Bb

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

No café arábica foram relatados teores de 2,97 g kg<sup>-1</sup> na torração escura, com variações entre 8,9 a 0,49 g kg<sup>-1</sup> em função da espécie e do grau de torração (CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 2000). Os teores de trigonelina apresentaram entre 5,4 e 5,5 g kg<sup>-1</sup> em amostras de café torrado (ABRAHÃO et al., 2008). Monteiro e Trugo (2005) relataram valores entre 5,0 a 2,0 g kg<sup>-1</sup> em cafés na realização da torração média e escura. Foram encontrados níveis superiores no café imaturo analisado podendo ser devido ao grau de maturação.

Na torração média foram verificados níveis médios em torno de 6,59 g kg<sup>-1</sup> no café natural e 6,85 g kg<sup>-1</sup> no café descascado. Os níveis de trigonelina diminuíram com a torração escura dos grãos imaturos, tanto no café descascado quanto no natural. Na torração escura reduziram para 3,38 g kg<sup>-1</sup> no café natural e 4,04 g kg<sup>-1</sup> no café descascado. Os derivados de trigonelina são conhecidos por serem importantes no aroma do café (TRUGO; MACRAE, 1984). O processo de torração ocasiona uma diminuição significativa no conteúdo de trigonelina (AMORIM et al., 1975; FRANÇA et al., 2005; TRUGO; MACRAE, 1984). As perdas de trigonelina têm sido relatadas entre 50-80% após a torração (FRANÇA et al., 2005; TRUGO; MACRAE, 1984). A perda média de trigonelina nos grãos de café imaturo da torração média para a torração escura foi de 50%. Esta diminuição pode ser atribuída às diferentes condições de torração, que incluem as diferenças nos padrões colorimétricos, uma vez que a degradação da trigonelina foi relatada ser dependente do grau de torração dos grãos (BORGES et al., 2004; CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 2000; TRUGO; MACRAE, 1984). A redução dos níveis de trigonelina na torração escura não apresenta correlações significativas com a qualidade da bebida (MARTIN; PABLO; GONZALEZ, 1998; TRUGO; MACRAE, 1984). A trigonelina remanescente da degradação térmica contribui no sabor amargo da bebida, e a niacina produzida durante o processamento possui alta biodisponibilidade na bebida café (TRUGO, 2003).

Nos grãos crus do café imaturo analisados por Nobre (2009), foram verificados valores médios superiores do ácido clorogênico no café natural em comparação com o café descascado. Entretanto, Guyot et al. (1995) observaram que os cafés processados por via seca parecem conter teores inferiores dos ácidos clorogênicos, quando comparados com os processados pela via úmida.

Na torração média dos grãos imaturos foram encontrados níveis superiores dos ácidos clorogênicos no café natural, com a realização do procedimento repouso sem água. No café descascado foram encontrados níveis superiores no procedimento sem repouso. Os níveis dos ácidos clorogênicos não apresentaram diferenças significativas na torração escura, conforme observado na Tabela 2.

Tabela 2 Níveis dos ácidos clorogênicos ( $\text{g kg}^{-1}$ ) na torração média e escura a partir dos diferentes procedimentos realizados no processamento dos grãos do café imaturo

Processo	Torrção	Procedimentos		
		Sem repouso	Repouso com água	Repouso sem água
Natural	Média	5,12 Bb	4,66 Ba	7,25 Aa
Descascado	Média	7,81 Aa	4,61 Ba	5,30 Bb
Natural	Escura	3,29 Aa	2,87 Aa	3,74 Aa
Descascado	Escura	3,86 Aa	3,93 Aa	3,18 Aa

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

Na comparação entre os dois processos, os teores dos ácidos clorogênicos foram alterados com maiores quantidades no café descascado, no procedimento sem repouso, e no café natural com o procedimento repouso sem água. Nos grãos imaturos apresentaram valores médios de 5,67 g kg<sup>-1</sup> no café natural e de 5,90 g kg<sup>-1</sup> no descascado após a torração média, diminuindo para 3,30 g kg<sup>-1</sup> no café natural e 3,65 g kg<sup>-1</sup> no descascado na torração escura, confirmando uma redução em torno de 40% dos ácidos clorogênicos durante o processo de torração. Em uma torração clara existirão cerca de 40% dos ácidos clorogênicos iniciais, mas em uma torração severa podem ser totalmente degradados (TRUGO; MACRAE, 1984); esta degradação é proporcional ao grau de torração, e os teores residuais podem ser indicativos da intensidade da mesma. Araújo (2007) obteve um conteúdo médio de 5,5 g kg<sup>-1</sup> de ácidos clorogênicos no café arábica. Nos grãos de café torrados, os teores dos ácidos clorogênicos variaram entre 3,7 e 3,8 g kg<sup>-1</sup> em amostras de café (ABRAHÃO et al., 2008). Os teores do 5-ACQ variaram em função do grau de torração (MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000), com valores de 2,6 g kg<sup>-1</sup> no café arábica na torração escura. Monteiro e Trugo (2005) relataram valores entre 5,96 a 1,1 g Kg<sup>-1</sup> em cafés comerciais com graus de torração média e escura.

Alguns trabalhos atribuem funções farmacológicas aos ácidos clorogênicos, principalmente como antioxidante (DUARTE et al., 2005). Além do aspecto farmacológico, os ácidos clorogênicos são importantes na avaliação sensorial da bebida. Os ácidos clorogênicos são precursores importantes dos ácidos fenólicos livres e, por conseguinte, dos compostos fenólicos voláteis que participam da formação do aroma do café torrado (MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000).

O furfural é um dos principais derivados dos furanos, que são oriundos principalmente da degradação de glicídios presentes no café, contribuindo consideravelmente, para as características sensoriais do café torrado. O furfural é

considerado um indicador da degradação de alimentos e bebidas, quando presente em grandes concentrações, e associado ao aroma de grama na bebida do café em menores quantidades (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999). A concentração de furfural apresentou-se superior no procedimento sem repouso, quando realizada a torração média dos grãos imaturos descascados, não diferindo dos demais procedimentos, conforme representado na Tabela 3. O aumento pode ser devido à disponibilidade das arabinogalactanas presentes nos grãos imaturos durante a formação do furfural na reação de Maillard.

Tabela 3 Níveis de furfural ( $\text{g kg}^{-1}$ ) na torração média e escura a partir dos diferentes procedimentos realizados no processamento dos grãos do café imaturo

Processo	Torrção	Procedimentos		
		Sem repouso	Repouso com água	Repouso sem água
Natural	Média	0,06 Aa	0,05 Aa	0,07 Aa
Descascado	Média	0,25 Bb	0,06 Aa	0,09 Aa
Natural	Escura	0,05 Aa	0,01 Aa	0,06 Aa
Descascado	Escura	0,07 Aa	0,08 Aa	0,05 Aa

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

Não ocorreram variações no conteúdo de furfural em função dos procedimentos realizados no processamento e na torração escura do café

imaturado, apresentando menores níveis em comparação com a torração média dos grãos, provavelmente devido a sua degradação durante o processo de torração.

No processo do café natural, o furfural apresentou uma concentração média de 0,06 e 0,04 g kg<sup>-1</sup> quando realizadas a torração média e escura, respectivamente. No café descascado os níveis médios foram de 0,14 g kg<sup>-1</sup> na torração média e 0,07 g kg<sup>-1</sup> na torração escura verificando que os teores de furfural diminuíram em torno de 50% nos valores médios do café descascado para a torração escura dos grãos imaturos. O furfural é um componente volátil de uma variedade de frutos e também utilizado como agente aromatizante. As concentrações de furfural encontradas em café apresentam valores entre 0,05 - 0,255 g kg<sup>-1</sup> (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC 1995). Um maior conteúdo de furfural foi observado no café descascado em comparação com o café imaturo natural durante a realização da torração média. O aumento da concentração do furfural está relacionado com as mudanças no aroma do alimento (LO COCO et al., 1996), principalmente nos alimentos que procederam da reação de Maillard ou caramelização, determinando o aroma característico de cereal presente no café após a torração dos grãos.

Os níveis de cafeína não apresentaram diferenças significativas no processamento do café imaturo na torração média e escura, conforme representados na Tabela 4. Os níveis médios de cafeína encontrados no café imaturo natural foram de 13,34 g kg<sup>-1</sup> na torração média e 13,95 g kg<sup>-1</sup> na torração escura. O café descascado apresentou níveis em torno de 13,11 g kg<sup>-1</sup> na torração média dos grãos e de 13,28 g kg<sup>-1</sup> na torração escura.

Os valores observados por Daglia et al. (2004) dos teores de cafeína em amostras de café arábica foram de 8,8 a 12,3 g kg<sup>-1</sup>. Níveis em torno de 13,5 g kg<sup>-1</sup> de cafeína foram encontrados nos frutos imaturos do cafeeiro (MAZZAFERA, 1998), correspondendo aos valores encontrados neste trabalho.

A variação da cafeína nos cafés torrados de diversos países, verificados por Casal, Oliveira e Ferreira (2000), foi de 12,1 a 16,1 g kg<sup>-1</sup> no café arábica, relatando teores de 12,4 g kg<sup>-1</sup> no café arábica do Brasil. Em amostras de café comerciais foram encontradas variações nos teores de cafeína entre 8,0 a 14,0 g kg<sup>-1</sup> (MONTEIRO; TRUGO, 2005).

Tabela 4 Níveis de cafeína (g kg<sup>-1</sup>) na torração média e escura a partir dos diferentes procedimentos realizados no processamento dos grãos do café imaturo

Processo	Torrção	Procedimentos		
		Sem repouso	Repouso com água	Repouso sem água
Natural	Média	13,58 Aa	13,51 Aa	12,92 Aa
Descascado	Média	13,28 Aa	12,80 Aa	13,24 Aa
Natural	Escura	13,93 Aa	13,65 Aa	14,26 Aa
Descascado	Escura	13,10 Aa	13,10 Aa	13,64 Aa

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

Nos cafés avaliados por Abrahão et al. (2008), os níveis da cafeína nos grãos crus não modificaram com o processo de torração dos grãos café confirmando a sua estabilidade térmica. Pequenas mudanças ocorrem no conteúdo da cafeína no desenvolvimento dos frutos do cafeeiro, verificadas por Clifford e Kazi (1987) e Clifford, Kazi e Crawford (1987). Nos grãos de café

despolpados, o conteúdo da cafeína variou entre 10,5 e 15,3 g kg<sup>-1</sup> enquanto que nos grãos processados pelo método cereja descascado os níveis de cafeína variaram entre 11,2 e 15,4 g kg<sup>-1</sup> segundo Duarte, Pereira e Farah (2010). Estes resultados estão de acordo com relatos da literatura (FARAH et al., 2005, 2006; MACRAE, 1985). A cafeína praticamente não sofre alterações com a torração, apresentando estabilidade neste processo (CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 2000; MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000). Os valores verificados no grão cru integral para cafeína encontram-se dentro do que está estabelecido pela literatura, em torno de 5,0 a 20,0 g kg<sup>-1</sup> no café arábica segundo (MELLO et al., 1992; MONTEIRO; TRUGO, 2005).

De acordo com os resultados obtidos de Balylaya e Clifford (1995) e Leloup et al. (2004) não ocorreram diferenças significativas entre os métodos de processamento via seca e via úmida em relação ao conteúdo de cafeína, podendo ser possivelmente devido à estabilidade desta substância aos procedimentos realizados no processamento e na secagem dos grãos. Os níveis de cafeína presentes nos grãos do café imaturo apresentaram dentro dos valores esperados relatados para os grãos do café arábica.

As quantidades dos compostos solúveis em água variaram em função dos procedimentos realizados durante o processamento do café. A indução ao processo de germinação inicia devido à imersão dos frutos descascados na água, ocasionando alterações na constituição química dos grãos. Durante a secagem, o estresse hídrico gerado através do decurso de vários eventos fisiológicos, contribui para que as mudanças ao metabolismo influenciem os níveis de vários compostos presentes nos grãos do café (SELMAR; BYTOF, 2007).

Os valores obtidos das substâncias analisadas podem ser importantes do ponto de vista nutricional, farmacológico e sensorial nos grãos torrados. Os procedimentos realizados permitiram verificar que as diferenças apresentadas na composição química do café imaturo, em função do tipo de processamento e

torração realizada, determinaram de uma forma geral que os grãos quando descascados no mesmo dia, obteve-se uma quantidade superior nos níveis de trigonelina, furfural e dos ácidos clorogênicos. O processamento do café natural com a utilização do procedimento repouso sem água contribuiu para os maiores níveis dos ácidos clorogênicos na constituição química do café imaturo. Acredita-se que o fruto quando intacto, com a presença do exocarpo e da mucilagem, ocorre maior resistência à remoção da água, ocasionando maior tempo no processo de secagem. As alterações químicas, bioquímicas e fisiológicas que ocorreram neste período contribuíram para que os grãos de café apresentassem mudanças na constituição química.

A qualidade final da bebida café está intrinsecamente relacionada à composição dos grãos torrados, sendo influenciada pelas características da matéria-prima e pelas condições de processamento realizadas na pós-colheita, e as diferenças obtidas a partir dos compostos analisados podem auxiliar na determinação do grau de torração ideal a ser realizado nos grãos do café imaturo.

#### **4 CONCLUSÕES**

Na torração média os níveis de trigonelina, ácidos clorogênicos e furfural apresentaram maior quantidade no procedimento sem repouso do café imaturo descascado. Os maiores níveis dos ácidos clorogênicos foram verificados no procedimento repouso sem água do café imaturo natural.

Na torração escura ocorreram variações somente nos níveis da trigonelina com maior conteúdo no café imaturo descascado processado no mesmo dia. Na comparação dos processos, o café natural apresentou maior quantidade no repouso sem água e o café descascado no repouso com água.

A cafeína não apresentou variações nos diferentes processos.

## REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1799-1804, dez. 2008.
- AGUIAR, A. T. E. et al. Diversidade química de cafeeiros na espécie *Coffea canephora*. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 577-582, 2005.
- AMORIM, H. V. et al. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage: 4., electrophoresis of soluble proteins in agargel and its interaction with chlorogenic acids. **Turrialba**, San José, v. 25, p. 18-24, 1975.
- ANESE, M.; NICOLI, M. C. Antioxidant properties of ready-to-drink coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 4, p. 942-946, Feb. 2003.
- ARAÚJO, F. A. **Café (*Coffea arabica* L.) submetido a diferentes condições de torrefação**: caracterização química e avaliação da atividade antioxidante e sensorial. 2007. 130 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- BALYLAYA, K. J.; CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and caffeine contents of monsooned Indian Arabica and robusta coffees compared with wet and dry processed coffees from the same geographic area. In: ASSOCIATION FOR SCIENCE AND INFORMATION ON COFFEE COLLOQUE COFFEE, 16., 1995, Kyoto. **Proceedings...** Kyoto: ASIC, 1995. p. 316-324.
- BERGLUND, T.; OHLSSON, A. B. Defensive and secondary metabolism in plant tissue cultures, with special reference to nicotinamide, glutathione and oxidative stress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 43, n. 2, p. 137-145, Nov. 1995.
- BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008. v. 1, 631 p.
- BORGES, M. L. A. et al. Perfis de trigonelina, ácido 5-cafeoilquínico e cafeína em cafés de diferentes qualidades durante a torração. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, n. 8, p. 14-18, 2004. Especial café.

BRADBURY, A. G. W.; HALLIDAY, D. J. Chemical structures of green coffee bean polysaccharides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 38, n. 3, p. 389-392, Mar. 1990.

BUFFO, R. A.; CARDELLI-FREIRE, C. Coffee flavour: an overview. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 19, n. 2, p. 99-104, Feb. 2004.

CASAL, S. et al. Free and conjugated biogenic amines in green and roasted coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 20, p. 6188-6192, Sept. 2004.

CASAL, S.; OLIVEIRA, B.; FERREIRA, M. A. HPLC/diode-array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. **Food Chemistry**, London, v. 68, n. 4, p. 481-485, Apr. 2000.

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

CHAMBEL, P. et al. Development of an HPLC/diode-array detector method for simultaneous determination of 5-hmf, furfural, 5-o-caffeoylquinic acid and caffeine in coffee. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, New York, v. 20, n. 18, p. 2949-2957, Nov. 1997.

CLIFFORD, M. N.; KAZI, T. The influence of coffee bean maturity of the content of chlorogenic acids, caffeine and trigonelline. **Food Chemistry**, London, v. 26, n. 1, p. 59-69, Jan. 1987.

CLIFFORD, M. N.; KAZI, T.; CRAWFORD, S. The content and washout kinetics of chlorogenic acids in normal and abnormal green coffee beans. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNACIONAL SUR LA CHIMIE DU CAFÉ, 12., 1987, Montreux. **Proceedings...** Montreux: ASIC, 1987. p. 221-228.

DAGLIA, M. et al. In vitro and ex vivo antihydroxyl radical activity of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 6, p. 1700-1704, Mar. 2004.

DIAS, A. F. **A reação de Maillard nos alimentos e medicamentos**. São Paulo: Petra, 2009. 61 p. Disponível em: <<http://www.scribd.com/doc/407299/A-reacao-de-Maillard-nos-Alimentos-e-Medicamentos-2009-61pp>>. Acesso em: 10 dez. 2009.

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, Mar. 2010.

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

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

\_\_\_\_\_. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 5, p. 1505-1513, Mar. 2005.

FISCHER, M. et al. Polysaccharides of green arabica and robusta coffee beans. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 330, n. 1, p. 93-101, Jan. 2001.

FRANÇA, A. S. et al. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 3, p. 89-94, Aug. 2005.

FRANÇA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; OLIVEIRA, S. S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 38, n. 7, p. 709-715, 2004.

GIRANDA, R. N. **Aspectos qualitativos de cafés (*Coffea arabica* L.) submetidos à diferentes processos de secagem**. 1998. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

GUYOT, B. et al. Influence du mode de préparation du café vert robusta sur la composition chimique et ses qualités organoleptiques. In: ASSOCIATION FOR SCIENCE AND INFORMATION ON COFFEE COLLOQUIUM, 16., 1995, Kyoto. **Proceedings...** Paris: ASIC, 1995. p. 267-277.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals**. Lyon, 1995. 407 p.

LELOUP, V. et al. Impact of wet and dry process on green composition and sensory characteristics. In: ASSOCIATION FOR SCIENCE AND INFORMATION ON COFFEE COLLOQUE, 20., 2004, Bangalore. **Proceedings...** New Delhi: ASIC, 2004. p. 93-100.

LO COCO, F. et al. High-performance liquid chromatographic determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in honey. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 749, n. 1/2, p. 95-102, Oct. 1996.

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

MARIA, C. A. B. et al. Composition of green coffee fractions and their contribution to the volatile profile formed during roasting. **Food Chemistry**, London, v. 50, n. 2, p. 141-145, Oct. 1994.

MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. Compostos voláteis do café torrado: parte I, compostos heterocíclicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 209-217, mar./abr. 1999.

MARTÍN, M. J.; PABLO, F.; GONZALÉZ, A. G. Discrimination between arabica and robusta green coffee varieties according to their chemical composition. **Talanta**, London, v. 46, n. 6, p. 1259-1264, Aug. 1998.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 64, n. 6, p. 547-554, June 1998.

MELLO, M. R. P. A. et al. Estudo comparativo de métodos de extração para determinação de cafeína em café. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 52, n. 1/2, p. 89-95, 1992.

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

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

NOBRE, G. W. **Processamento e qualidade dos frutos verdes de café arábica**. 2009. 85 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

NOGUEIRA, M.; TRUGO, L. C. Distribuição de isômeros de ácido clorogênico e teores de cafeína e trigonelina em cafés solúveis brasileiros. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 296-299, mar./abr. 2003.

PITTIA, P. et al. Evoluzione di alcune caratteristiche fisiche del caffè durante la torrefazione. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v. 35, n. 351, p. 945-950, 1996.

PIZZIRANI, S. et al. Studio sulle caratteristiche chimiche e chimico-fisiche del caffè torrefatto e della bevanda di estrazione. **Industrie Alimentari**, Pinerolo, v. 34, n. 1, p. 658-663, 1996.

SELMAR, D.; BYTOF, G. Green coffee is ALIVE!: a review on the metabolic processes taking place in coffee beans during processing and their implication for modern coffee research. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 21., 2007, Paris. **Proceedings...** Paris: ASIC, 2007. 1 CD-ROM.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **The SAS system for windows**: release 8.02. Cary, 2001. 842 p.

TRAMONTANO, W. A.; JOUVE, D. Trigonelline accumulation in salt-stressed legumes and the role of other osmoregulators as cell cycle control agents. **Phytochemistry**, Oxford, v. 44, n. 6, p. 1037-1040, Mar. 1997.

TRUGO, L. C. Analysis of coffee products. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L. C.; FINGLAS, P. **Encyclopedia of food sciences and nutrition**. London: Academic, 2003. v. 10, p. 1498-1506.

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. A. Study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. **Food Chemistry**, London, v. 15, n. 3, p. 219-227, Oct. 1984.

VITORINO, M. D. et al. Metodologias de obtenção de extrato de café visando a dosagem de compostos não voláteis. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 26, n. 3, p. 17-24, jan. 2001.

ZHENG, X. Q.; ASHIHARA, H. Distribution, biosynthesis and function of purine and pyridine alkaloids in Coffe arabica seedlings. **Plant Science**, Shannon, v. 166, n. 3, p. 807-813, Mar. 2004.

## **CAPÍTULO 4**

### **Determinação do perfil das aminas biogênicas no processamento do café imaturo**

#### **RESUMO**

A qualidade final do café é determinada de acordo com uma grande variedade de critérios, incluindo os métodos utilizados na pós-colheita, que colaboram na formação das substâncias presentes nos grãos após a torração. As aminas estão presentes nas plantas em consequência do seu desenvolvimento normal e são necessárias para a realização de várias funções fisiológicas. Atuam no organismo humano como vasoativas e neuroativas, devido ao seu efeito nos sistemas vascular e neural. A ingestão de alimentos contendo altas quantidades de aminas pode causar efeitos tóxicos e reações alérgicas. A importância na determinação nos níveis das aminas é em função de serem substâncias tóxicas, e a sua toxicidade depende da resposta individual e na presença simultânea de outras aminas no consumo dos alimentos. A presença do defeito verde nos lotes de café está associada ao processo de colheita no Brasil, e durante o processo de secagem pode ocorrer a fermentação destes grãos, afetando a qualidade do café. A partir do descascamento do café imaturo ocorreu uma diminuição dos processos fermentativos através da realização de uma secagem mais uniforme, reduzindo a porcentagem de defeitos, contribuindo para a melhoria da qualidade. O objetivo deste trabalho foi verificar composição das aminas nos grãos imaturos a partir dos diferentes procedimentos realizados no processamento do café. O conhecimento das aminas nos grãos defeituosos é relevante por estabelecer diferenças na composição dos grãos normais, na qualidade e segurança no consumo do café torrado. Foram determinadas as aminas, putrescina, espermina, espermidina, cadaverina, histamina, serotonina e tiramina. As condições específicas realizadas nos processamentos via seca e úmida e na secagem do café imaturo influenciaram os níveis da amina cadaverina, apresentando menores níveis nos procedimentos sem repouso do café descascado, e no repouso sem água e com água do café natural. A histamina apresentou menor quantidade no procedimento sem repouso do café imaturo descascado. Os níveis das aminas espermina e espermidina foram menores no café descascado em comparação com o café imaturo natural.

Palavras-chave: Aminas biogênicas. Café imaturo. Processamento.

## ABSTRACT

The final quality of coffee is determined by a variety of criteria, including the methods used in post-harvest, which collaborate in the formation of substances in the beans after roasting, which may be beneficial or harmful to human health. Amines are present in plants as a result of normal development and are required to perform several physiological functions such as modulating and promoting growth, by acting in the maintenance of cellular metabolism. They affect the human organism as vasoactive and neuroactive due to its effect on vascular and neural systems. The intake of foods containing high amounts of amines can cause toxic effects and allergic reactions. The importance in the determination the levels of amines is due to be toxic and its toxicity depends on the individual response and the simultaneous presence of other amines in food consumption. The knowledge of the amines present in coffee beans with defects is important to establish differences in the composition of normal grains and thus in the quality and safety in the consumption of roasted coffee. The presence of immature fruits in coffee is associated with the harvesting process in Brazil, and during the drying process can occur fermentation of grains, affecting the quality of coffee. From the stripping of immature coffee there was a decrease in fermentation processes by conducting a more uniform drying of fruits, reducing the percentage of defects contributing to improving the quality of the drink. However, more information is needed to better characterize this type of coffee. The specific conditions in the processing carried out dry and wet and drying of coffee immature influenced the level of the amine cadaverine was less than the procedure without a home stripped of coffee, and at home without water and with water in natural coffee. Histamine was less in the procedure without resting on immature coffee beans. The levels of spermine and spermidine were lower in the stripped coffee compared to the unripe natural coffee.

Keywords: Biogenic amines. Immature coffee. Processing.

## 1 INTRODUÇÃO

As aminas são bases orgânicas nitrogenadas de importância biológica, presentes em plantas em consequência do seu metabolismo normal. A produção de aminas é influenciada pelo pH, temperatura, concentração de oxigênio e a presença de aminoácidos livres (HALÁSZ et al., 1994). Em função da via biossintética, são classificadas como bioativas, que são sintetizadas na medida em que são requeridas, dando origem as poliaminas naturais, espermina e espermidina. As biogênicas, como a histamina, serotonina, tiramina, triptamina, putrescina e a cadaverina são formadas a partir das reações de descarboxilação dos aminoácidos por enzimas microbianas (SHALABY, 1996).

As aminas bioativas, em relação à função que exercem, podem ser classificadas em moduladoras e promotoras do crescimento, por atuarem no crescimento e manutenção do metabolismo celular (espermina e espermidina), e em vasoativas e neuroativas (tiramina, histamina e serotonina) devido ao seu efeito nos sistemas vascular e neural (ELIASSEN et al., 2002).

No café, quantitativamente, a putrescina apresenta-se como a amina mais relevante, principalmente nos grãos e em tecidos de rápido crescimento. Os níveis da histamina foram relatados apenas no café com qualidade inferior, indicando que a detecção de histamina poderia ser associada com a presença de grãos defeituosos, sendo um possível marcador para a qualidade do café (OLIVEIRA et al., 2005).

A qualidade do café é avaliada de acordo com uma grande variedade de critérios, incluindo o tamanho dos grãos, a cor e o formato, método de processamento, torração dos grãos, o sabor, o corpo e a quantidade de grãos defeituosos (BANKS; MCFADDEN; ATKINSON, 1999; FRANÇA et al., 2005). A presença de defeitos é relevante por estabelecer a qualidade do café, pois estão associados aos problemas decorrentes das operações de colheita,

processamento e secagem. Os defeitos “verdes”, aqueles que provêm dos frutos imaturos, estão associados com a adstringência da bebida, têm sido relatados como importante fator na desclassificação dos cafés quando relacionados ao sabor da bebida (CLARKE, 1987).

Entretanto, um dos maiores problemas relacionados com a produção de café no Brasil é devido à existência de grãos defeituosos no mercado interno, colaborando para uma quantidade expressiva de cafés com baixa qualidade. A necessidade para o uso alternativo e a diminuição destes grãos na comercialização do café é atualmente pesquisada, com o objetivo de avaliar as características químicas e físico - químicas que permitem a diferenciação entre grãos normais e os defeituosos (FRANÇA et al., 2005).

Uma das formas de melhorar a qualidade do café é o descascamento dos frutos maduros, sendo que logo após este processamento ocorre a formação de um lote de frutos imaturos, podendo comprometer a viabilidade do descascamento. A partir do descascamento do café imaturo verificou-se uma diminuição dos processos fermentativos através da realização da secagem mais uniforme destes frutos, reduzindo a porcentagem dos defeitos pretos, verdes e ardidos, contribuindo para a melhoria da qualidade destes grãos (BORÉM, 2008).

Devido à segurança alimentar, pesquisas vêm sendo realizadas para garantir a qualidade do café com intuito de obter maiores informações sobre o consumo seguro da bebida. Diante de exigências do consumidor, barreiras sanitárias podem ser criadas com o intuito de garantir e regulamentar a segurança no consumo da bebida do café, como requisito na comercialização dos grãos livres de contaminantes, visando à preservação da saúde dos consumidores.

Embora as aminas biogênicas como histamina, tiramina e putrescina sejam necessárias na realização de funções fisiológicas em humanos, o consumo de alimentos contendo altas quantidades de aminas podem causar efeitos tóxicos. A importância na determinação de aminas é em função de serem substâncias tóxicas, e a sua toxicidade depende da resposta individual e a presença simultânea de outras aminas, o consumo de álcool ou produtos farmacêuticos que podem agir sinergicamente ou como antagonistas. As aminas menos ativas, como a putrescina ou a cadaverina, quando ingeridas em quantidades elevadas, podem conduzir a efeitos tóxicos, mas geralmente ocorre a partir do incremento da toxicidade de outras aminas (MIN et al., 2007).

O objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos dos diferentes procedimentos realizados no processamento do café imaturo na composição das aminas biogênicas, visando à melhoria da qualidade e a segurança na utilização dos grãos do café imaturo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local de realização do experimento

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Lavras (Lavras/MG), e no Setor de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (Portugal).

### 2.2 Amostras de café

Os frutos do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) da cultivar Topázio, (safra 2006/2007) foram colhidos no campus da Universidade Federal de Lavras. As amostras foram provenientes do experimento com o objetivo de avaliar a qualidade de frutos imaturos de café processados por via seca e via úmida, submetidos a diferentes períodos de repouso, com presença e ausência de água (NOBRE, 2009). Foi feita a determinação do grau de maturação da matéria-prima do experimento (café verde imaturo), separando-se os estádios de maturação, em frutos passas (sobre-maduro), cereja (cor característica de pleno amadurecimento), verde (cor verde com grande firmeza mecânica) e verde-cana (qualquer mescla da cor cereja no verde). A porcentagem de descascamento dos frutos verdes foi calculada com base no volume de café imaturo antes do descascamento (volume total) e o volume do café imaturo que ficou sem descascar de acordo com a equação abaixo (NOBRE, 2009).

$$n_d = V_t - V_{sd} / V_t \times 100$$

$n_d$  – rendimento de descascamento (%)

$V_t$  – volume total (L)

$V_{sd}$  – volume do café não descascado (L).

A composição do café proveniente da lavoura apresentou proporções similares dos diferentes estádios de maturação, em todas as colheitas realizadas, contribuindo para a adequada condução do trabalho.

### **2.3 Condução do experimento e procedimentos de amostragem**

Após a limpeza e separação hidráulica, o lote de café obtido da mistura de cereja e verdes, foi realizado o descascamento dos frutos maduros com a pressão do descascador regulada de maneira a permitir, a obtenção de no máximo 10% de frutos cerejas na porção de frutos verdes. A porção de 90% de frutos verdes e 10% de frutos maduros foi dividida em 3 parcelas, constituindo a matéria-prima deste trabalho. A primeira parcela foi usada como controle (A). Outra parte desta mistura foi descascada com pressão regulada, resultando em uma parcela natural (B) e outra de café descascado (E). A terceira parte da mistura foi colocada em duas caixas durante 12 horas. Uma das caixas foi preenchida com água. Após o período de repouso os frutos foram descascados com pressão regulada originando o café verde descascado (G) e o natural (D) em repouso na água, e descascado (F) e natural (G) em repouso sem água (NOBRE, 2009).

A secagem do café imaturo natural foi realizada em terreiros ao sol em camadas finas intercaladas com pequenas leiras de no máximo 2 cm, com revolvimento de até 12 vezes por dia. Ao atingir a meia-seca, a secagem foi conduzida em leiras de 15 cm, revolvidas pelo menos 10 vezes ao dia, até atingir 11% do teor de água. O café verde descascado foi seco em terreiro em camadas de no máximo 2 cm com revolvimento de 16 vezes por dia.

## 2.4 Preparação das amostras

As amostras foram processadas em moinho refrigerado Tecnal modelo analítico TE 631 /2 Brasil, por um período de 2 minutos em uma granulometria fina. Na segunda moagem foi utilizado um moinho de bolas, utilizando nitrogênio líquido por 1 minuto e em seguida as amostras foram congeladas. As amostras foram liofilizadas e passadas em uma peneira de 0,75 mm, pesadas e preparadas para a análise.

## 2.5 Padrões e Reagentes

Foram preparadas soluções aquosas dos padrões de dicloridrato de putrescina (PUT), dicloridrato cadaverina (CAD), dicloridrato de histamina (HIS), cloridrato de tiramina (TYR), tricloridrato de espermidina (SPD), e tetracloridrato de espermina (SPM), serotonina (SER), (Sigma Chemical Co, E.U.A. ) a  $10 \text{ mg mL}^{-1}$ , armazenadas a  $5^\circ \text{ C}$ , e diluídas em soluções de trabalho conforme o necessário. O padrão interno utilizado foi o 1,7-Diaminoheptano (Aldrich, E.U.A.) igualmente a  $10 \text{ mg mL}^{-1}$ , armazenados a  $5^\circ \text{ C}$ . Foi preparada diariamente uma solução cloreto de dansilo em acetona, a  $7,5 \text{ mg mL}^{-1}$  (Sigma), e armazenadas a  $-20^\circ \text{ C}$ , protegida da luz. A solução de L-prolina (Sigma) foi preparada a  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  em água, mantida refrigerada.

## 2.6 Equipamentos

O HPLC consiste em um sistema integrado com duas bombas modelo PU-980, um injetor automático AS-950, um detector de arranjo de diodo (DAD) MD-910 Multiwavelength, e um detector FP-920 fluorimétrico (Jasco, Japão). Os dados foram analisados em um Software Borwin-PDA Controller (JMBS,

França). A coluna utilizada foi de fase reversa Kromasil 100 C<sub>18</sub> (5 µm x 250 mm x 4,6 mm) (Teknokroma, Espanha), operando à temperatura ambiente.

## 2.7 Processos de extração

Para a extração das aminas, utilizou-se o ácido tricloroacético a 5% (TCA), e o bis-2-etilhexilfosfato (BEHPA 0,1M em clorofórmio) da Aldrich. Foi adicionado o padrão interno (1,7 diaminoheptano) a uma quantidade de 2 g de cada amostra de café. Foram realizadas três extrações com 5% TCA em um tubo plástico com tampa de rosca, com um total de 25 mL, em Ultra Turrax, seguida de agitação de cada fração por 10 minutos. Após a separação por meio de centrifugação a 4000 rpm, os extratos foram filtrados e reservados. Uma porção de 2 mL foi submetida a uma extração por par iônico, como procedimento de limpeza, com BEHPA da seguinte forma: o pH foi ajustado para 7,4 em um tubo de ensaio com tampa de rosca e o volume ajustado para 3 mL com o tampão fosfato pH 7,4 (0,2 M). A solução foi extraída com 2 mL de solução de BEHPA no vortex, centrifugada a 4000 rpm e a fase inferior levada para um segundo tubo. A extração foi feita com 2 mL de HCl 0,1 M, com agitador mecânico e centrifugação, tal como descrito acima.

## 2.8 Derivação

Foi realizada em um tubo plástico da seguinte forma: 400 µL do extrato, 1 mL de solução saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (pH 11,0-11,2). O agente de derivação, cloreto de dansilo, foi adicionado com um volume de 1 mL na solução de 7,5 mg mL<sup>-1</sup> em acetona. Depois do agitação rápida da mistura, as amostras foram fechadas e colocadas durante 12 minutos a 60 ° C em um banho de água termostaticado, na ausência de luz. Os tubos foram retirados e colocados em

gelo por 5 minutos. Então, a solução de prolina (100  $\mu$ L) foi adicionada, homogeneizada com um vortex, e descansada por 15 minutos no escuro, à temperatura ambiente. A extração das amins biogênicas derivadas foi realizada com 1,5 mL de tolueno. Após 15 minutos a  $-18^{\circ}$  C, a fase orgânica foi recuperada em um tubo Eppendorf e a solução evaporada sob uma ligeira corrente de nitrogênio ( $\pm 40^{\circ}$  C). O sedimento foi então recuperado com 200  $\mu$ L de mistura acetonitrila/metanol (50:50) (com Vortex), centrifugado a 13.000 rpm por 5 minutos e transferido para frascos apropriados para uso no amostrador automático.

## 2.9 Análises cromatográficas

Nas análises por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) foram utilizados o ácido fosfórico, acetonitrila e metanol (LiChroSolv-grade gradiente) (Merck, Alemanha), e água purificada com um sistema "Seral " (SeralPur Pro 90 NC), e as soluções foram filtradas e desgaseificadas. A eluição foi realizada com um gradiente linear de A - 0,05 M de ácido fosfórico e B - metanol/acetonitrila (1:1) em 1 mL  $\text{min}^{-1}$  com um programa de eluição por gradiente desenvolvido por Hornero-Mendez e Garrido-Fernandez (1994). A detecção foi realizada pelos detectores Diode Array Detector (DAD), no comprimento de onda de 254 nm, e no detector fluorimétrico programado para 252 nm e emissão de 500 nm. Os compostos em estudo foram identificados por comparação cromatográfica com derivado padrão e por coeluição. Os testes de pureza dos picos foram realizados com o Diode Array Detector (DAD).

## **2.10 Quantificação**

A quantificação das amins biogênicas foi realizada pela técnica do padrão interno, através das misturas dos padrões das diferentes amins biogênicas ao processo extrativo descrito no item 2.7 e à derivação em 2.8. Os processos foram realizados em duplicata e os resultados são expressos em  $\text{mg kg}^{-1}$  do café verde liofilizado.

## **2.11 Análises estatísticas**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 [2 processamentos (via seca e via úmida), 3 procedimentos (sem repouso, 12 horas imerso em água e 12 horas amontado)] em 4 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância do teste F e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, através do procedimento GLM do programa de software SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2001).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os diversos tipos de substâncias biologicamente ativas presentes no café estão as aminas bioativas (GLÓRIA, 2005). O tipo e a quantidade de cada amina depende da natureza e da origem do produto, presença de bactérias específicas, disponibilidade de substrato, existência de um ambiente adequado (pH, umidade alta, temperatura e baixos teores salinos), processamento, maturação e o período de armazenamento do produto (SANTOS, 1996).

A denominação das aminas bioativas é em função dos aminoácidos precursores. Os aminoácidos ornitina e arginina são os precursores das poliaminas, sendo a putrescina um composto intermediário obrigatório. Para formar a putrescina, a arginina, está presente em uma quantidade expressiva nos grãos do café imaturo, verificado por Dias (2008), é transformada em ornitina pela ação da enzima arginase e, em seguida, a ornitina sofre a ação da ornitina descarboxilase formando a putrescina (HILLARY; PEGG, 2003).

Uma maior contribuição da putrescina ao teor total de aminas foi relatada na maioria dos estudos sobre café cru (AMORIM et al., 1977; CASAL et al., 2004, 2005; CIRILO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2005). Nos grãos do café imaturo, o nível médio da amina putrescina foi de (76%), seguida pela espermidina (9,6%), espermina (8,9%) e serotonina (2,2%), no total das aminas analisadas, verificando no processamento do café imaturo um maior conteúdo de putrescina.

A putrescina e a cadaverina podem ser convertidas em pirrolidina e piperidina, respectivamente, aminas estas que, juntamente com a espermidina e espermina podem formar nitrosaminas carcinogênicas no trato gastrintestinal por reação com nitritos (SANTOS, 1996). Não foi verificada diferenças nos níveis de putrescina no processamento dos grãos do café imaturo conforme representado no Gráfico 1.

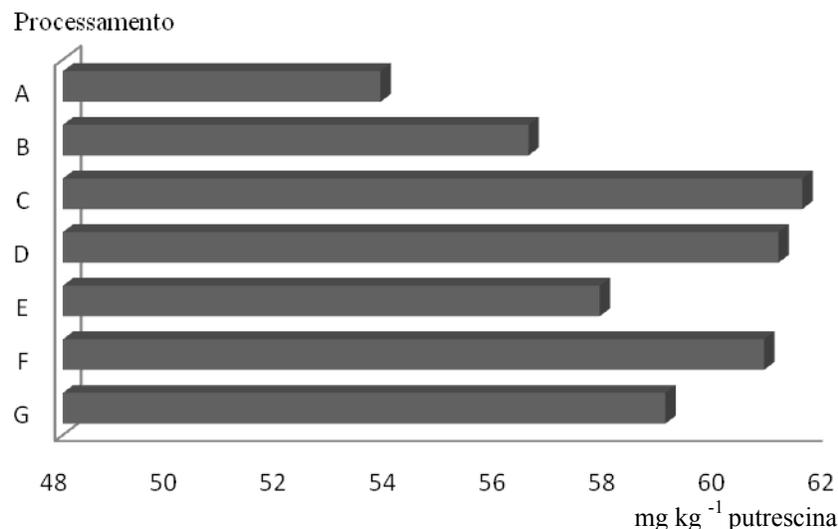


Gráfico 1 Níveis da amina putrescina ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) no café imaturo nos procedimentos (A – controle, B - 0 hora natural, C – 12 horas natural amontoado, D – 12 horas natural imerso em água, E - 0 hora descascado, F – 12 horas descascado amontoado, G – 12 horas descascado imerso em água) realizados nos grãos do café imaturo

As poliaminas participam da floração e no desenvolvimento do fruto, da resposta ao stress e inibem a produção de etileno e a senescência (FLORES; PROTACIO; SIGNS, 1989; GLÓRIA, 2003). As aminas espermidina e espermina estão amplamente distribuídas na natureza, em elevadas concentrações nas células e o seu conteúdo é aumentado nos tecidos com altas taxas de crescimento (GLÓRIA, 2005), regulando a estabilidade e permeabilidade da membrana celular (BARDÓCZ, 1995). As poliaminas atuam ainda como reservas de nitrogênio, aceleram o processo metabólico, participam na regulação da secreção gástrica, na contração e relaxamento do músculo liso, e estimulam os neurônios sensoriais, motores e cardiovasculares (HERNANDEZJOVER et al., 1997).

A espermina e espermidina apresentaram variações significativas em relação ao processamento via seca e via úmida dos frutos do café imaturo, representados no Gráfico 2. A diminuição nos níveis da espermina e espermidina pode ser devida ao processo de descascamento dos frutos imaturos.

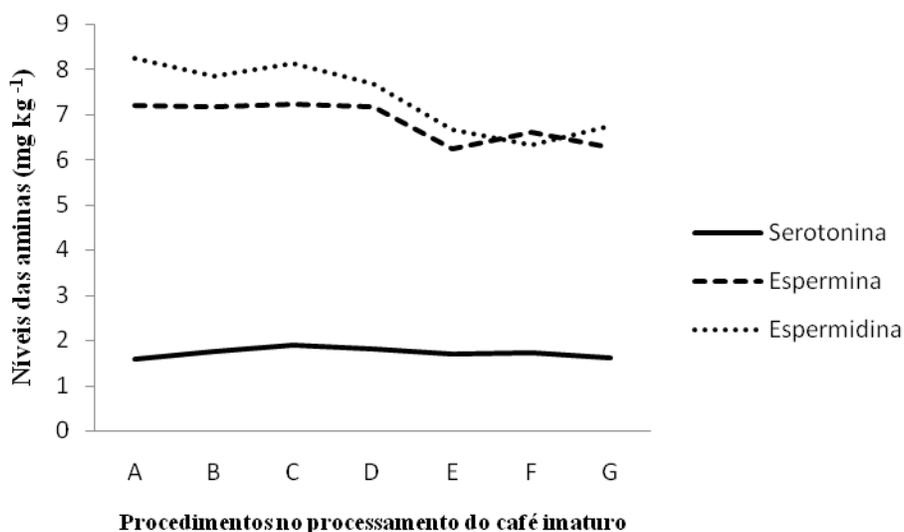


Gráfico 2 Níveis das aminas serotonina, espermina e espermidina ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) nos procedimentos (A – controle, B - 0 hora natural, C – 12 horas natural amontoado, D – 12 horas natural imerso em água, E - 0 hora descascado, F – 12 horas descascado amontoado, G – 12 horas descascado imerso em água) realizados nos grãos do café imaturo

A diamina putrescina e as poliaminas espermina e espermidina, entretanto, podem acelerar o crescimento de tumores. Assim sendo, recomenda-se uma dieta com teores reduzidos destas substâncias para pacientes em tratamento contra o câncer, de forma a diminuir o crescimento e progresso do tumor (BARDÓCZ, 1995; LIMA; GLÓRIA, 1999), sendo a inibição da sua biossíntese um dos mecanismos alvo para a terapia de tratamento do câncer.

Nos grãos do café imaturo analisados por Vasconcelos et al. (2007), os níveis de espermina verificados foram próximos de 18,9 mg kg<sup>-1</sup> e os níveis de espermidina de 15,9 mg kg<sup>-1</sup>. Nos grãos de café arábica, estes valores foram de 9,0 mg kg<sup>-1</sup> para espermina e 5,5 mg kg<sup>-1</sup> para espermidina segundo Casal et al. (2004). Nos grãos do café imaturo analisados foram encontrados níveis médios de 6,8 mg kg<sup>-1</sup> de espermina e de 7,3 mg kg<sup>-1</sup> de espermidina nos diferentes processamentos realizados. Os valores encontrados foram inferiores aos determinados por Vasconcelos et al. (2007) nos grãos imaturos, com os níveis mais próximos dos valores encontrados nos grãos do café arábica analisados por Casal et al. (2004).

As aminas espermina e espermidina apresentaram-se em níveis mais elevados no café natural como mostrado na Tabela 1, podendo ser devido ao maior tempo de processamento deste tipo de café, sendo que a formação das aminas depende da ação de enzimas descarboxilantes, e a temperatura interfere de forma significativa no processo e nas condições de secagem dos frutos.

Tabela 1 Níveis médios de espermina e espermidina (mg kg<sup>-1</sup>) a partir dos diferentes procedimentos realizados no processamento do café imaturo

<b>Processo</b>	<b>ESPERMINA</b>	<b>ESPERMIDINA</b>
Natural	7,18 b	7,89 b
Descascado	6,37 a	6,58 a

Médias seguidas por letras minúsculas iguais dentro da coluna não diferem entre si ( $p > 0,05$ ), pelo teste F

As alterações químicas, bioquímicas e fisiológicas que ocorrem no processamento do café imaturo descascado e natural, em razão da presença ou

ausência da casca dos frutos determinaram que em apenas dois dias após o início do processamento via úmida, ocorre um processo de divisão celular acelerado, enquanto que no processamento via seca, acontece somente cerca de uma semana após o início da secagem. Junto com a germinação, outros processos relacionados ao metabolismo, decorrentes do estresse da secagem acontecem de forma paralela (SELMAR; BYTOF, 2007). Estes processos não ocorrem de forma simultânea, mais contribuem para determinar as diferenças nos níveis das aminas na constituição dos frutos imaturos.

O consumo de alimentos que apresentam concentrações elevadas de aminas biogênicas está relacionado com determinados tipos de reações alérgicas. Os níveis toxicológicos das aminas não são facilmente estabelecidos, pois dependem das características individuais de cada amina, bem como sobre as interações entre as aminas com o alimento.

A dose tóxica da tiramina é de 1 a 8 mg kg<sup>-1</sup> de alimento. Entretanto, a ingestão de alimentos contendo 6 mg kg<sup>-1</sup> de tiramina pode causar enxaqueca e de 10 a 25 mg kg<sup>-1</sup> pode provocar crise hipertensiva e hemorragia intracraniana nos indivíduos em tratamento com inibidores da MAO (Monoaminoxidase) (HALÁSZ et al., 1994; LIMA; GLÓRIA, 1999). Foram detectadas quantidades de 0,20 mg kg<sup>-1</sup> de tiramina por Casal et al. (2004), e os níveis encontrados neste trabalho foram em torno de 0,38 mg kg<sup>-1</sup> no café imaturo, portanto não correspondendo riscos no consumo do café.

Os efeitos toxicológicos da histamina dependem da concentração ingerida, atividade da aminoxidase e fisiologia intestinal individual. Foi sugerido um limite para histamina de 0,10 mg kg<sup>-1</sup> de alimento em geral e de 2 mg L<sup>-1</sup> de bebida alcoólica (HALÁSZ et al., 1994). Os níveis de histamina encontrados no café não representam uma preocupação em termos de intoxicação. No entanto, o nível mais elevado detectado em um estudo foi no grão de café fermentado correspondendo aproximadamente 10% do limite sugerido para

toxicidade da histamina (HALÁSZ et al., 1994; SANTOS, 1996). A intoxicação alimentar mais frequente é causada por histamina, onde os sintomas podem ser cutâneos, gastrintestinais, hemodinâmicos e neurológicos (GLÓRIA, 2003).

A histamina origina-se da histidina e a tiramina da tirosina. O aminoácido histidina apresentou maior quantidade no processamento via seca em comparação com o processamento via úmida do café imaturo (DIAS, 2008). A histamina apresentou um aumento significativo, quando realizado o procedimento repouso dos grãos amontoados no processamento do café imaturo natural, conforme verificado no Gráfico 3.

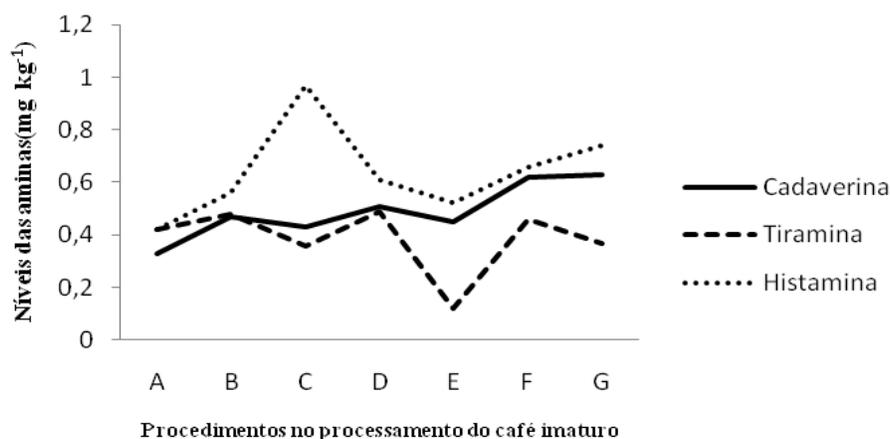


Gráfico 3 Níveis das aminas cadaverina, tiramina e histamina ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) nos procedimentos (A – controle, B - 0 hora natural, C – 12 horas natural amontoadado, D – 12 horas natural imerso em água, E - 0 hora descascado, F – 12 horas descascado amontoadado, G – 12 horas descascado imerso em água) realizados nos grãos do café imaturo

A concentração média de histamina, em torno de  $0,64 \text{ mg kg}^{-1}$  no café imaturo analisado, encontra-se abaixo do limite estabelecido para alimentos em geral, conforme relatado por Halász et al. (1994). Os níveis da cadaverina e histamina apresentaram-se alterados, após a realização do processamento do café

imaturado natural e descascado com o repouso dos grãos. Quando comparado os processos, a histamina apresentou quantidades superiores nos grãos do café imaturado natural em relação ao café imaturado descascado.

As variações ocasionadas no repouso sem água podem ter sido ocasionadas por vários fatores que podem influenciar a formação das aminas, como a alteração do pH do meio, a temperatura, a tensão de oxigênio, a presença de coenzimas e vitaminas, a concentração dos aminoácidos livres e de carboidratos fermentáveis (VALE; GLÓRIA, 1997). Os microrganismos com atividade descarboxilante sobre os aminoácidos podem fazer parte da microbiota associada ao produto, ou ainda por contaminação antes, durante ou depois do processamento (BRANDÃO, 1996). Na Tabela 2, verifica-se que o repouso sem água influenciou no aumento dos níveis da histamina no café imaturado natural.

Tabela 2 Níveis de histamina ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) a partir dos diferentes procedimentos realizados no processamento do café imaturado

Processo	Procedimentos		
	Sem repouso	Repouso c/ água	Repouso s/água
Natural	0,56 Aa	0,61 Aa	0,97 Bb
Descascado	0,52 Aa	0,74 Aa	0,66 Aa

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

As condições favoráveis para o crescimento bacteriano, síntese e a ação das enzimas descarboxilantes, dependem de forma significativa da temperatura no processo de formação das aminas (SHALABY, 1996). Alguns estudos demonstraram que a temperatura é um fator crítico na formação de histamina (GUIZANI et al., 2005; RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001; SILVEIRA et al.,

2001). Em temperaturas inferiores a 30 °C as descarboxilases são mais ativas, a 40 °C são inativadas e na faixa de 0 a 10 °C a atividade dependerá da microbiota presente. Foi verificado que a produção de histamina é mais lenta a 10°C e praticamente cessa a 5°C (HALÁSZ et al., 1994). Portanto, os frutos imaturos quando amontoados favoreceram o aumento da temperatura permitindo a ação dos microrganismos na formação desta amina, sendo que o período de processamento e secagem do café natural é maior que no descascado, devido principalmente a presença da casca dos frutos, contribuindo para que sofra maiores alterações na formação de determinados compostos.

A cadaverina apresentou teores médios de 0,49 mg kg<sup>-1</sup> nos grãos do café imaturo analisado no presente trabalho, sendo que Vasconcelos et al. (2007) não detectou esta amina nos grãos imaturos, e os níveis encontrados foram superiores quando comparados com a quantidade de 0,20 mg kg<sup>-1</sup> nos grãos de café arábica analisados por Casal et al. (2004). Os níveis da cadaverina foram menores na realização do procedimento sem repouso no café imaturo descascado. Quando os grãos de café permaneceram em repouso, os teores foram superiores no café descascado em comparação com o natural, verificados na Tabela 3.

Tabela 3 Níveis de cadaverina (mg kg<sup>-1</sup>) a partir dos diferentes procedimentos realizados no processamento do café imaturo

Processo	Procedimentos		
	Sem repouso	Repouso c/ água	Repouso s/água
Natural	0,47 Aa	0,51 Aa	0,43 Aa
Descascado	0,45 Aa	0,63 Bb	0,62 Bb

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

Devido à ação bacteriana, o aminoácido lisina pode se transformar em cadaverina, que geralmente é encontrada em produtos em fase de decomposição ou putrefação (LIMA; GLÓRIA, 1999). O procedimento repouso dos grãos interferiu na formação da cadaverina, indicando que após o período de 12 horas do descascamento do café imaturo, a ausência da casca dos frutos influenciou ou até mesmo acelerou a formação desta amina podendo ser devido ao início de um processo de degeneração dos grãos decorrente do estresse gerado pelo amontoamento com água e sem água através dos diversos processos relacionados ao metabolismo dos frutos. Estes processos não ocorrem de forma simultânea, mais acontecem de forma paralela com a germinação e a secagem dos grãos de café (SELMAR; BYTOF, 2007), contribuindo para que ocorram as diferenças nos níveis das aminas.

Observou-se, no presente trabalho, que as condições específicas de cada procedimento realizado na pós-colheita influenciaram diferentemente no metabolismo dos frutos do cafeeiro, resultando em alterações químicas e bioquímicas e fisiológicas que determinaram as diferenças na composição das aminas espermina, espermidina, histamina e cadaverina durante o processamento dos grãos do café imaturo.

#### **4 CONCLUSÕES**

Os níveis da histamina foram superiores quando os grãos do café imaturo natural foram processados em repouso sem água, e na comparação dos processos apresentou menor quantidade no café imaturo descascado.

Os níveis da amina cadaverina foram menores na realização do procedimento sem repouso no café descascado. O café natural apresentou quantidades inferiores em comparação ao descascado na realização dos procedimentos repouso sem água e com água.

As aminas espermina e espermidina apresentaram-se em menores quantidades nos grãos do café imaturo descascado.

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, H. V. et al. Polyamines in green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 25, n. 4, p. 957-958, Feb. 1977.
- BANKS, M.; McFADDEN, C.; ATKINSON, C. **The world encyclopaedia of coffee**. London: Anness, 1999. 256 p.
- BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 6, n. 10, p. 341-346, Oct. 1995.
- BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008. v. 1, 631 p.
- BRANDÃO, A. L. G. **Potencial de formação de amins biogênicas em peixes de piscicultura**. 1996. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.
- CASAL, S. et al. Free and conjugated biogenic amines in green and roasted coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 20, p. 6188-6192, Sept. 2004.
- \_\_\_\_\_. Roast effects on coffee free and conjugated polyamines. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, Madrid, v. 4, n. 5, p. 1063-1068, Sept./Oct. 2005.
- CIRILO, M. P. G. et al. Profiles and levels of bioactive amines in green and roasted coffee. **Food Chemistry**, London, v. 82, n. 3, p. 397-402, Aug. 2003.
- CLARKE, R. J. Grading, storage, pre-treatments and blending. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Technology coffee**. London: Elsevier Applied Science, 1987. v. 2, p. 35-58.
- DIAS, E. C. **Perfil de aminoácidos nos frutos verdes do cafeeiro processados por via seca e via úmida**. 2008. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- ELIASSEN, K. et al. Dietary polyamines. **Food Chemistry**, London, v. 78, n. 3, p. 273-280, Aug. 2002.

FLORES, H. E.; PROTACIO, C. M.; SIGNS, M. Primary and secondary metabolism of polyamines in plants. **Recent Advances in Phytochemistry**, New York, v. 23, n. 5, p. 329-393, 1989.

FRANÇA, A. S. et al. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 1/2, p. 84-89, Feb. 2005.

GLÓRIA, M. B. A. Amines. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L.; FINGLAS, P. M. (Ed.). **Encyclopedia of food science and nutrition**. London: Academic, 2003. p. 173-181.

\_\_\_\_\_. Bioactive amines. In: HUI, H.; SHERKAT, F. (Ed.). **Handbook of food science, technology and engineering**. London: CRC, 2005. p. 32-36.

GUIZANI, N. et al. The effect of storage temperature on histamine production and the freshness of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). **Food Research International**, Barking, v. 38, n. 2, p. 215-222, Mar. 2005.

HALÁSZ, A. et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 5, n. 2, p. 42-49, Feb. 1994.

HERNANDEZ-JOVER, T. et al. Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 6, p. 2098-2102, June 1997.

HILLARY, A. R.; PEGG, A. E. Decarboxylases involved in polyamines biosynthesis and their inactivation by nitric oxide. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1647, n. 1/2, p. 161-166, Apr. 2003.

HORNERO-MENDEZ, D.; GARRIDO-FERNANDES, A. Biogenic amines in table olives: analysis by high-performance liquid chromatography. **Analyst**, London, n. 119, p. 2037-2041, 1994.

LIMA, A. S.; GLÓRIA, M. B. A. Aminas bioativas em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 70-79, 1999.

MIN, J. S. et al. Control of microorganisms and reduction of biogenic amines in chicken breast and thigh by irradiation and organic acids. **Poultry Science**, Champaign, v. 86, n. 9, p. 2034-2041, June 2007.

NOBRE, G. W. **Processamento e qualidade dos frutos verdes de café arábica**. 2009. 85 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

OLIVEIRA, S. D. et al. The effect of roasting on the presence of bioactive amines in coffees of different qualities. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 1/2, p. 287-291, Feb. 2005.

RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake (*Merluccius merluccius*, L.) stored in ice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 7, p. 1030-1032, July 2001.

SANTOS, M. H. S. Biogenic amines: their importance in foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 29, n. 2, p. 213-231, Apr. 1996.

SELMAR, D.; BYTOF, G. Green coffee is ALIVE!: a review on the metabolic processes taking place in coffee beans during processing and their implication for modern coffee research. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 21., 2007, Paris. **Proceedings...** Paris: ASIC, 2007. 1 CD-ROM.

SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research International**, Barking, v. 29, n. 7, p. 675-690, Mar. 1996.

SILVEIRA, N. F. A. et al. Bactérias produtoras de histamina e potencial para sua formação em peixes de origem fluvial ou lacustre. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 4, n. 54, p. 19-25, 2001.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **The SAS system for windows**: release 8.02. Cary, 2001. 842 p.

VALE, S. R.; GLÓRIA, M. B. A. Determination of biogenic amines in cheese. **Journal of the Association of Official and Analytical Chemists International**, Arlington, v. 80, n. 17, p. 1006-1012, Jan. 1997.

VASCONCELOS, A. L. S. et al. A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 1, p. 26-32, Mar. 2007.

**ANEXOS**

Tabela 1A Resumo da análise de variância dos níveis de acrilamida no processamento e na torração média e escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	122
Tabela 2A Resumo da análise de variância dos níveis de acrilamida no processamento e na torração média e escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	122
Tabela 3A Resumo da análise de variância dos níveis de trigonelina no processamento e na torração média dos grãos imaturos do cafeeiro.....	123
Tabela 4A Resumo da análise de variância dos níveis da trigonelina no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	123
Tabela 5A Resumo da análise de variância dos níveis dos ácidos clorogênicos no processamento e na torração média dos grãos imaturos do cafeeiro.....	124
Tabela 6A Resumo da análise de variância dos níveis dos ácidos clorogênicos no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	124
Tabela 7A Resumo da análise de variância dos níveis do furfural no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	125
Tabela 8A Resumo da análise de variância dos níveis do furfural no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	125
Tabela 9A Resumo da análise de variância dos níveis da cafeína no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	126

Tabela 10A	Resumo da análise de variância dos níveis da cafeína no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	126
Tabela 11A	Resumo da análise de variância do nível da putrescina no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	127
Tabela 12A	Resumo da análise de variância do nível da cadaverina no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	127
Tabela 13A	Resumo da análise de variância dos níveis da histamina no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	128
Tabela 14A	Resumo da análise de variância do nível da serotonina no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	128
Tabela 15A	Resumo da análise de variância dos níveis da tiramina no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	129
Tabela 16A	Resumo da análise de variância do nível da espermina no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	129
Tabela 17A	Resumo da análise de variância do nível da espermidina no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro.....	130

## ANEXOS

Tabela 1A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de acrilamida no processamento e na torração média e escura dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	22,71	0,0003
Repouso	2	0,28	0,7633
Proc. X Rep.	2	2,55	0,1138
Adic. X Fatorial	1	0,29	0,6071
Processo (s/rep)	1	10,89	0,0053
Processo (s/rep)	1	16,01	0,0013
Processo (s/rep)	1	0,91	0,3567
Repouso (seco)	2	1,99	0,1732
Repouso(úmido)	2	0,83	0,4558
<b>TOTAL</b>	<b>13</b>		<b>CV = 17,19</b>

Tabela 2A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de acrilamida no processamento e na torração média e escura dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	3,66	0,0765
Repouso	2	4,51	0,0308
Proc. X Rep.	2	3,50	0,0583
Adic. X Fatorial	1	1,95	0,1839
Processo (s/rep)	1	2,50	0,1364
Processo (s/rep)	1	0,92	0,3533
Processo (s/rep)	1	7,25	0,0175
Repouso (seco)	2	0,08	0,9275
Repouso(úmido)	2	7,94	0,0050
<b>TOTAL</b>	<b>13</b>		<b>CV = 18,17</b>

Tabela 3A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de trigonelina no processamento e na torração média dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	0,23	0,641
Repouso	2	3,26	0,069
Proc. X Rep.	2	5,14	0,021
Adic. X Fatorial	1	3,84	0,070
Processo (s/rep)	1	6,66	0,021
Processo (s/rep)	1	0,04	0,847
Processo (s/rep)	1	3,81	0,071
Repouso (seco)	2	3,53	0,057
Repouso(úmido)	2	4,86	0,024
TOTAL	13		CV = 17,6

Tabela 4A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de trigonelina no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	3,55	0,080
Repouso	2	0,87	0,439
Proc. X Rep.	2	4,13	0,038
Adic. X Fatorial	1	0,88	0,363
Processo (s/rep)	1	6,57	0,022
Processo (s/rep)	1	3,73	0,074
Processo (s/rep)	1	1,52	0,238
Repouso (seco)	2	1,68	0,222
Repouso(úmido)	2	3,33	0,065
TOTAL	13		CV = 18,8

Tabela 5A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis dos ácidos clorogênicos no processamento e na torração média dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	0,34	0,569
Repouso	2	8,76	0,034
Proc. X Rep.	2	11,74	0,001
Adic. X Fatorial	1	0,95	0,345
Processo (s/rep)	1	15,61	0,001
Processo (s/rep)	1	0,01	0,935
Processo (s/rep)	1	8,20	0,012
Repouso (seco)	2	8,24	0,004
Repouso(úmido)	2	12,26	0,008
TOTAL	13		CV = 14,5

Tabela 6A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis dos ácidos clorogênicos no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	1,31	0,271
Repouso	2	0,11	0,895
Proc. X Rep.	2	2,41	0,126
Adic. X Fatorial	1	0,11	0,742
Processo (s/rep)	1	1,13	0,304
Processo (s/rep)	1	3,88	0,069
Processo (s/rep)	1	1,11	0,310
Repouso (seco)	2	1,32	0,299
Repouso(úmido)	2	1,20	0,330
TOTAL	13		CV = 18,8

Tabela 7A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de furfural no processamento e na torração média dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	5,28	0,037
Repouso	2	3,64	0,053
Proc. X Rep.	2	3,49	0,059
Adic. X Fatorial	1	0,23	0,636
Processo (s/rep)	1	12,10	0,003
Processo (s/rep)	1	0,02	0,897
Processo (s/rep)	1	0,14	0,717
Repouso (seco)	2	0,07	0,934
Repouso(úmido)	2	7,05	0,007
TOTAL	13		CV = 67,3

Tabela 8A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de furfural no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	0,91	0,357
Repouso	2	0,15	0,858
Proc. X Rep.	2	0,60	0,562
Adic. X Fatorial	1	0,62	0,445
Processo (s/rep)	1	0,25	0,525
Processo (s/rep)	1	1,82	0,198
Processo (s/rep)	1	0,04	0,845
Repouso (seco)	2	0,55	0,581
Repouso(úmido)	2	0,19	0,829
TOTAL	13		CV = 126,9

Tabela 9A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de cafeína no processamento e na torração média dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	0,83	0,377
Repouso	2	0,73	0,497
Proc. X Rep.	2	1,44	0,270
Adic. X Fatorial	1	4,44	0,053
Processo (s/rep)	1	0,48	0,499
Processo (s/rep)	1	2,67	0,124
Processo (s/rep)	1	0,56	0,467
Repouso (seco)	2	1,41	0,275
Repouso(úmido)	2	0,76	0,486
TOTAL	13		CV = 3,97

Tabela 10A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de cafeína no processamento e na torração escura dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	3,05	0,102
Repouso	2	0,81	0,464
Proc. X Rep.	2	0,05	0,951
Adic. X Fatorial	1	0,00	0,960
Processo (s/rep)	1	1,58	0,229
Processo (s/rep)	1	0,68	0,422
Processo (s/rep)	1	0,89	0,362
Repouso (seco)	2	0,42	0,663
Repouso(úmido)	2	0,44	0,6639
TOTAL	13		CV = 5,98

Tabela 11A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de putrescina no processamento dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	0,07	0,793
Repouso	2	1,57	0,231
Proc. X Rep.	2	0,28	0,758
Adic. X Fatorial	1	5,22	0,032
Processo (s/rep)	1	0,17	0,687
Processo (s/rep)	1	0,41	0,526
Processo (s/rep)	1	0,05	0,825
Repouso (seco)	2	1,43	0,260
Repouso(úmido)	2	0,41	0,666
TOTAL	13		CV = 7,82

Tabela 12A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis da cadaverina no processamento dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	10,29	0,004
Repouso	2	4,34	0,026
Proc. X Rep.	2	4,01	0,033
Adic. X Fatorial	1	21,42	0,001
Processo (s/rep)	1	0,12	0,729
Processo (s/rep)	1	5,50	0,028
Processo (s/rep)	1	12,68	0,001
Repouso (seco)	2	1,03	0,374
Repouso(úmido)	2	7,32	0,004
TOTAL	13		CV = 15,15

Tabela 13A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis da histamina no processamento dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	1,02	0,324
Repouso	2	4,76	0,019
Proc. X Rep.	2	3,16	0,063
Adic. X Fatorial	1	6,89	0,015
Processo (s/rep)	1	0,07	0,787
Processo (s/rep)	1	1,04	0,318
Processo (s/rep)	1	6,22	0,021
Repouso (seco)	2	6,46	0,006
Repouso(úmido)	2	1,46	0,254
TOTAL	13		CV = 27,5

Tabela 14A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis da serotonina no processamento dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	4,26	0,051
Repouso	2	1,03	0,372
Proc. X Rep.	2	0,54	0,592
Adic. X Fatorial	1	4,23	0,052
Processo (s/rep)	1	0,13	0,726
Processo (s/rep)	1	2,93	0,101
Processo (s/rep)	1	2,98	0,145
Repouso (seco)	2	0,94	0,408
Repouso(úmido)	2	0,64	0,539
TOTAL	13		CV = 8,90

Tabela 15A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis da tiramina no processamento dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	0,73	0,403
Repouso	2	0,30	0,746
Proc. X Rep.	2	0,78	0,470
Adic. X Fatorial	1	0,04	0,839
Processo (s/rep)	1	1,92	0,180
Processo (s/rep)	1	0,22	0,643
Processo (s/rep)	1	0,14	0,707
Repouso (seco)	2	0,16	0,853
Repouso(úmido)	2	0,92	0,414
TOTAL	13		CV = 96,0

Tabela 16A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis da espermina no processamento dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	10,00	0,047
Repouso	2	0,26	0,771
Proc. X Rep.	2	0,12	0,884
Adic. X Fatorial	1	1,59	0,221
Processo (s/rep)	1	4,29	0,050
Processo (s/rep)	1	3,93	0,060
Processo (s/rep)	1	2,02	0,169
Repouso (seco)	2	0,01	0,986
Repouso(úmido)	2	0,37	0,693
TOTAL	13		CV = 9,14

Tabela 17A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis da espermidina no processamento dos grãos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F	Pr > F
Processo	1	11,41	0,028
Repouso	2	0,01	0,991
Proc. X Rep.	2	0,47	0,631
Adic. X Fatorial	1	3,99	0,059
Processo (s/rep)	1	3,16	0,089
Processo (s/rep)	1	1,87	0,185
Processo (s/rep)	1	7,32	0,013
Repouso (seco)	2	0,24	0,790
Repouso(úmido)	2	0,24	0,788
TOTAL	13		CV = 12,8