



SHEILA ANDRADE ABRAHÃO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E INFLUÊNCIA
DA BEBIDA DO CAFÉ NA SÍNDROME
METABÓLICA E ESTRESSE OXIDATIVO EM
RATOS ZUCKER DIABÉTICOS**

LAVRAS - MG

2010

SHEILA ANDRADE ABRAHÃO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E INFLUÊNCIA DA BEBIDA DO
CAFÉ NA SÍNDROME METABÓLICA E ESTRESSE OXIDATIVO EM
RATOS ZUCKER DIABÉTICOS**

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

Profª. Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira

Co-orientador

Prof. Dr. Raimundo Vicente de Sousa

LAVRAS - MG

2010

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

Abrahão, Sheila Andrade.

Caracterização química e influência da bebida do café na síndrome metabólica e estresse oxidativo em ratos Zucker diabéticos / Sheila Andrade Abrahão. – Lavras : UFLA, 2010.

176 p. : il.

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

Orientador: Rosemary G. F. Alvarenga Pereira.

Bibliografia.

1. *Coffea arabica*. 2. Antioxidante. 3. Diabetes mellitus tipo II. 4. Torração. 5. Peroxidação lipídica. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 663.93

SHEILA ANDRADE ABRAHÃO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E INFLUÊNCIA DA BEBIDA DO
CAFÉ NA SÍNDROME METABÓLICA E ESTRESSE OXIDATIVO EM
RATOS ZUCKER DIABÉTICOS**

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 09 de julho de 2010

Prof. Dr. Raimundo Vicente de Sousa DMV/UFLA

Prof. Dr. Michel Cardoso de Angelis Pereira DCA/UFLA

Prof. Dra. Laura Cristina Jardim Pôrto DCA/UFLA

Dr. Marcelo Ribeiro Malta EPAMIG

Profª. Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira

Orientadora

Prof. Dr. Raimundo Vicente de Sousa

Co-orientador

LAVRAS - MG

2010

A Deus.

OFEREÇO.

Aos meus pais, Edinaldo e Marise.

Ao meu irmão, Adriano.

Ao Filipe.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realização do curso.

À professora Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira, pela oportunidade de me desenvolver profissionalmente, por sua valiosa orientação em todas as etapas desse trabalho, pela amizade, confiança e estímulo sempre demonstrados.

A Universidade de Purdue, em especial ao professor Dr. John Burgess pela oportunidade única e ensinamentos tão valiosos.

À EPAMIG, em especial ao pesquisador Marcelo Malta, pela realização das análises de compostos não voláteis nos cafés.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Às eternas companheiras de pós-graduação e, principalmente, amigas, Marisa e Suzana, pelo companheirismo, diversão e apoio.

A Adriene, pela essencial colaboração, amizade e por tornar a pós graduação muito mais divertida e prazerosa.

Ao Jack Robson Silva, pela concessão das amostras.

A todos os amigos do Polo de Tecnologia e Qualidade do café em especial Mirian, Vanderley, Edson, Katiane e Ellen.

A Tina (Departamento de Ciência dos Alimentos) e ao Willian (Departamento de Medicina Veterinária) por toda atenção, simpatia, apoio e dedicação.

Ao professor Raimundo, meu co-orientador, pela orientação, ensinamentos e amizade durante o curso de pós-graduação.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram de forma positiva para a realização deste trabalho, meu profundo agradecimento.

RESUMO

Neste estudo objetivou-se avaliar a atividade antioxidante do café bebida mole, em três diferentes graus de torração, *in vitro* e *in vivo* e a atuação dessa bebida em ratos Zucker diabéticos portadores de síndrome metabólica. Foram determinados nos cafés os teores de extrato aquoso, cinzas, sólidos solúveis, acidez titulável, pH, açúcares totais e redutores, extrato etéreo, proteína, umidade, fibra bruta, teor de minerais, compostos fenólicos, cafeína, trigonelina e ácido clorogênico. Além desses parâmetros, foi realizada a determinação qualitativa dos principais compostos fenólicos presentes no café e análise microbiológica dos grãos. A avaliação *in vitro* da atividade antioxidante foi verificada por meio dos métodos de seqüestro de radicais livres, atividade quelante de metais e capacidade antioxidante equivalente ao trolox. Foram realizados ensaios com células de neuroblastoma para análise da viabilidade celular. Foram utilizados para o ensaio *in vivo* ratos Zucker diabéticos portadores de síndrome metabólica e ratos Zucker controle. Os animais receberam doses diárias das bebidas de café por gavagem por 30 dias. Após o tratamento, foram avaliados os parâmetros sanguíneos glicose, triacilgliceróis, colesterol total e frações (HDL-c, LDL-c e VLDL-c), creatinina, ácido úrico, aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), lipídeos fecais, peso dos rins, peso do fígado, volume urinário e consumo de ração e água, além da avaliação da peroxidação lipídica. A bebida do café, independentemente do processo de torração, apresentou atividade quelante de metais e atividade antioxidante *in vitro*. O ácido cafêico e o ácido clorogênico mostraram um efeito positivo sobre a viabilidade celular. O café não interferiu no ganho de peso, consumo alimentar e de água e excreção de lipídios em ratos Zucker obesos. Colaborando na modulação da síndrome metabólica e do diabetes mellitus tipo II, o café bebida mole auxiliou na redução da glicemia, colesterol total e triacilgliceróis. A bebida do café apresentou importante efeito hepatoprotetor e renal. Os compostos presentes no extrato diminuíram a lipoperoxidação hepática e renal. Os resultados demonstram que o tratamento com café torrado bebida mole, em razão da sua potencial atividade antioxidante, efeito hipoglicemiante e hipolipidemiante, é eficaz na proteção dos animais com síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo II.

Palavras-chave: Café. Torração. Antioxidantes. Diabetes. Síndrome metabólica.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antioxidant activity of coffee soft drink in three different degrees of roasting, *in vitro* and *in vivo* and the effect of that drink in Zucker diabetic rats with metabolic syndrome. In all experiments, the beverage was prepared under the same methodology. Were determined the contents of the aqueous extract, ash, soluble solids, acidity, pH, total and reducing sugars, fat, protein, moisture, crude fiber, mineral content, phenolic compounds, caffeine, trigonelline and chlorogenic acid. Besides these parameters were determined the major phenolic compounds present in coffee and microbiological analysis of the grains. *In vitro* antioxidant activity was measured by the methods of DPPH radical scavenging, metal chelating activity and the trolox equivalent antioxidant capacity. Cell viability was examined by MTT assay. Were used to *in vivo* tests the diabetic Zucker rat with metabolic syndrome and control Zucker rats. The animals received daily doses of coffee drinks by gavage for 30 days. After treatment, were evaluated for glucose, triglycerides, total cholesterol and fractions (HDL-c, LDL-c and VLDL-c), creatinine, uric acid, aspartate aminotransferase (AST), alanine amino transferase (ALT), lipids fecal, weight of the kidneys, liver weight, urine volume and consumption of food and water, besides the evaluation of lipid peroxidation. The coffee beverage, regardless of the roasting process, showed activity metal chelator and antioxidant activity. The caffeic acid and chlorogenic acid showed a positive effect on cell viability. The coffee does not affect the weight gain, food consumption and water and excretion of lipids in obese Zucker rats. Collaborate in modulating the metabolic syndrome and diabetes mellitus type II coffee soft drink helped in reducing serum glucose, total cholesterol and triglycerides. The coffee beverage showed significant hepatoprotective effect. The compounds in the extract decreased the lipidperoxidation on liver and kidney. The results demonstrate that treatment with roasted coffee soft drink because of its potential antioxidant activity, hypoglycemic and hypolipidemic effect is effective in protecting with metabolic syndrome and diabetes mellitus type II.

Keywords: Coffee. Roasting. Antioxidant. Diabetes. Metabolic syndrome.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Padrões de bebidas do café segundo classificação oficial pela prova de xícara.....	21
Tabela 2	Análise da tonalidade dos grãos de café torrados em diferentes graus e moído, de acordo com os parâmetros da escala L* a* b*.	72
Tabela 3	Teores médios de sólidos solúveis ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e extrato aquoso em bebidas de cafés preparadas com grãos verdes e torrados.....	73
Tabela 4	Composição físico-química de grãos de café torrado em diferentes graus e moído ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$).....	74
Tabela 5	Composição físico-química de grãos de café torrado em diferentes graus e moído ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$).....	77
Tabela 6	Teores médios de minerais em amostras de café antes e após três diferentes pontos de torração ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$).....	79
Tabela 7	Teores médios de minerais em amostras de café antes e após três diferentes pontos de torração ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$).....	79
Tabela 8	Conteúdo de compostos fenólicos (g eq. Ac. Gálico / 100g) de quatro tipos de bebida do café.....	81
Tabela 9	Teores médios de trigonelina ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), ácido clorogênico ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e cafeína ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) em extratos de cafés antes e após três graus de torração.....	85
Tabela 10	Análise de coliformes totais em grãos de cafés antes e após três graus de torração.....	91
Tabela 11	Análise de coliformes fecais em grãos de cafés antes e após três graus de torração.....	91

Tabela 12	Análise da atividade sequestrante de radicais DPPH (%) em extratos obtidos de grãos café antes e após três graus de torração, em quatro concentrações.....	91
Tabela 13	Análise da atividade quelante de íons Fe ²⁺ (%) em extratos obtidos de grãos café antes e após três graus de torração, em quatro concentrações.....	96
Tabela 14	Análise da capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) em extratos obtidos de grãos café antes e após três graus de torração (porcentagem de inibição).....	100
Tabela 15	Teste de ordenação realizado com amostras de café submetidas a três diferentes graus de torração com dez provadores treinados.....	103
Tabela 16	Análise do ganho de peso (g) nos quatro grupos estudados durante os 30 dias de experimento.....	106
Tabela 17	Consumo de ração (g/dia) de ratos Zucker dos grupos controle e tratados com bebida do café por 30 dias.....	107
Tabela 18	Consumo diário de água (mL/dia) de ratos Zucker dos grupos controle e tratados com bebida do café por 30 dias.....	108
Tabela 19	Volume diário de urina (mL) de ratos Zucker dos grupos controle e tratados com bebida do café por 30 dias.....	109
Tabela 20	Índice de peroxidação lipídica (TBARS) em fígados e rins de ratos.....	132
Tabela 21	Análise de lipídios fecais nos quatro grupos estudados ao final dos 30 dias de experimento.....	135

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Evolução do consumo interno de café no Brasil.....	20
Figura 2	Cromatograma da solução padrão de trigonelina, ácido clorogênico e cafeína.....	83
Figura 3	Teores médios de trigonelina ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$), ácido clorogênico ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) e cafeína ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) em extratos de cafés antes e após três graus de torração.....	85
Figura 4	Análise qualitativa dos principais compostos fenólicos presentes em extratos de cafés antes e após três graus de torração.....	88
Figura 5	Porcentagem de atividade quelante de íons Fe^{2+} pelas amostras (extratos de cafés verdes e submetidos à torração clara, média e escura) em quatro diferentes concentrações.....	97
Figura 6	Efeito do extrato de café, em amostras submetidas a três graus de torração, na absorção do radical ABTS^+	99
Figura 7	Efeito dos compostos fenólicos do café, na concentração de $50 \mu\text{M}$, na indução da morte celular por AGE.....	101
Figura 8	Peso em gramas aferido semanalmente, durante 30 dias, nos animais dos grupos diabético tratado, normal diabético, controle diabético e controle normal.....	105
Figura 9	Peso (g) dos fígados inteiros dos animais pertencentes aos quatro diferentes grupos estudados.....	112
Figura 10	Peso (g) dos rins inteiros dos animais pertencentes aos quatro diferentes grupos estudados.....	113

Figura 11	Glicemia média (mg/dL) dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferida semanalmente por 30 dias.....	116
Figura 12	Níveis médios de triglicérides (mg/dL) dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias.....	118
Figura 13	Níveis médios de colesterol (mg/dL) dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias.....	119
Figura 14	Níveis médios de LDL-c, HDL-c e VLDL-c no sangue de ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café por 30 dias.....	121
Figura 15	Atividade das enzimas TGO e TGP em ratos Zucker controle e tratados com a bebida do café por 30 dias.....	123
Figura 16	Níveis médios de uréia (mg/dL) na urina dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias.....	125
Figura 17	Níveis médios de uréia (mg/dL) no sangue dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café por 30 dias.....	125
Figura 18	Níveis médios de creatinina (mg/dL) na urina dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias.....	128
Figura 19	Níveis médios de creatinina (mg/dL) e ácido úrico (mg/dL) no sangue dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café por 30 dias.....	129

Figura 20 Níveis médios de glicose (mg/dL) na urina dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias..... 130

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1	Importância econômica e qualidade do café.....	19
2.2	Classificação do café.....	21
2.3	Composição química.....	22
2.4	Torração e alterações do café.....	26
2.5	Moagem.....	29
2.6	Ratos Zucker diabéticos.....	30
2.7	Síndrome metabólica.....	31
2.8	Café e síndrome metabólica.....	39
2.9	Diabetes mellitus	43
2.10	Café e diabetes mellitus.....	45
2.11	Radicais livres e atividade antioxidante.....	48
2.12	Café e oxidações biológicas.....	50
3	METODOLOGIA.....	56
3.1	Matéria-prima e instalações.....	56
3.2	Análise sensorial.....	56
3.3	Preparo da amostra.....	57
3.4	Análise de cor.....	57
3.5	Preparo da bebida para as análises <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	57
3.6	Análise de extrato aquoso.....	58
3.7	Fração cinza.....	58
3.8	Sólidos solúveis totais.....	58
3.9	Acidez titulável.....	59
3.10	pH	59
3.11	Açúcares totais e redutores.....	59
3.12	Extrato etéreo.....	59
3.13	Proteína.....	60
3.14	Umidade.....	60
3.15	Fibra bruta.....	60
3.16	Teor de minerais.....	60
3.17	Compostos fenólicos.....	61
3.18	Teor de trigonelina, cafeína e ácido clorogênico.....	61

3.19	Determinação qualitativa dos principais compostos fenólicos presentes no café.....	62
3.20	Análises microbiológicas.....	62
3.21	Atividade sequestrante de radicais livres DPPH.....	63
3.22	Avaliação da atividade quelante de íons Fe ²⁺	63
3.23	Capacidade antioxidante equivalente ao trolox.....	64
3.24	Análise da viabilidade celular (% de células vivas) – ensaio MTT.....	65
3.25	Análise sensorial – teste de ordenação.....	66
3.26	Análises in vivo – ensaio biológico.....	66
3.27	Análises bioquímicas.....	68
3.28	Peroxidação lipídica.....	69
3.29	Lipídios fecais.....	70
3.30	Tratamento e delineamento experimental.....	70
3.31	Análise estatística.....	70
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
4.1	Análise sensorial.....	71
4.2	Análise da cor.....	71
4.3	Sólidos solúveis.....	72
4.4	Análises físico-químicas.....	74
4.5	Teor de minerais.....	79
4.6	Compostos fenólicos.....	81
4.7	Cafeína, trigonelina e ácido clorogênico.....	83
4.8	Determinação qualitativa dos principais compostos fenólicos presentes no café.....	88
4.9	Análises microbiológicas.....	89
4.10	Atividade sequestrante de radicais livres DPPH.....	92
4.11	Avaliação da atividade quelante de íons Fe ²⁺	95
4.12	Capacidade antioxidante equivalente ao trolox.....	98
4.13	Viabilidade celular (% de células vivas) – ensaio MTT....	100
4.14	Análise sensorial – teste de ordenação.....	102
4.15	Ganho de peso.....	104
4.16	Consumo alimentar, consumo de água e volume urinário.....	107
4.17	Peso do fígado.....	110

4.18	Peso dos rins.....	113
4.19	Análises bioquímicas.....	115
4.20	Peroxidação lipídica.....	131
4.21	Análise de lipídeos fecais	134
5	CONCLUSÃO.....	137
	REFERÊNCIAS.....	138
	APÊNDICES.....	161

1 INTRODUÇÃO

O café é um dos produtos de maior comercialização no mercado internacional, em razão da sua grande receptividade que tem a sua bebida. O cultivo, a industrialização e a comercialização desse produto são de extrema importância para o Brasil, pois geram grandes divisas para o País, reconhecido como um dos grandes produtores e exportadores mundiais.

As diferenças na composição química do café contribuem para que os grãos crus, quando submetidos aos tratamentos térmicos, originem bebidas com características sensoriais diferenciadas. Tais características são avaliadas pela classificação oficial do café por provadores que, treinados, podem enquadrar a bebida em sete diferentes classes, sendo essas em ordem decrescente de qualidade: estritamente mole, mole, apenas mole, dura, riada, rio e riozona. A classificação pela bebida é essencial na comercialização do café, pois subsidia a determinação do seu preço e seu mercado de destino.

Além do prazer proporcionado pela degustação de bebidas com características sensoriais diversificadas, o café vem se revelando um alimento funcional, capaz de incrementar a qualidade de vida de toda a humanidade.

A síndrome metabólica, principal fator de risco para coronariopatias, e o câncer são responsáveis, no mundo, por grande parte do total de mortes e se tornam um problema de saúde pública de primeira grandeza. Nos países desenvolvidos, há maior incidência dessas doenças, porém a população dos países em desenvolvimento também é afetada, tendo como conseqüências principais o aumento dos gastos com saúde pública, redução da qualidade de vida, aumento do sofrimento dos pacientes e das mortes súbitas.

Em vista do elevado consumo da bebida por uma significativa parcela da população, o café vem sendo alvo de numerosos estudos acerca de seus efeitos

farmacológicos e implicações na saúde humana, entre estas, destaca-se a potencial atividade antioxidante atribuída aos compostos fenólicos e os produtos gerados durante a reação de Maillard.

Os efeitos benéficos do café à saúde dependem, além da matéria prima, do tipo de torração utilizado, uma vez que alguns compostos sofrem intensa degradação durante esse processo. A torração é um processo dependente do tempo e da temperatura, no qual alterações químicas são induzidas nos grãos de café. Sugere-se que a atividade antioxidante do café diminua com a intensificação da torração, que ocasiona a perda dos componentes fenólicos, porém, outros compostos antioxidantes podem ser formados, resultantes, principalmente, da reação de Maillard.

Trabalhos *in vitro* e epidemiológicos já foram realizados visando o estabelecimento de correlação entre a atividade antioxidante do café e a redução do risco de diversas patologias, os resultados, porém, ainda apresentam-se controversos. Em várias pesquisas foi constatada uma relação inversa entre o consumo de café e a incidência de diabetes, câncer e cardiopatias, porém, em outras, foi relatada a ausência de benefícios, e até mesmo prejuízo da bebida em relação ao desenvolvimento de tais patologias. Portanto, averiguações *in vivo* são extremamente necessárias para auxiliar a elucidação da ação da bebida do café na saúde humana. Experimentos em modelos genéticos são fundamentais para o melhor entendimento das alterações no organismo, haja vista que, em humanos, estudos sobre esses efeitos derivam com mais frequência das observações epidemiológicas do que das averiguações experimentais.

Face ao exposto, neste estudo objetivou-se avaliar a atividade antioxidante do café bebida mole, em três diferentes graus de torração, *in vitro* e *in vivo* e a atuação desta bebida em ratos Zucker diabéticos portadores de síndrome metabólica e sádios.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância econômica e qualidade do café

O Brasil ocupa a segunda posição entre os maiores consumidores mundiais de café e a primeira dentre os maiores produtores, destacando-se, ainda, o fato de ser o único país produtor que consome parcela significativa de sua produção. O cultivo, a industrialização e a comercialização desse produto são de extrema importância para o Brasil, pois gera grandes divisas para o país (TRUGO et al., 2001).

O consumo interno brasileiro de café continua crescendo. No período compreendido entre Novembro/2008 e Outubro/2009 registrou-se um acréscimo de 4,15% no consumo interno em relação ao período anterior correspondente (Nov/07 a Out/08) (Figura 1). Tanto o consumo doméstico quanto o consumo fora do lar apresentaram taxas de crescimento positivas. Maiores investimentos em produtos e no marketing interno do café impulsionaram as vendas. Já, o consumo per capita foi de aproximadamente 78 litros para cada brasileiro por ano, registrando uma evolução de 3,0% em relação ao período anterior. Os consumidores estão ingerindo mais xícaras de café por dia e consumindo também formas diversificadas da bebida, além do café filtrado tradicional, como os cafés expressos, cappuccinos e outras combinações com leite. A disponibilidade de cafés melhores é apontada como uma das razões que justificam o aumento do consumo interno. Outro fator que pode ter contribuído para o aumento registrado em 2009 é a boa percepção do público com relação aos benefícios do café para a saúde humana (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ - ABIC, 2010).

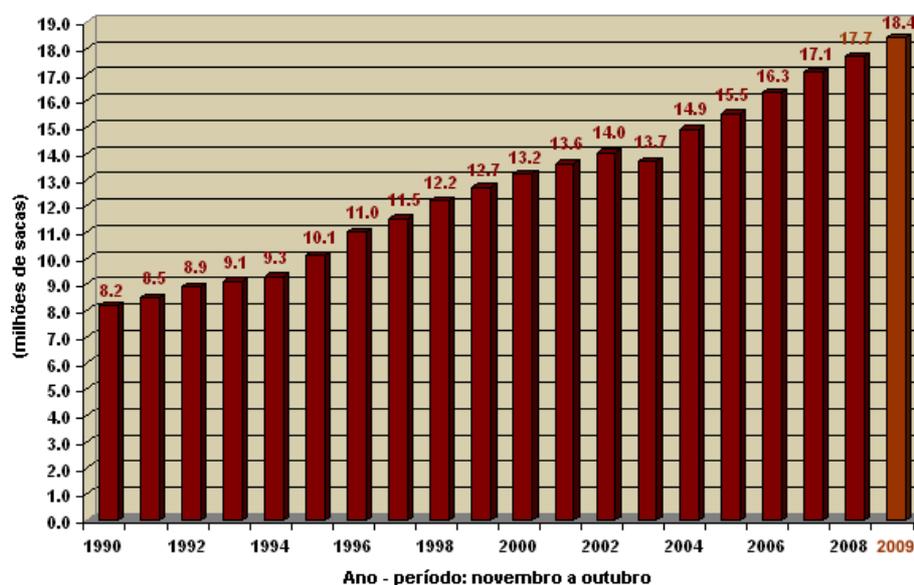


Figura 1 Evolução do consumo interno de café no Brasil (ABIC, 2010)

A economia cafeeira é uma atividade de elevada relevância socioeconômica para o Brasil. O café foi, e ainda é, para várias regiões produtoras uma das atividades com maior capacidade geradora de empregos e fixadora de mão-de-obra no campo (CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO - CNPQ, 2000). Suas principais regiões cafeeiras estão situadas nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo e Paraná.

A qualidade da bebida de café, caracterizada por seu sabor e aroma, é influenciada por diversos fatores pré e pós-colheita que promovem a expressão da qualidade final do produto. Essa qualidade do café é avaliada em função de duas classificações: uma que utiliza o aspecto e pureza do café, e outra o sabor e aroma, sendo esta última a mais importante, pois se refere às características sensoriais da bebida.

2.2 Classificação do café

A classificação de produtos destinados à alimentação humana é de capital importância, tanto no sentido de “informar” sobre a qualidade como alimento, quanto no sentido de nortear as ações de mercado como transações comerciais, estratégias de marketing e armazenagem em toda sua cadeia de comercialização.

A classificação do café beneficiado baseia-se em atributos físicos (número de defeitos, cor, tamanho e forma dos grãos) e sensoriais (BRASIL, 2003).

Durante a classificação oficial do café pela bebida, esta é classificada em sete diferentes padrões (Tabela 1).

Tabela 1 Padrões de bebidas do café segundo classificação oficial pela prova de xícara.

Classificação	Características
Estritamente Mole	Sabor suavíssimo e adocicado
Mole	Sabor suave, acentuado e adocicado
Apenas Mole	Sabor suave com leve adstringência
Dura	Sabor adstringente e gosto áspero
Riada	Leve sabor de iodofórmio ou ácido fênico
Rio	Sabor forte e desagradável lembrando iodofórmio ou ácido fênico
Riozona	Sabor e odor intoleráveis ao paladar e ao olfato

Fonte: Brasil (2003)

A prova de xícara surgiu no Brasil no início do século XX e foi adotada pela Bolsa Oficial de Café e Mercadorias de Santos, a partir de 1917, pouco depois de sua instalação em 1914. O café, após ter sido torrado e moído em moinhos especiais em granulação apropriada é colocado em xícaras (pirex ou

louça). A técnica correta recomenda que a infusão seja preparada na proporção de 10g de pó para 100 mL de água, a qual é colocada sobre o pó, quando atingir 90° C. Nessa oportunidade, o classificador já deve obter um julgamento preliminar pelo aroma dos vapores desprendidos. O exame final é feito com auxílio de uma concha, servem-se cuidadosamente algumas porções de infusão, com a finalidade de julgar o gosto daquela bebida (PEREIRA; PAIVA, 2006).

Em tempo de crise na cafeicultura a qualidade é fator fundamental para a valorização do café, a qual está diretamente ligada à composição química desse produto. Os atributos sensoriais da bebida do café estão intimamente relacionados com os compostos químicos presentes no grão cru, que atuam como precursores do aroma e sabor (LICCIARDI et al., 2005).

A qualidade da bebida está associada a diversos fatores, destacando-se entre eles a composição química do grão, determinada por fatores genéticos, culturais e ambientais; o processo de preparo e conservação do grão, no qual intervém a ação da umidade e da temperatura, podendo propiciar infecções microbianas indesejáveis; a torração e o preparo da infusão, que modificam a constituição química do grão (CARVALHO et al., 1994).

2.3 Composição química

Segundo Chagas (1994), os principais constituintes químicos do café arábica são: água (8 a 12%); proteínas (9 a 16%); minerais (2,5 a 4,5%); lipídios (10 a 18%); carboidratos (20 a 25%); sólidos solúveis (24 a 31%); açúcares totais (5 a 10%); açúcares redutores (0 a 5%); ácidos clorogênicos (ACG) (2 a 8,4%); cafeína (0,6 a 1,5%); potássio (1,35 a 1,88%) e trigonelina (0,7 a 1,4%). No entanto, essa composição química do grão cru do café depende de fatores genéticos, ambientais e condições de manejo pré e pós-colheita.

Dentre esses compostos, sobressaem os açúcares, compostos fenólicos (ácidos clorogênicos), cafeína, compostos voláteis, ácidos graxos e proteínas, cuja presença e teores conferem ao café um sabor e aroma peculiares. A formação do aroma é um processo muito complexo, sendo que alguns de seus precursores são os lipídios, a sacarose e a trigonelina. Por outro lado, os ácidos clorogênicos e a cafeína são os precursores da acidez do café (MONTAGNON et al., 1998).

Os níveis relativamente elevados de compostos fenólicos, particularmente de ácidos clorogênicos e de compostos relacionados, em grãos de café refletem sua importância fisiológica para a planta, assim como sua contribuição significativa à formação do aroma e do sabor da bebida do café (FARAH; DONANGELO, 2006). Farah et al. (2006) observaram alta correlação entre altos níveis de ácidos clorogênicos (isômeros 4 e 5 ACG) e baixa qualidade sensorial da bebida. Segundo os autores, esta relação pode ser explicada em razão do maior teor de ácidos clorogênicos encontrado nos grãos de café defeituosos, especialmente nos defeitos preto e verde. Níveis mais baixos de ácidos clorogênicos parecem também explicar a superioridade do *Coffea arabica* L. na qualidade da bebida quando comparados com o *Coffea canephora* Pierre. A diferença nos índices de ácidos clorogênicos dessas duas espécies foi considerada um dos fatores responsáveis para diferenças do sabor entre as duas espécies.

Os ácidos clorogênicos abrangem uma série de compostos oriundos da esterificação do ácido quínico com derivados do ácido cinâmico como os ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico, sendo os principais subgrupos de isômeros os ácidos cafeoilquínicos, feruloilquínicos e dicafeoilquínicos e, minoritariamente, os ácidos p-cumaroilquínicos (p-ACoQ). Esses compostos geram durante a torrefação vários compostos fenólicos de baixa massa molar como, fenol, 1,2,3-

triidroxibenzeno (pirogalol), 1,2-diidroxibenzeno (catecol), 4-vinilbenzeno-1,2-diol (4-vinilcatecol), entre outros, que apresentam características sensoriais bem variadas, como odores de matéria queimada, especiarias, cravo, fumo e, também, sensação de amargor e adstringência (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006).

Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas. Dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro*. A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se, principalmente, às suas propriedades redutoras e estrutura química (SOUSA et al., 2007).

Existe na literatura muita controvérsia sobre o mecanismo de ação dos compostos fenólicos. Estes atuam como antioxidantes na inativação dos radicais livres, em ambos os compartimentos celulares lipofílico e hidrofílico e têm a capacidade de doar átomos de hidrogênio, inibindo assim as reações em cadeia provocadas pelos radicais livres (ARORA; MURALEEDHRAN; STRASBURG, 1998; HARTMAN; SHANKEL, 1990). Os compostos fenólicos podem inibir os processos da oxidação em certos sistemas, mas isso não significa que eles possam proteger as células e os tecidos de todos os tipos de danos oxidativos. Esses compostos podem apresentar também atividade pró-oxidante em determinadas condições (DECKER, 1997).

Alguns efeitos fisiológicos, observados em animais e humanos e em estudos *in vitro*, são associados à presença de grande quantidade de compostos fenólicos na bebida de café. O ácido clorogênico (ACG) representa uma família de compostos fenólicos, cujo componente majoritário é o ácido cafeoilquínico

(5-ACQ), presente em grande quantidade na bebida (MARIA, 1995). O principal efeito fisiológico do 5-ACQ é a sua atividade antioxidante, particularmente do seu produto de hidrólise: o ácido caféico. A observação de que o 5-ACQ reduz a peroxidação de hemácias em ratos, a oxidação da LDL-c (lipoproteína de baixa densidade) e a formação de nitrosaminas (agentes cancerígenos) *in vitro* são evidências de sua capacidade antioxidativa. Além disso, esse ácido é capaz de reduzir a resposta inflamatória mediada por citocinas (KRAKAUER, 2002).

Em contrapartida, o 5-ACQ inibe a ação enzimática de amilases, tripsina e lisozima (ROHN; RAWEL; KROLL, 2002). Por sua vez, os produtos derivados de sua oxidação reduzem a biodisponibilidade de aminoácidos, especialmente a lisina (FRIEDMAN, 1997). Além disso, o consumo de 5-ACQ em quantidades encontradas na bebida de café, aumentaria os níveis de homocisteína no plasma de humanos. Esse aminoácido não protéico é um dos fatores de risco para o surgimento de doenças cardiovasculares (OLTHOF et al., 2001).

Daglia et al. (2000) sugeriram que os compostos fenólicos são destruídos com a torração, enquanto os produtos da reação de Maillard, também com propriedades antioxidantes, são formados.

Essa variedade de efeitos fisiológicos benéficos e maléficos atribuída aos ACG, preponderantemente ao 5-ACQ, certamente é dose-dependente. Os estudos que relacionam a ingestão diária de ACG do café e seus efeitos fisiológicos são escassos. Portanto, atribuir um efeito benéfico ao consumo da bebida de café, em razão do alto teor de ACG, é ainda de fato uma atitude precipitada.

2.4 Torração e alterações do café

O café, para ser consumido, necessita obrigatoriamente ser torrado. Esta fase é determinante da característica final da bebida, pois o grau de torração evidencia ou encobre inúmeras propriedades do grão (ILLY; VIANI, 1995).

A torração consiste no aquecimento dos grãos a 200- 240°C por 10 -15 min. Durante o processo de torrefação, a água residual dentro de cada célula é convertida em vapor e ocorre uma série de reações químicas complexas entre os açúcares, proteínas, lipídeos e minerais contidos no seu interior. Os amidos transformam-se em açúcares simples, surgem algumas espécies de ácidos enquanto outros são eliminados, a estrutura celular básica do grão acaba por se desintegrar, fazendo com que ocorra expansão e as proteínas são desmembradas transformando-se em peptídeos. A trigonelina e os ácidos clorogênicos são compostos fortemente afetados pelas condições térmicas de torrefação (MORAES, 2002).

Durante o processo de torração, o pH do extrato de café diminui até atingir um valor mínimo, aumentando em seguida; a concentração de cafeína permanece constante; e a razão 5-ACQ/cafeína permanece aproximadamente constante durante a fase de secagem e diminui a uma taxa constante durante a fase de pirólise. A razão trigonelina/cafeína diminui após o ponto de pH mínimo ser atingido, em razão da decomposição da trigonelina em ácido nicotínico. Uma comparação entre as características de amostras de café bebida riado/rio e bebida mole, demonstrou que a bebida riado/rio apresentou maior pH e teores similares de trigonelina, 5-ACQ e cafeína. Observou-se que a redução da concentração de 5-ACQ ao final da torração foi mais acentuada para esta bebida, em comparação ao café de bebida mole. Esses resultados são um indicativo de que esse parâmetro se apresenta como um potencial critério para diferenciação de qualidade de produto (VITORINO et al., 2001).

O processo de torrefação origina mudanças profundas na composição química do café gerando derivados da reação de Maillard, caramelização de carboidratos e pirólises. Essas alterações conferem ao café sabor e aroma agradáveis, e podem ser determinantes para as atividades biológicas da bebida (CLARKE; MACRAE, 1985; VILAS-BOAS et al., 2001).

Os produtos da reação de Maillard formados durante o processamento e a estocagem de alimento, via interações entre os compostos e grupamentos aminos e carbonílicos, são comuns em muitos sistemas alimentícios, e vários estudos demonstram que os produtos da reação de Maillard apresentam atividade antioxidante *in vitro*. No entanto, o mecanismo de ação destes compostos ainda não é bem conhecido. Alguns pesquisadores revelam a importância de se estudar a atividade antioxidante dos produtos da reação de Maillard na tentativa de identificar compostos “naturais” como substitutos para antioxidantes sintéticos (OLIVEIRA, 2000).

Em resumo, esta reação envolve a condensação do grupo aldeído do açúcar redutor (aldose) com um amino livre de uma proteína ou um aminoácido para formar uma glicosilamina N-substituída, a qual se rearranja para formar o produto do rearranjo de Amadori. O produto do rearranjo de Amadori se desidrata formando furfural e redutonas e produtos de fissão (dicarbonílicos). Esses compostos e os aldeídos formados pela degradação de Strecker podem reagir para formar aldóis e polímeros nitrogenados livres, de alto peso molecular e, ou, na presença de compostos amino, produzir polímeros nitrogenados marrons e copolímeros, chamados melanoidinas (OLIVEIRA, 2000).

Durante a reação de Maillard, um composto com extremidade redutora condensa-se com um composto que tenha um grupo amino livre. Durante a torrefação do café, parte de seus compostos fenólicos são incorporados às melanoidinas (DAGLIA et al., 2000). Os ácidos clorogênicos doam um grupo

carbonil para as melanoidinas no primeiro estágio da reação de Maillard. Muitos estudos têm sido feitos para caracterizar a estrutura e as propriedades químicas das melanoidinas, mas nenhuma foi completamente caracterizada até o momento (ADAMS et al., 2005).

As principais implicações da reação de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos são muito diversas e influenciam aspectos químicos, sensoriais, nutricionais, toxicológicos e manifestações *in vivo*. Os aspectos químicos estão relacionados com o mecanismo da reação, com o isolamento e identificação dos produtos intermediários e com a estrutura e propriedades dos produtos finais (melanoidinas). Os aspectos sensoriais dizem respeito ao desenvolvimento de aromas e sabores, à modificação de propriedades físico-químicas e ao fenômeno de escurecimento. Os aspectos nutricionais consideram, essencialmente, a perda de aminoácidos (lisina, arginina, entre outros) e de valor nutritivo das fontes de proteína. Os aspectos toxicológicos estão estreitamente relacionados com a formação de mutagênicos e de antimutagênicos. Finalmente, as manifestações dos produtos da reação de Maillard *in vivo* estão diretamente relacionadas à atividade antioxidante (SGARBIERI, 1996).

A intensidade dessas alterações dependerá do grau de torração do café que pode ser clara, média ou escura. A torração média é a mais indicada para consumo, apesar da torração escura ainda ser muito empregada pelas indústrias, originando sabor de queimado, facilitando a perda de voláteis e a rancificação. Sendo o processo de torrefação decisivo para a composição do produto final (PEREIRA et al., 2002).

2.5 Moagem

Após a torração, os grãos de café devem ser moídos, processo este que também deve ser rigorosamente controlado para obtenção de uma boa bebida, pois o tempo de preparo e o sabor da bebida são influenciados pela moagem. O grau de moagem deve ser selecionado com muito critério, dependendo da finalidade do uso do pó e do gosto do consumidor.

Cada método de preparação da bebida exige uma moagem, granulometria específica que irá garantir máxima extração somente dos atributos do café. A moagem ideal para cada método de preparação vai depender do tempo que cada café fica em contato com a água e a sua temperatura (NASCIMENTO, 2006).

Os graus de moagem do café são definidos industrialmente como grosso, médio e fino, seguindo estritamente as recomendações dos fabricantes de moinhos, sem, no entanto, ter embasamento suficiente para correlacionar as características do processo com a composição química e a qualidade final do produto. Na prática, o método de filtração ou extração é que irá definir as características de moagem do pó de café (MORAES, 2002).

De acordo com Illy e Viani (1995), existem alguns parâmetros que influem nas características da moagem do café torrado que são: a) a variabilidade do “blend”, isto é, a moagem se confrontará com as diferenças botânicas das variedades; b) grau de torração, modificação das estruturas celulares e c) umidade, não deve ser superior a 3%, pois a umidade superior a este valor amolece o grão e diminuem o número de partículas finas na moagem.

A ruptura das células é realizada com a moagem, com a liberação de gases como CO₂ e CO e acompanhados por pequenas quantidades de substâncias voláteis, responsáveis pelo típico aroma do café (ILLY; VIANI, 1995). Os grãos

moídos ficam mais expostos e mais vulneráveis a ação do oxigênio, podendo a moagem acelerar a velocidade de envelhecimento do café, assim o ideal é que a moagem seja realizada no momento do consumo, para que as características do grão de café sejam realçadas.

A granulometria pode ser relevante para extração de sólidos totais, relacionando-se com a composição química, atividade biológica e definindo o rendimento do produto. Andueza, Peña e Cid (2003) verificaram que a extração de sólidos e compostos solúveis, como trigonelina e ácido clorogênico, aumentou inversamente com o tamanho da partícula e o conteúdo de cafeína aumentou significativamente com a diminuição do tamanho da partícula.

2.6 Ratos Zucker diabéticos

Os ratos Zucker diabéticos são modelos genéticos desenvolvidos em laboratório com a principal intenção de pesquisas relacionadas à resistência insulínica, intolerância a glicose, síndrome metabólica e obesidade genética. Esses animais apresentam quatro cores variantes: predominantemente marrom, branco e marrom, predominantemente preto e preto e branco (CHARLES RIVER LABORATORIES, 2010).

Os mecanismos relacionados ao diabetes tipo 2 e sua associação com patologias cardiovasculares têm sido elucidados por meio do uso de modelos experimentais de obesidade e diabetes, tais como os ratos obesos Zucker e os camundongos db/db e ob/ob. O objetivo é ter modelos animais que mais se aproximam da condição humana, na qual a obesidade é fator muito comum associado ao diabetes tipo 2. No modelo de Zucker, descrito primeiramente em 1960, estão presentes hiperinsulinemia, dislipidemia, hiperfagia, hipotermia,

alterações na atividade simpática e redução do gasto energético (SCHMIDT et al., 2003; TURNER; GUDGEON; TOSELAND, 1995).

Os ratos Zucker obesos são vistos como um modelo de obesidade grave, associada à resistência insulínica e tolerância à glicose diminuída. Nesses animais o estímulo provocado pela insulina para a absorção de glicose nos músculos esqueléticos e cardíacos é marcadamente diminuído, a insulina não é capaz de recrutar o principal transportador de glicose, o GLUT-4. Os ratos obesos também apresentam captação diminuída de glicose, oxidação de glicose e incorporação de glicose em glicogênio (MORABITO et al., 2002).

Os ratos Zucker Diabéticos proporcionam um bom modelo animal para o estudo da síndrome metabólica humana. Descendentes dos ratos Zucker hiperglicêmicos e obesos, apresentam uma mutação ao nível do receptor da leptina (PICKAVANCE et al., 1998), o que compromete o efeito da leptina, nomeadamente ao nível de supressão do apetite e dos efeitos termogênicos. Assim, esses animais apresentam obesidade, níveis plasmáticos elevados de colesterol e triacilgliceróis, hiperfagia, poliúria e polidipsia. O desenvolvimento do diabetes nestes modelos genéticos é muito semelhante ao que ocorre no homem (LEMOS et al., 2007).

2.7 Síndrome metabólica

As profundas transformações na estrutura populacional, decorrentes de quedas bruscas de mortalidade e fecundidade, deslocaram-se gradativamente dos grupos jovens aos mais idosos, modificando a incidência e a prevalência de doenças, bem como as principais causas de morte. Desse modo, doenças que acometiam mais a população infantil, como as infecciosas e parasitárias, vão

perdendo importância em prol de outras mais incidentes na população adulta e idosa (REZENDE; SAMPAIO; ISHITANI, 2004).

As transições demográfica, nutricional e epidemiológica ocorridas no século passado determinaram um perfil de risco em que doenças crônicas como o diabetes, doenças cardiovasculares e o câncer assumiram ônus crescente e preocupante. Essas são condições prevalentes e importantes problemas de saúde pública em todos os países, independentemente de seu grau de desenvolvimento, destacando-se como as principais causas de morte (BARRETO; CARMO, 1998). Fatores de risco relacionados ao estilo de vida, tais como: obesidade, tabagismo, sedentarismo, dislipidemias, alcoolismo, estresse e hipertensão arterial têm sido associados à essas doenças. A redução da exposição a eles não só contribui para a diminuição da mortalidade, como também pode ser considerada uma variável de impacto para ocorrer um retardo substancial no surgimento dessas doenças (MONTEIRO et al., 1995).

As doenças cardiovasculares representam a primeira causa de morte nos países desenvolvidos e também vêm crescendo muito nos países de economia em transição e em desenvolvimento (BRANDÃO et al., 2005). Nos dias de hoje, estas doenças contribuem significativamente como grupo causal de mortalidade em todas as regiões brasileiras. De acordo com o Ministério da Saúde, a Região Sudeste possui o maior coeficiente de mortalidade por doenças do aparelho circulatório (207 mortes por 100 mil habitantes), enquanto a média brasileira é de 169 mortes / 100 mil habitantes (CASTRO et al., 2004). Cerca de 25% das causas de morte no mundo devem-se às doenças cardíacas. Uma das principais causas das doenças cardíacas são os altos níveis de colesterol e triacilgliceróis séricos, ou seja, hipercolesterolemia e hipertrigliceremia, respectivamente (FIETZ; SALGADO, 1999).

No início do século passado, diversos autores associaram o risco da doença cardiovascular a alguns fatores como a obesidade, a hipertensão, o diabetes e a dislipidemia, que freqüentemente estavam agrupados. Posteriormente, novos estudos indicaram que a presença do agrupamento desses fatores de risco se relacionavam geralmente à obesidade, especialmente a abdominal. Entretanto, apesar de reconhecida do ponto de vista epidemiológico, somente em 1988 o conceito de um elo fisiopatológico comum foi descrito na literatura, que seria o estado de resistência periférica à ação da insulina e a hiperinsulinemia a ela compensatória. Desde então, a resistência à insulina tem sido amplamente reconhecida como o fator fisiopatológico de base para o desenvolvimento de diversas alterações metabólicas que constituem fatores de risco não somente para a doença cardiovascular, mas também para o diabetes, a esteatose hepática e as hepatopatias não-alcoólicas (LERARIO; BETTI; WAJCHENBERG, 2009).

Tradicionalmente, o conceito de resistência insulínica (RI) é definido como um defeito na ação da insulina que resulta em uma hiperinsulinemia compensatória para manter os níveis de glicemia dentro da normalidade. Um importante fator de contribuição para a RI é a presença de níveis séricos elevados de ácidos graxos livres, provenientes do aumento da mobilização de triacilgliceróis do tecido adiposo (ECKEL; BRUNDY; ZIMMET, 2005).

As evidências, na literatura médica, levam a crer que os produtos do adipócito (principalmente os ácidos graxos livres) contribuem de alguma forma com as alterações encontradas nos pacientes, como aumento da pressão arterial, resistência à insulina, intolerância à insulina, intolerância à glicose, glicemia de jejum alterada, DM II, obesidade central, aumento da fração LDL-c, aumento dos triacilgliceróis e HDL-c (lipoproteína de alta densidade) baixo (LOPES, 2005).

A presença desse agrupamento de fatores de risco para o diabetes e a doença cardiovascular tem recebido diferentes denominações que a caracterizam como uma síndrome. Inicialmente designada como "Síndrome X", recebeu outras denominações como síndrome do Novo Mundo, síndrome da resistência à insulina, síndrome plurimetabólica e, finalmente, síndrome metabólica, denominação atual e universalmente utilizada (MCLAUGHLIN et al., 2003).

Estudos envolvendo a síndrome metabólica, fatores de risco cardiovascular e o desenvolvimento de doença cardiovascular aterosclerótica aumentaram consideravelmente em adultos e, ultimamente, tem sido objeto de atenção especial nas idades iniciais, pois cada vez mais este diagnóstico vem sendo realizado precocemente (SINAIKO, 2007).

A síndrome metabólica (SM) caracteriza-se por um conjunto de anormalidades (hipertensão arterial, alterações lipídicas e glicídicas), frequentemente correlacionadas com a resistência insulínica e com a obesidade central e associa-se fortemente ao desenvolvimento da aterosclerose. Na atualidade, a SM vem sendo identificada como um dos mais potentes e investigados fatores determinantes das doenças cardiovasculares e do diabetes melitus tipo 2 (BARBOSA et al., 2010).

O termo síndrome metabólica descreve uma condição de ocorrência predominante em países civilizados. Estima-se que a SM afete cerca de 20% a 30% da população em idade média e avançada. Sua maior importância reside no fato de que tem sido implicada com um aumento significativo do risco de morbidade e mortalidade cardiovascular (MONTEIRO JÚNIOR et al., 2009).

Existem várias propostas de definição clínica de SM. Três são as mais utilizadas: Organização Mundial da Saúde (OMS) (ALBERTI; ZIMMET, 1998), *National Cholesterol Education Program's Adults Treatment Panel III*

(NCEP-ATP III) (GRUNDY et al., 2005) e, mais recentemente, a *International Diabetes Federation* (IDF) (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION - IDF, 2010).

A definição da OMS foi proposta em 1998 e preconiza como ponto de partida a avaliação da RI (resistência insulínica) ou do distúrbio do metabolismo da glicose e inclui a medida da albuminúria e, por isso, é mais complexa de ser avaliada.

A proposta mais amplamente utilizada para caracterizar essa síndrome é a definida pelo *National Cholesterol Education Program Expert Panel* (NECP). A definição da NCEP engloba a presença de três de cinco componentes: obesidade abdominal, hiperglicemia de jejum, pressão arterial elevada, triacilgliceróis elevados, HDL-c reduzido (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM - NECP, 2001). A definição do NCEP-ATP III foi desenvolvida para uso clínico e não exige a comprovação de RI. Pela sua simplicidade e praticidade, esta é a definição recomendada pela I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

A definição de síndrome metabólica do *International Diabetes Federation* (IDF) também é muito utilizada. O IDF condiciona a classificação à presença de gordura abdominal alterada. A definição da IDF de síndrome metabólica requer a presença de obesidade central, definida pela circunferência abdominal, além de outros dois dos quatro seguintes fatores: elevação de triacilgliceróis ou tratamento para tal; HDL reduzido ou tratamento para elevá-lo; hipertensão arterial ou tratamento anti-hipertensivo; hiperglicemia de jejum ou diabetes previamente diagnosticados (ALBERTI; ZIMMET; SHAW, 2006).

Os critérios das três propostas estão descritos no quadro 1.

Quadro 1 Critérios diagnósticos da síndrome metabólica segundo as três definições mais utilizadas: OMS, NCEP-ATP III e IDF.

OMS exige a presença de resistência à ação da insulina ou de hiperglicemia e mais dois outros componentes		Níveis
Presença de hipertensão*		≥ 140/90 mmHg
IMC		≥ 30 Kg/m ²
Relação cintura/quadril	Masculino Feminino	> 0,90 > 0,85
Triacilgliceróis*		≥ 150 mg/dl
HDLc*	Masculino Feminino	< 35 mg/dl < 39 mg/dl
Glicemia*		≥ 110 mg/dl
O NCEP-ATP III exige a presença de pelo menos três dos seguintes componentes		Níveis
Pressão arterial*		≥ 130/85 mmHg
Circunferência abdominal	Masculino Feminino	≥ 102 cm ≥ 88 cm
Triacilgliceróis*		≥ 150 mg/dl
HDLc*	Masculino Feminino	< 40 mg/dl < 50 mg/dl
Glicemia*		≥ 100 mg/dl
O IDF exige a presença de obesidade abdominal e de pelo menos outros dois componentes		Níveis
Circunferência abdominal (Asiáticos e Latinos da América Central e do Sul)	Masculino Feminino	≥ 90 cm ≥ 80 cm
Pressão arterial*		≥ 130/85 mmHg
Triacilgliceróis*		≥ 150 mg/dl
HDLc*	Masculino Feminino	< 40 mg/dl < 50 mg/dl
Glicemia*		≥ 100 mg/dl

*Ou em uso de medicação específica

Fonte: Rodrigues, Canani e Gross (2010)

A síndrome metabólica, independente da proposta de classificação, constitui uma importante ameaça à saúde pública. Isso ocorre tanto em função da sua associação com o aumento de 5 a 10 vezes no risco de desenvolver diabetes mellitus tipo 2 (DM 2) e com o aumento de 2 a 3 vezes no risco para a doenças cardiovasculares. Fatores de risco para o desenvolvimento da doença cardiovascular como a dislipidemia, a hipertensão, a disfunção endotelial, a inflamação, a hipercoagulação e as alterações na fibrinólise, a obesidade e o metabolismo alterado da insulina e glicose fazem parte da síndrome metabólica ou são fortemente associados a ela (MELLO; LAAKSONEN, 2009).

Embora as definições disponíveis abordem alguns aspectos diferentes dentro do espectro de anormalidades da SM, a literatura é concordante em seus componentes essenciais: obesidade, hipertrigliceridemia, níveis baixos de HDL-c, HAS e intolerância à glicose. Além disso, tais definições compartilham do mesmo objetivo: auxiliar na identificação de indivíduos de risco para DCV e DM, que se beneficiariam com a intervenção precoce sobre essas anormalidades (LEVESQUE; LAMARCHE, 2008).

Segundo Sharovsky et al. (2005), assim como a obesidade, a determinação da SM está associada à interação entre fatores genéticos e ambientais.

Segundo Lerario et al. (2002), o mecanismo pelo qual a distribuição central da adiposidade causa resistência à insulina já é bem conhecido. Depósitos viscerais de triacilgliceróis possuem turnover (rotatividade) mais acelerado que o de outras regiões, aumentando a oferta de ácidos graxos livres no sistema porta, que estimulam a gliconeogênese e inibem a depuração hepática da insulina, contribuindo para elevar a glicemia, a insulinemia e a resistência insulínica.

A hiperinsulinemia tem um papel importante no desenvolvimento de outros componentes da SM, como a dislipidemia e a hipertensão. Os mecanismos que podem explicar a relação da hiperinsulinemia com o desenvolvimento da hipertensão são: a reabsorção renal de sódio e água aumentada; a ativação do sistema nervoso simpático; a diminuição da atividade enzima $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ e aumento do acúmulo de cálcio celular e o estímulo de fatores de crescimento (ISOSAKI; CARDOSO, 2004).

A hipertriacilgliceridemia é explicada por Isosaki e Cardoso (2004), em razão de um aumento da liberação hepática de lipoproteínas ricas em triglicérides, as VLDL-c. Para Schiavo, Lunardelli e Oliveira (2003), as VLDL-c ricas em triacilgliceróis são secretadas quando está ocorrendo síntese excessiva de triacilgliceróis hepáticos, como na obesidade e no diabetes mellitus não insulino dependente.

Elevados níveis de triacilgliceróis no soro estão associados com quatro condições patogênicas que aceleram a aterosclerose: diminuição dos níveis de HDL-c no soro; aumento das lipoproteínas remanescentes; pequena elevação na LDL-c e aumento das condições trombogênicas. Isso sugere que a hipertriacilgliceridemia poderá ser a causa da aterosclerose. Estudos experimentais investigam a elevação dos triacilgliceróis no soro associada ao risco de doenças coronarianas. Surgem evidências que a hipertriacilgliceridemia é um fator de risco independente para doenças coronarianas, pois contribui para estas doenças por um efeito aterogênico direto das lipoproteínas ricas em triglicérides, particularmente as VLDL-c (SCHIAVO; LUNARDELLI; OLIVEIRA, 2003).

Fatores ambientais relacionados ao estilo de vida têm sido fortemente implicados na fisiopatologia da SM. Esses últimos incluem hábitos dietéticos (ESPÓSITO; CERIELLO; GIUGLIANO, 2007) e inatividade física (LAKKA;

LAAKSONEN, 2007), ambos contribuindo para a obesidade e especialmente para o acúmulo de tecido adiposo na região abdominal, tecido diretamente envolvido na gênese da resistência à insulina. A grande liberação de ácidos graxos na circulação portal e sistêmica, decorrente da alta atividade lipolítica da gordura visceral, associada à produção de citocinas pró-inflamatórias e pró-aterogênicas, reduz a captação de glicose no fígado, musculatura esquelética e outros tecidos, gerando uma condição de alto risco cardiometabólico (DESPRES et al., 2008).

2.8 Café e síndrome metabólica

Inicialmente, a bebida de café era consumida em cerimônia religiosa ou por indicação médica, sendo preparada a partir do grão verde (cru). O café era recomendado para tratar uma grande variedade de doenças, como pedra nos rins, gota, tosse e sarampo. No decorrer do tempo, o consumo da bebida café tornou-se popular, o que fez surgir um conflito na literatura médica em relação aos efeitos do café na saúde humana. Ao longo das últimas décadas, muitos estudos foram realizados, buscando esclarecer os aspectos relacionados à ingestão do café e os seus efeitos funcionais. A esta bebida, em função de sua composição química, têm sido atribuídas inúmeras vantagens e desvantagens para a saúde humana (ALMEIDA et al., 2003).

Resultados de pesquisas epidemiológicas sugerem que o consumo de café pode vir a prevenir a ocorrência da síndrome metabólica, em razão da ação antioxidante apresentada por diversos constituintes do café e de outras ações fisiológicas relacionadas à prevenção de dislipidemias, obesidade, hiperglicemia, hipertensão entre outros fatores de risco para doenças cardiovasculares.

Para Araújo e Mancini Filho (2006), o café representa uma alternativa promissora a ser aplicada na prevenção e tratamento de diabetes e prevenção de fatores de risco para doenças cardiovasculares. Porém, outros estudos de coorte não encontraram uma associação benéfica entre o consumo de café e o desenvolvimento de tais patologias, demonstrando que o consumo dessa bebida está associado ao aumento de fatores de risco para cardiopatias, incluindo o aumento da pressão sanguínea e a concentração de homocisteína no plasma (HIGDON; FREI, 2006). Em um estudo epidemiológico com 45.589 indivíduos do sexo masculino não foi encontrada ligação entre o café e as doenças cardiovasculares e o infarto naqueles que bebiam quatro ou mais xícaras por dia (GROBBEE et al., 1990). Já Klag et al. (1994), concluíram que a ingestão de café por indivíduos fumantes ou não do sexo masculino, estava associada a um risco aumentado de doenças cardiovasculares e a um risco elevado de infarto do miocárdio. Entretanto, Chou e Benowitz (1994) apontaram falhas em muitos dos estudos realizados, entre elas a ausência de limite superior nas quantidades consumidas e a exclusão de indivíduos com histórico de doença cardiovascular. Esses autores, após estudo exaustivo, concluíram que o café em dosagens típicas, não aumentava o risco de infarto, morte súbita e de arritmias.

Objetivando relacionar o consumo de café aos níveis sanguíneos de colesterol foram realizados 22 estudos longitudinais, envolvendo 130.000 pessoas de oito países. Os resultados da influência do consumo de café nos níveis de colesterol foram conflitantes e Thelle, Heyden e Fodor (1987) atribuíram essas divergências aos diferentes métodos de preparo da bebida do café, que podem afetar a sua composição. Conclusões similares foram apresentadas por Rosmarin (1989) e Thelle (1995). De acordo com Chou e Benowitz (1994), o teor de cafeína não influencia os níveis de lipoproteínas, entretanto, o consumo de café fervido tem efeito na elevação da LDL-c e

apoproteína B no soro, sendo este significativo ao se consumir seis a sete xícaras de café fervido por dia. Chou e Benowitz (1994) e Thelle (1995) relataram que os fatores responsáveis pelo aumento do colesterol nos indivíduos que consomem café fervido são os diterpenos Kaveol e cafestol, os quais estão presentes na fração lipídica do café. Pacientes hiperlipidêmicos são mais susceptíveis ao aumento sérico de lipídeos com o consumo de café, mas o colesterol do soro não é aumentado em indivíduos que consomem o café preparado por processo de filtração (JEE et al., 2001).

Ito et al. (1998) não constataram aumento de colesterol total e triacilgliceróis em humanos que receberam a bebida de café filtrado, o que também foi verificado por Duarte et al. (2009). A ingestão de café instantâneo também não induziu alteração nos níveis de colesterol total (MCANLINS et al., 1998). Já, Yukawa et al. (2004) revelaram uma redução no colesterol total e LDL-c, após consumo de café, sem alterações significativas de triacilgliceróis e HDL-c.

Nessa linha, outros efeitos positivos do consumo do café, apontam melhoria da irrigação sangüínea e de inibição da oxidação da LDL-c (ENCARNAÇÃO; LIMA, 2003).

Tem sido demonstrado que o consumo a longo prazo de cafeína diminui o peso corporal em roedores. Estima-se que o consumo habitual de 6 xícaras de café (ou seja, 600 mg de cafeína / dia) leve a um aumento no gasto energético de 100 kcal / dia. O café pode aumentar a termogênese, em parte, pelo aumento da oxidação de gordura. A diminuição da massa adiposa e do número de adipócitos sem uma diminuição da ingestão calórica diária também já foi relatada, bem como o metabolismo lipídico. Porém, há pouca evidência de ensaios em seres humanos, e os resultados são ambíguos, acredita-se que este efeito seja significativo apenas em indivíduos não obesos, uma vez que a cafeína causa

maior termogênese, lipólise, oxidação da gordura e secreção de insulina nestes. Essa redução de peso pode provavelmente diminuir o risco de diabetes além de outros benefícios (GREENBERG; BOOZER; GELIEBTER, 2006).

Estudos experimentais evidenciam que a administração de cafeína (em quantidades médias comparáveis às ingeridas diariamente) provoca uma elevação aguda da pressão arterial típica, podendo esse efeito subsistir durante várias horas. A vasoconstrição é conhecida como sendo o principal meio através do qual a cafeína influencia a pressão sanguínea, resultante da sua ação antagonista face à adenosina, um vasodilatador fisiológico. Ressalta-se que na maioria dos estudos experimentais, a cafeína é administrada numa única dose (aguda), contrariamente ao que acontece no dia-a-dia dos consumidores de café, em que a mesma quantidade de cafeína é ingerida em várias doses ao longo do dia. Apesar destas constatações para a cafeína, os resultados dos estudos epidemiológicos que analisam o consumo de café e a sua influência na pressão sanguínea são muito inconsistentes, ocorrendo associações positivas, inversas e inexistentes. De um modo geral, não existe uma clara relação causal entre o consumo de café e hipertensão, acrescenta-se a isto, a presença de outros compostos químicos no café com ação contrária ao efeito constritor da cafeína como, por exemplo, os ácidos clorogênicos (ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009; HARTLEY et al., 2001; NURMINEN; NIITYNEN; KORPELA, 1999).

O café contém inúmeras substâncias entre elas, a cafeína, ácido clorogênico, quinidinas e magnésio, que afetam o metabolismo da glicose (DAM; HU, 2005). Tal fato vem ganhando destaque em razão da associação positiva entre o consumo de café e a redução do risco de diabetes tipo 2, aumentando a sensibilidade da célula à insulina (DAM; FESKENS, 2002). A insulina é o principal hormônio que regula o metabolismo da glicose. Nas células, a insulina ativa o transporte de glicose e aminoácidos, o metabolismo de

glicogênio e lipídios, a síntese protéica e a transcrição de genes específicos (KAHN, 1998). Porém, segundo Encarnação e Lima (2003) a ingestão de café causa um aumento dos níveis de glicose no sangue em pessoas que não fazem uso regular da bebida.

2.9 Diabetes mellitus (DM)

O diabetes mellitus é uma disfunção metabólica de múltipla etiologia caracterizada por hiperglicemia crônica resultante da deficiência na secreção de insulina, ação da insulina ou ambos. Em 1995, foi estimado que o diabetes mellitus atingia 4% da população adulta mundial e que, em 2025, atingirá 5,4% da população, o que equivalerá a aproximadamente 300 milhões de diabéticos. Porém, a prevalência do diabetes mellitus tem elevado vertiginosamente, e espera-se um incremento ainda maior. Nos países em desenvolvimento, há uma tendência de aumento na frequência em todas as faixas etárias, especialmente nas mais jovens, cujo impacto negativo sobre a qualidade de vida e a carga da doença aos sistemas de saúde é imensurável (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION - ADA, 2002). O diabetes apresenta alta morbi-mortalidade, perda importante na qualidade de vida e incorre em altos encargos para os sistemas de saúde. É uma das principais causas de mortalidade, insuficiência renal, amputação de membros inferiores, cegueira e doença cardiovascular em todo o mundo, incluindo doenças coronarianas e acidentes vasculares encefálicos. A maioria das consequências do diabetes resulta dessas complicações micro e macrovasculares (TOSCANO, 2004).

De acordo com a Associação de Diabetes Americana, existem 4 classificações de DM: tipo 1 ou insulino-dependente (DM1); tipo 2 ou não insulino-dependente (DM2); gestacional; e secundário a outras patologias.

Independente da classificação, a principal característica do DM é a manutenção da glicemia em níveis acima dos valores considerados normais. O retardo para o início do tratamento do DM pode acarretar no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, retinopatias, neuropatias autonômicas e periféricas, nefropatias, doença vascular periférica, aterosclerose, doença cerebrovascular, hipertensão, susceptibilidade a infecções e doenças peridontais (ADA, 2002).

O DM2 é caracterizado pela incapacidade da insulina exercer normalmente suas funções. A resistência a ação da insulina impede o desencadeamento de respostas enzimáticas, que envolvem a auto-fosforilação da tirosina-quinase para o substrato IRS-1 e IRS-2 (substrato do receptor de insulina 1 e 2), os quais fosforilam diversas proteínas, como o fosfatidilinositol 3 quinase (PI 3-quinase), que está associada a síntese e translocação dos transportadores de glicose (GLUT) para a membrana celular. Assim, no DM2, a translocação de GLUT-4 (transportador de glicose 4) e a captação de glicose pelas células ficam prejudicadas, levando a hiperglicemia crônica (ARSA et al., 2009).

A hiperglicemia se manifesta por sintomas como poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia e visão turva ou por complicações agudas que podem levar a risco de vida: a cetoacidose diabética e a síndrome hiperosmolar hiperglicêmica não cetótica. A hiperglicemia crônica está associada a dano, disfunção e falência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos. Estudos de intervenção demonstraram que a obtenção do melhor controle glicêmico possível retardou o aparecimento de complicações crônicas microvasculares, embora não tenha tido um efeito significativo na redução de mortalidade por doença cardiovascular (GROSS et al., 2002).

O DM tipo 2 é o maior problema de saúde pública em diversos países. Nos Estados Unidos aproximadamente 17 milhões de pessoas são diabéticas e

mais de 90% desses casos são de diabetes tipo 2. Entre os maiores contribuintes desta doença estão a obesidade e a falta de exercício. O diabetes era considerado uma doença de meia idade e idosos, mas, em razão das mudanças do estilo de vida agora e possível também detectar tal patologia em adolescentes. Decorrente da magnitude do problema, muitas pesquisas estão sendo direcionadas para a cura e prevenção da diabetes. Vários estudos estão relacionados a mudanças do estilo de vida, incluindo a dieta, drogas hipoglicêmicas e uso de nutracêuticos, como os polifenóis (JANLE et al., 2005).

2.10 Café e diabetes

Um estudo multicêntrico sobre a prevalência de diabetes mellitus no Brasil, apontou um índice de 7,6% na população entre 30-69 anos, atingindo cifras próximas a 20% na população acima de 70 anos. Cerca de 50% destas pessoas desconhecem o diagnóstico e 25% da população diabética não fazem nenhum tratamento (PAIVA et al., 2006).

Dados epidemiológicos indicam que ingerir grandes quantidades de café reduz a incidência de diabetes tipo 2. Em dois estudos de coorte com indivíduos saudáveis para examinar a relação entre o consumo a longo prazo de café e a incidência de diabetes mellitus tipo 2, foram constatadas associações significativamente inversas entre estes, independente de fatores como índice de massa corporal, tabagismo, atividade física e hábito alimentar (GARAMBONE; ROSA, 2007).

Pesquisa realizada com humanos para averiguar se o ácido clorogênico do café poderia modular a absorção de glicose, a secreção de insulina e de hormônios gastrointestinais concluiu que esse composto exerce ação reguladora no gradiente eletroquímico de sódio nas vilosidades intestinais, que é o

responsável pelo transporte ativo de glicose. Assim, um suposto efeito de alguns fenóis e o de retardamento da absorção da glicose deslocando seu sítio de absorção para segmentos mais distais do intestino (JOHNSTON; CLIFFORD; MORGAN, 2003).

O café contém muitos componentes que poderiam contribuir para a relação inversa com a incidência de diabetes tipo 2, pois contém quantidades substanciais de potássio, niacina, magnésio e antioxidantes, como os polifenóis. Tais componentes possuem efeito benéfico no metabolismo da glicose e na resistência insulínica, podendo o café então ter efeito benéfico na prevenção do diabetes (GARAMBONE; ROSA, 2007).

O mecanismo da relação inversa entre o consumo de café e a incidência de diabetes tipo 2 ainda não está bem elucidado, mas diversos mecanismos plausíveis têm sido sugeridos. Um dos possíveis mecanismos seria o de inibição da atividade da glicose-6-fosfatase pelo ácido clorogênico. Essa enzima regularia a glicemia, já que é responsável pela alta produção de glicose hepática em diabéticos. Sendo assim, a redução na hidrólise ou na atividade da glicose-6-fosfatase, levaria a redução na produção de glicose e, conseqüentemente, a uma menor glicemia. Outro suposto mecanismo seria a inibição dos transportadores de glicose dependentes de sódio no intestino também pelo ácido clorogênico. O café interferiria na secreção de peptídeos gastrointestinais conhecidos por seus efeitos hipoglicemiantes. Além disso, o café também contém magnésio, o que poderia interferir positivamente na tolerância a glicose (TUOMILEHTO et al., 2004).

Outros mecanismos de ação dos ácidos clorogênicos têm sido estudados em animais e *in vitro*, com o objetivo de clarificar os seus efeitos benéficos no metabolismo da glicose, entre os quais: efeito antioxidante, uma vez que o estresse oxidativo desempenha um papel no desenvolvimento de resistência à

insulina e diabetes tipo II; ação quelante de metais, modificando a composição mineral dos tecidos e melhorando a tolerância à glicose (ex: aumento das concentrações de magnésio no fígado); e inibição da formação de compostos N-nitrosos no trato gastrointestinal, que seriam tóxicos para as células beta do pâncreas (ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009).

O diabetes é uma síndrome plurimetabólica fundamentalmente caracterizada por perturbações no metabolismo dos hidratos de carbono e dos lipídeos. O estresse oxidativo, avaliado laboratorialmente por meio de índices de peroxidação lipídica e de oxidação protéica, encontra-se aumentado na DM 2, mesmo em doentes ainda sem graves complicações. Apesar dessa evidência de que o estresse oxidativo pode contribuir para a manifestação e progressão das complicações diabéticas, resta ainda esclarecer se o estresse oxidativo estará associado ou se é causa das modificações fisiopatológicas subjacentes à diabetes. Tal fato deve-se, sobretudo, a avaliação do estresse oxidativo ser feita de forma indireta e inespecífica. E, por isso, o mecanismo ou mecanismos que conduzem ao estresse oxidativo no diabetes permanecem por elucidar na sua totalidade. No entanto, tem sido sugerida a existência de mecanismos interligados, em que há produção acrescida de radicais livres como o superóxido e, simultaneamente, uma diminuição do status antioxidante global. Estes mecanismos incluem a glucooxidação, a formação de produtos avançados da glicação (AGEs), a ativação da via do poliol, as alterações da glutatona reduzida, as alterações do metabolismo do ascorbato, da inativação do óxido nítrico (NO) ou do metabolismo das prostaglandinas (LEMOS et al., 2007).

Os AGEs podem também ter origem exógena via dieta, sendo o café torrado uma das principais fontes. A via clássica da reação de Maillard, também denominada glicação, inicia-se com a formação de base de Schiff instável, gerada pela condensação de grupamento carbonila de açúcar redutor, como a

glicose, com um grupamento amina, oriundo, por exemplo, do aminoácido lisina, composto especialmente suscetível à reação. Na sequência, a base de Schiff sofre rearranjos, tornando essa estrutura mais estável, o produto de Amadori, modernamente conhecido como *early Maillard reaction products* (early MRPs) ou produtos iniciais da reação de Maillard. A hemoglobina glicosilada e a frutosamina são conhecidos exemplos de produtos de Amadori. Os produtos de Amadori gerados possuem grupos carbonilas reativos, que se condensam com grupos aminas primários acessíveis, dando origem aos produtos avançados da reação de Maillard – AGEs.

2.11 Radicais livres e atividade antioxidante

As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (HALLIWELL, 1994). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas. A presença dos radicais é crítica para a manutenção de muitas funções fisiológicas normais (POMPELLA, 1997).

Os radicais livres podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA) está relacionado com o seu sítio de formação (ANDERSON, 1996; YU; ANDERSON, 1997). Entre as principais formas reativas de oxigênio o O_2^- apresenta uma baixa capacidade de oxidação, o OH^\cdot mostra uma pequena capacidade de difusão e é o mais reativo na indução de lesões nas membranas celulares. O H_2O_2 não é considerado um radical livre verdadeiro, mas é capaz de atravessar a membrana nuclear e induzir danos na molécula de DNA por meio de reações enzimáticas (ANDERSON, 1996).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição à fatores exógenos. Contudo, na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar, em razão da maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (CERUTTI, 1991, 1994). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (SIES, 1993).

Os danos oxidativos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças, incluindo doenças degenerativas tais como as cardiopatias, aterosclerose e problemas pulmonares. Os danos no DNA causados pelos radicais livres também desempenham um papel importante nos processos de mutagênese e carcinogênese (POULSEN; PRIEME; LOFT, 1998).

A utilização de compostos antioxidantes encontrados na dieta ou mesmo sintéticos é um dos mecanismos de defesa contra os radicais livres que podem ser empregados nas indústrias de alimentos, cosméticos, bebidas e também na medicina, sendo que, muitas vezes, os próprios medicamentos aumentam a geração intracelular desses radicais (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células. Uma ampla definição de antioxidante é "qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz (SIES; STAHL, 1995).

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos. O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é o de impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com

o ferro e o cobre. Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre as proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas. Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Embora conhecido a muitos séculos, somente nas últimas décadas o câncer vem ganhando uma dimensão maior, convertendo-se em um evidente problema de saúde pública mundial. No Brasil, o cenário não tem sido diferente, o câncer é a terceira maior causa de mortes entre os brasileiros, representando 11,84% do total dos óbitos registrados no país (KLIGERMAN, 2000). O processo de carcinogênese é caracterizado por um estado oxidativo crônico, especialmente na promoção da doença, na maioria das vezes resultante da ação de radicais livres (ARAÚJO; MANCINI FILHO, 2006).

Segundo Duarte et al. (2005), cafés crus e torrados podem agir como antioxidante *in vitro* e *in vivo*, além de inibir a peroxidação de lipídeos, sendo os compostos fenólicos e os produtos da reação de Maillard os responsáveis por esta ação.

2.12 Café e oxidações biológicas

O café constitui uma bebida de grande popularidade, que é consumida mundialmente, com aroma e sabor característicos (PINTO, 2002). Em vista disso, numerosos estudos concernentes à sua segurança e às implicações na

saúde têm sido realizados. Muitas pesquisas têm demonstrado que os constituintes do café provocam várias respostas celulares e farmacológicas num largo espectro de sistemas biológicos. Há, entretanto, estudos epidemiológicos que contradizem os efeitos benéficos da ingestão do extrato do café torrado, isto é, da bebida do café (TANAKA et al., 1998). Algumas dessas controvérsias dizem respeito ao consumo de café e o aumento ou redução das oxidações biológicas (SOMOZA et al., 2003).

Nascimento (2006), em seu estudo observou uma redução progressiva da atividade antioxidante com o aumento no grau de torração. O café submetido à torração moderadamente clara apresentou atividade antioxidante máxima, enquanto o café com maior grau de torração apresentou a menor atividade antioxidante. Assim, as torrações mais claras seriam mais benéficas à saúde humana e mais eficazes na proteção das células contra os efeitos oxidativos.

Araújo (2007) avaliou a atividade antioxidante do extrato aquoso de grãos de café. Todas as amostras utilizadas na avaliação apresentaram um percentual de inibição da oxidação próximo ao do butil hidroxi tolueno (BHT), antioxidante sintético normalmente utilizado em alimentos industrializados.

Em um modelo de oxidação da LDL humana *in vitro*, Araújo e Mancini-Filho (2006), observaram um elevado poder antioxidante e consequente capacidade de reduzir ou evitar a aterogênese nesse sistema, com resultados semelhantes aos apresentados nos mesmos testes aplicados para as vitaminas E e C.

Segundo Duarte et al. (2005), as bebidas de café apresentam alta atividade sequestrante de radicais livres, a qual aumenta com o tratamento térmico do café cru para o claro, entretanto os graus de torração médio e escuro induzem diminuição da atividade sequestrante em comparação ao claro. Nesse mesmo estudo, as bebidas de café apresentaram atividade sequestrante de

radicais DDPH, que aumentou com a torração. A torração escura propiciou a proteção contra a lipoperoxidação *in vivo*. De acordo com os autores, esses resultados sugerem que a formação de antioxidantes induzidos pelo tratamento térmico poderia equilibrar a redução de compostos fenólicos naturalmente presentes no café.

Daglia et al. (2000), analisando a capacidade protetora da bebida de café contra a peroxidação de lipídios em fígado de ratos, observaram que as amostras apresentaram aumento na atividade protetora com a torração. Resultados semelhantes foram obtidos por Borrelli et al. (2002), que observaram a redução da peroxidação do ácido linoléico em cultura de células, com o aumento da torração. Del Castillo, Ames e Gordon (2002), avaliaram a atividade antioxidante de extratos de grãos de café submetidos a diferentes graus de torração, clara, média e escura. Nos cafés de torração clara e média, apesar da diminuição do conteúdo de ácidos clorogênicos, a atividade antioxidante das melanoidinas foi maior na torração média (45,2%) do que na torração clara (18,9%) em comparação ao café *in natura*. Entretanto, não aumentou a atividade antioxidante da torra escura em relação a torra média. Segundo os autores, a formação de melanoidinas com capacidade antioxidante ocorre somente em uma fase da torrefação de café. A torração escura propicia a degradação parcial de ácidos clorogênicos, o que leva à redução da atividade antioxidante em relação à torração média.

De acordo com Araújo (2007), durante o processo de torração ocorre rompimento das ligações entre os compostos fenólicos e as moléculas ligadas a eles, conferindo aos compostos resultantes uma estrutura com maior capacidade antioxidante.

Diversos estudos epidemiológicos têm demonstrado uma relação direta entre o consumo de café e a redução de alguns tipos de câncer. Resultados in

vivo evidenciaram e reafirmaram o efeito anticarcinogênico da bebida do café. Apesar de tais estudos revelarem uma relação inversa entre o consumo de café e a incidência de tumores, várias investigações em fase de conclusão têm evidenciado a ausência de benefícios, e até mesmo prejuízo da bebida do café sobre o desenvolvimento de diferentes tipos de tumores.

Hartge et al. (1983) estudaram 2.982 casos de câncer de bexiga, constatando que indivíduos do sexo masculino que consumiam mais do que 49 xícaras de café por semana apresentaram um risco significativo de desenvolvimento do carcinoma. Porém, os do sexo feminino que bebiam a mesma quantidade apresentaram uma diminuição no risco. Em estudo realizado por Sala et al. (2000) foram avaliados indivíduos não fumantes com câncer de bexiga e não foram encontradas evidências para uma associação de risco de câncer e consumo de café. A associação entre o consumo de café e o risco de câncer foi também examinada em um estudo com casos-controle, conduzido no Canadá, o risco de câncer de bexiga não foi atribuído ao consumo de café em indivíduos que nunca fumaram.

Em contrapartida, alguns trabalhos indicam que a torração propicia a formação de um composto denominado acrilamida, o qual apresenta uma potencial atividade cancerígena aos humanos.

A presença de substâncias tóxicas nos alimentos sempre constituiu perigo para os consumidores, sendo uma das preocupações dos organismos internacionais em relação à inocuidade alimentar. Em abril de 2002, um grupo de pesquisadores da Suécia reportou a presença de acrilamida (ACM) em alimentos ricos em carboidratos, quando assados, fritos ou torrados, sendo os cereais, as batatas e o café possivelmente suas maiores fontes de ingestão. A acrilamida é um monômero usado na síntese da poliacrilamida, empregada nas indústrias de plástico. Trata-se de um pó branco cristalino, solúvel em água,

etanol, metanol, dimetil éter e acetona, e insolúvel no benzeno. Com base nos estudos efetuados, obteve-se uma relação de alimentos com concentrações preocupantes de acrilamida (GERMANO; GERMANO, 2002).

O café, como muitos antioxidantes, exibe efeitos duplos *in vitro* que são altamente dependentes dos parâmetros tais como a dose, oxigênio atmosférico e compostos químicos do grão. Consequentemente, os dados obtidos nas propriedades pro- e antioxidante dos alimentos e das bebidas *in vitro* devem ser interpretados com cuidado e os resultados não são facilmente extrapolados para avaliar o impacto na saúde humana (STADLER et al., 1994).

Como todos os polifenóis dietéticos, o ácido clorogênico é comprovadamente um antioxidante. *In vitro*, este é capaz de sequestrar radicais livres e, de maneira eficaz, reduzir o nível celular de espécies reativas do oxigênio, aumenta a resistência das lipoproteínas a lipoperoxidação e inibe danos oxidativos ao DNA. *In vivo*, quando adicionado a dieta, inibe a formação induzida de câncer de língua e fígado em ratos. Porém, na maioria dos estudos essa substância funcional tem sido estudada isoladamente e, provavelmente, tais efeitos, diferentes ou não, existem quando esta é parte de um alimento, sendo necessários mais estudos, não somente do agente protetor, mas do alimento completo (GLEI et al., 2006). Por outro lado, tem sido mostrado que as propriedades antioxidantes da bebida do café são dependentes das condições de torração. Durante a torração, proteínas e carboidratos se complexam na reação de Maillard, resultando na formação de compostos químicos nitrogenados denominados melanoidinas. Algumas estruturas destes compostos foram identificadas como indutoras do aroma da bebida fresca do café (SOMOZA et al., 2003).

A estrutura da melanoidina denominada pronil-L-lisina foi identificada como um poderoso antioxidante formado durante a reação de Maillard. Foi

demonstrado que a pronil-L-lisina é capaz de modular a enzima antioxidante de fase II, a glutathione S-transferase (GST), em sistemas biológicos, o que pode ser interpretado como um parâmetro de capacidade antioxidante. Dados atuais sugerem que o balanço entre enzimas de fase I ativadoras de carcinogênese e enzimas de fase II detoxificadoras é crítico para determinar o risco individual de desenvolvimento de câncer. Deficiências humanas de enzimas de fase II, especialmente GST, têm sido identificadas e associadas ao aumento do risco de câncer de cólon. Aumento da atividade de enzimas de fase II GST *in vivo* tem sido demonstrado em experimentos cujos animais receberam grãos de café juntamente com alimentação e também em trabalhos onde ratos recebiam bebida regular do café (SOMOZA et al., 2003).

Embora existam ensaios químicos (FUKUMOTO; MAZZA, 2000) relativamente simples para avaliação da capacidade antioxidante, estes não são representativos das condições celulares do homem. Tendo em vista que antioxidantes assumem papel importante na medicina preventiva é necessário que as informações sejam obtidas a partir de sistemas biológicos. A avaliação da capacidade antioxidante empregando animais de laboratório é, em geral, de difícil execução e necessita de um número elevado de animais para assegurar resultados estatisticamente significativos. Já, os ensaios em células permitem a avaliação da atividade antioxidante de inúmeros compostos de forma rápida, econômica e reprodutível e os resultados obtidos podem ser mais facilmente extrapolados para o homem, do que os obtidos em ensaios químicos (SOARES et al., 2003).

3 METODOLOGIA

3.1 Matéria-prima e instalações

Foram utilizadas neste experimento, amostras de café (*Coffea arabica* L.), provenientes da safra 2007/08 do município de Varginha, sul de Minas Gerais.

Para a execução desse projeto, foram utilizadas as instalações dos laboratórios de Grãos e Cereais do Departamento de Ciência dos Alimentos (Ufla), biotério do Departamento de Medicina Veterinária (Ufla), laboratório de Solos e Nutrição de Plantas – Epamig, Lavras (Ufla), Polo de Tecnologia em Qualidade do Café da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e o Departamento de Alimentos e Nutrição da Universidade de Purdue, West Lafayette, EUA.

3.2 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada por meio do método oficial brasileiro de classificação do café pela bebida segundo a Instrução Normativa n. 8, de 11 de junho de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, conhecido como prova da xícara (BRASIL, 2003). Tal procedimento foi realizado por provadores treinados, os quais não tiveram conhecimento nem do aspecto do grão antes da torração e nem da sua origem. As amostras foram torradas em torrador Probat no ponto de torração claro. Em seguida, moídas em moinho Probat com controle da granulometria, adotando-se a moagem grossa. Após a análise foram selecionadas para o experimento as amostras classificadas como bebida mole.

3.3 Preparo da amostra

As amostras de café foram torradas em torrador de laboratório (Probat) com capacidade para 1kg, nos graus de torração claro, médio e escuro classificados por meio do sistema Agtron / SCAA Roast Classification Color Disk^R. Em seguida, os grãos torrados foram moídos (moedor elétrico Probat) em granulometria fina, empacotados em embalagens de polietileno/alumínio/polipropileno, selados a vácuo e armazenados a -20° C, até o uso.

Os grãos crus foram moídos em granulometria fina em moinho IKA A11 com auxílio de nitrogênio líquido.

3.4 Análise de cor

A cor do café torrado e moído foi analisada usando-se um colorímetro (Chomameter-2 Reflectance, Minolta^R, Osaka, Japan) acoplado a um processador de dados (OP-300). O instrumento foi padronizado contra um branco antes de cada leitura. A cor foi expressa em parâmetros da escala desenvolvida pela Commission Internationale d' Eclairage (CIE) L*, a*, b*. Foram realizadas três leituras de cada repetição, sendo utilizadas três repetições para cada amostra.

3.5 Preparo da bebida para as análises *in vitro* e *in vivo*

Para o preparo da bebida foram colocados 10g de café em pó em filtro de papel Whatman n. 3 e, em seguida, foram vertidos 100 mL de água destilada, a 90° C, sobre o pó contido no filtro. Todos os experimentos foram realizados com

bebida preparada no momento de uso. Para os ensaios biológicos a bebida foi mantida a temperatura ambiente até atingir 30 °C.

3.6 Análise de extrato aquoso

O método de extrato aquoso utilizado foi o citado por Trugo et al. (2001). Uma alíquota de 1 mL de cada extrato foi transferida quantitativamente para pesa-filtros e secada em estufa a 105°C até peso constante. A massa de cada extrato de café foi determinada em balança analítica, e a porcentagem de sólidos totais calculada por diferença entre a massa do extrato e a massa do resíduo, seco até peso constante.

3.7 Fração cinza

A fração cinza foi determinada por método gravimétrico, baseado na determinação da perda de peso do material submetido a aquecimento a 550 °C (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC, 2000).

3.8 Sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis totais foram determinados em refratômetro digital ATAGO PR-100, com compensação automática de temperatura automática a 25°C. Os resultados foram expressos em °Brix, segundo técnica AOAC (2000).

3.9 Acidez titulável

A acidez foi determinada por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N FC 0,98, tendo como indicador fenolftaleína (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

3.10 pH

As medidas de pH foram feitas por potenciometria em eletrodo de vidro a partir do mesmo extrato da acidez titulável, utilizando-se peagâmetro marca DIGIMED- DMPH-2, segundo AOAC (2000).

3.11 Açúcares totais e redutores

Os açúcares totais e redutores foram extraídos pelo método de Lane-Ennyon, descrito pela AOAC (1990), e determinados pela técnica de Somogy. Os açúcares não-redutores foram obtidos pela diferença entre os totais e os redutores. Os valores foram expressos em porcentagem.

3.12 Extrato etéreo

Na determinação do extrato etéreo foi utilizado o método de extração continua em aparelho de “Soxhlet”, utilizando-se como solvente o éter etílico. O processo é gravimétrico e está baseado na perda de peso do material submetido à extração com éter, ou na quantidade de material solubilizada pelo solvente. O éter usado no processo é aquecido até tornar-se volátil e, ao condensar-se, circula sobre a amostra em análise, arrastando toda a fração gordurosa e demais

substâncias solúveis em éter. Este é recuperado em outro recipiente, enquanto a gordura extraída é calculada por diferença de pesagem.

3.13 Proteína

O valor de proteína bruta foi obtido pelo método de micro “Kjeldahl”, por meio da determinação do nitrogênio total. Esse método consiste em três passos básicos: 1) digestão da amostra em ácido sulfúrico com um catalisador, que resulta em conversão do nitrogênio em amônia; 2) destilação da amônia em uma solução receptora; e 3) quantificação da amônia por titulação com uma solução-padrão.

3.14 Umidade

Para análise da umidade dos grãos foi utilizada a técnica gravimétrica com emprego de calor, baseando-se na determinação da perda de peso do produto submetido ao aquecimento em estufa (105°C) até peso constante e expresso em porcentagem (AOAC, 2000).

3.15 Fibra bruta

Para análise de fibra bruta foram utilizados 0,5g da amostra desengordurada segundo metodologia da AOAC, 2000.

3.16 Teor de minerais

A análise do teor de minerais presentes na amostra foram determinados segundo a técnica de Morgano et al. (2002). Os minerais cobre, zinco, ferro,

manganês, cálcio e magnésio foram determinados por digestão nítrico-perclórica; fósforo por colorimetria-tártarato de potássio e antimônio e gelatina; potássio por fotometria de chama; enxofre por turbidimetria com cloreto de bário; nitrogênio por semimicro kjeldahl digestão por ácido sulfúrico em seguida por destilação e titulação e boro por colorimetria por curcumina.

3.17 Compostos fenólicos

A concentração de fenólicos totais das bebidas foi determinada como descrito por Woisk e Salatino (1998). Amostras de 0,1 mL da bebida do café foram misturadas com 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído em água (1:10). Depois de 8 min, foram adicionados 0,4 mL de solução de carbonato de sódio a 4% (m/v) e os tubos foram mantidos no escuro à temperatura ambiente por 2 h. Decorrido o tempo, a absorbância foi determinada a 740 nm. A concentração de fenólicos foi calculada utilizando-se ácido gálico como padrão.

3.18 Determinação dos teores de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico

Para determinação de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico foram utilizados procedimentos de extração com água quente, segundo Vitorino et al. (2001) e análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Utilizou-se cromatógrafo da marca Shimadzu^R com coluna em fase reversa C-18. O sistema foi acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Shimadzu^R (modelo SPD-10A) conectado por uma interface (CBM-101) a um microcomputador para processamento de dados.

As condições de análise otimizadas foram:

- 1) Fluxo: 1 mL/min
- 2) Fase móvel: metanol, água e ácido acético (20:80:1)
- 3) Temperatura: ambiente
- 4) Comprimento de onda: 272 nm
- 5) Pressão: 130 atm

3.19 Determinação qualitativa dos principais compostos fenólicos presentes no café

Para identificação dos principais ácidos presentes nas amostras de café foi utilizado o método de cromatografia líquida de alta eficiência. Foram preparados padrões de 10 μ M, 5 μ M e 1 μ M, diluindo os compostos do café com etanol. Os compostos fenólicos do café foram separados com um gradiente binário, com fase móvel A (tampão fosfato, 50mM - pH 3,0) e fase móvel B (50% ACN, 20% MeOH, 30% AMF). A detecção utilizada foi eletroquímica definida com potenciais entre 200-700mV.

3.20 Análises microbiológicas

Para a realização das análises microbiológicas foram pesados 25g de cada amostra, as quais foram colocadas diretamente em frascos contendo 225ml de água peptonada (MERCK^R). A seguir, procederam-se as demais diluições decimais até 10³ utilizando água peptonada como diluente. Para detectar o número mais provável de coliformes totais foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos (serie de três tubos) empregando-se caldo Lauril Sulfato Triptose (MERCK^R) (48h/37°C). A partir dos tubos contendo caldo Lauril que apresentaram turvação e gás no interior do tubo de Durham, foi realizada a

repicagem, utilizando o caldo EC (Synth) (24h/44,5°C em banho-maria). Todas as análises foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos pela *International Commission on Microbiological Specifications for Foods - ICMSF* (1980).

3.21 Atividade sequestrante de radicais livres DPPH

Para a análise da atividade sequestrante de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) da bebida de café cada amostra foi diluída em etanol a 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Em 4 mL da amostra foi adicionado 1 mL de DPPH (0,5 mmol.L^{-1}) igualmente diluído em etanol. A mistura foi acondicionada em tubo de ensaio âmbar e agitada. Decorridos 30 min, foi realizada a leitura a 517 nm. A diminuição na absorbância indica atividade sequestrante de radicais livres. Os testes foram realizados em triplicata. A atividade sequestrante de radicais livres (%ASRL) foi expressa em porcentagem por comparação aos controles, BHT, ácido ascórbico e trolox, nas mesmas diluições das amostras de café, segundo a equação 1:

$$\% \text{ ASRL} = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100 \quad (1)$$

Onde, A_c : absorbância controle; A_t : absorbância teste (amostra).

3.22 Avaliação da atividade quelante de íons Fe^{2+}

A atividade quelante de íons Fe^{2+} foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Tang et al. (2002), com modificações. Uma alíquota de

1 mL das amostras foi transferida para tubos de ensaio âmbar de 25 mL. A esta alíquota foram adicionados 3,7 mL de água deionizada; 0,1 mL de FeSO₄ 2mM e 0,2 mL de ferrozina 5mM [3-(2-piridil)-5,6-bis-(4-ácido fenil sulfônico) - 1,2,4-triazina]. O padrão nesse teste, foi feito substituindo 1 mL da amostra por água deionizada. A mistura foi agitada e após 20 min feita a leitura a 562nm acertando o aparelho com o branco (neste caso substitui-se a amostra por EDTA 2%). A redução na absorbância indica atividade quelante de Fe²⁺ (Equação 2).

$$AQ (\%) = 100 - \frac{(A_p - A_t) \times 100}{A_p} \quad (2)$$

Onde, AQ é atividade quelante de Fe²⁺, A_p é absorbância do padrão, que não foi incubado com o café e A_t a absorbância teste (amostras).

3.23 Capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC)

O método TEAC consiste em monitorar a redução do radical ABTS⁺ produzido pela oxidação do 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS). O ABTS⁺ reage com um doador de átomos hidrogênio, como compostos fenólicos, sendo convertido em uma forma incolor de ABTS. A quantidade de ABTS⁺ reduzido, decorrente da reação com compostos fenólicos contidos na amostra é expressa em equivalentes de Trolox (curva padrão). Esse valor foi designado TEAC, capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

Para análise da capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC), foram misturados 5 mL de ABTS⁺ com 35 mL de água deionizada. Para cada extrato de café (verde, torração clara, torração média e torração escura), foram preparadas 4 diluições: 1/20, 1/40, 1/80 e 1/160. Em seguida, adicionou-se 0,29

mL de ABTS⁺ diluído em um prato com 90 poços e 10 µL das amostras diluídas. A leitura foi realizada após 6 minutos a 735 nm.

3.24 Análise de viabilidade celular (% de células vivas) – ensaio MTT

Ensaio MTT são ensaios colorimétricos realizados para medir a atividade de enzimas que reduzem o corante MTT. O reagente MTT que possui coloração amarela(3-4,5-dimetil-2-il-2,5 difeniltertrazolim brometol) é reduzido à púrpura nas mitocôndrias de células vivas. Essa redução só ocorre quando as enzimas redutase mitocondriais são ativas e, portanto, a conversão pode ser diretamente relacionada ao número de células viáveis (vivas). Quanto mais MTT (amarelo) é reduzido a púrpura nas mitocôndrias, maior o número de células viáveis na amostra.

Para esta análise, foram utilizadas células SH-SY5Y (neuroblastoma). As células foram contadas e distribuídas em placas com 96 poços (8 x 10⁵ células por poço). No dia seguinte, foi adicionado ácido retinóico e a solução permaneceu no meio de cultura por 5 dias. Após esse período, adicionou-se 0,25 e 50 µM de compostos de café na presença ou ausência de AGE-BSA (AGE = produtos avançados da glicação não enzimática; BSA = albumina sérica bovina). A placa foi então colocada em agitador por 1 hora. Após 3 horas a 37°C foi acrescentado 0,4 ml de SDS 20% (dodecyl sulfato de sódio) e 50% DMF (dimetilformamida). Três dias depois, o meio foi substituído por um contendo 0.5 mg/mL de MTT. Alíquotas de 200 µL foram retiradas, colocadas em placas de 96 poços e lidas a 570 nm.

3.25 Análise sensorial – teste de ordenação

A análise sensorial foi realizada por meio do teste de ordenação com dez provadores treinados previamente selecionados. Esse teste foi realizado no laboratório do Pólo de Tecnologia e Qualidade do Café na Universidade Federal de Lavras em sala bem iluminada. Foram utilizadas amostras de café bebida mole previamente classificadas pela prova da xícara torradas em três diferentes pontos (claro, médio e escuro). Foi realizada a extração da bebida de cada amostra utilizando-se 40g para 1 litro de água. A bebida foi colocada em copos plásticos de 50 mL previamente codificados com três números. Foi solicitado aos 10 provadores que, ao degustarem as três amostras da esquerda para a direita, registrassem de forma ordenada e crescente, classificando-as em primeiro, segundo ou terceiro.

3.26 Análises *in vivo* – ensaio biológico

Para a determinação do efeito das bebidas de café em ratos com síndrome metabólica e sadios, nos sinais característicos do diabetes melitus tipo 2 e seu efeito antioxidante *in vivo* foram utilizados ratos Zucker *fa/fa* (recessivos com síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2) e ratos Zucker *fa/+* ou *+/+* (dominantes - controle negativo – sem síndrome metabólica e sem diabetes) machos com 8 semanas de idade, provenientes do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais (CEDEME) – Unifesp, São Paulo. Os animais permaneceram durante todo o período experimental, à temperatura de 23° C, com período claro-escuro de 12 horas, recebendo ração comercial e água *ad libitum*, em gaiolas metabólicas individuais, metálicas e sem cama.

Todo experimento *in vivo* foi realizado no Biotério e Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras – MG com a devida aprovação do comitê de ética da própria instituição.

Os animais foram divididos em 4 grupos e distribuídos em 20 gaiolas (1 animal por gaiola, 5 animais por grupo), marcados individualmente e tratados de acordo com o seguinte protocolo:

Grupo 1 → Grupo sem síndrome metabólica controle – ratos Zucker fa/+ ou +/+ e gavage com água por 30 dias – Controle Normal (CN)

Grupo 2 → Grupo sem síndrome metabólica tratado – ratos Zucker fa/+ ou +/+ e café torração média (3,6 mL/Kg/dia) administrado por gavage durante 30 dias – Normal Tratado (NT)

Grupo 3 → Grupo com síndrome metabólica controle - ratos Zucker fa/fa e gavage com água por 30 dias – Controle Diabético (CD)

Grupo 4 → Grupo com síndrome metabólica tratado - ratos Zucker fa/fa e café torração média (3,6 mL/Kg/dia) administrado por gavage durante 30 dias – Diabético Tratado (DT)

A bebida de café recém-preparada foi administrada aos animais por gavage oral, uma vez ao dia, por 30 dias, assim como a água do controle. A dose utilizada foi de 3,6 mL/Kg/dia correspondendo ao consumo humano de 5 xícaras de 50 mL da bebida de café.

Após uma semana de adaptação, os animais foram submetidos a análises da glicemia capilar de jejum (12 horas), colesterol total e triacilgliceróis por punção da veia caudal dos animais. Foi realizada também a coleta da urina para análises de glicose, uréia e creatinina. As fezes foram coletadas para análise de gordura fecal. Esses procedimentos foram realizados uma vez por semana durante 4 semanas de estudo.

O controle de consumo de ração e ganho ponderal durante os 30 dias de experimento permitiram o cálculo do consumo médio diário e ganho de peso médio diário. Todos os índices foram calculados individualmente entre os animais, permitindo o cálculo do valor da média e do desvio padrão para cada grupo.

Decorrido o tempo, os animais foram anestesiados (com Tiopental - 35 mg/kg, via intraperitoneal), submetidos à exsanguinação por punção cardíaca, e retirada dos rins e fígado. O sangue foi centrifugado em seguida para separação do soro, o qual foi encaminhado para as análises bioquímicas. Os órgãos após pesados foram congelados com nitrogênio líquido e armazenados a -80°C para análise de peroxidação lipídica.

3.27 Análises bioquímicas

Os níveis de glicose, triacilgliceróis, colesterol total e frações (HDL-c, LDL-c e VLDL-c), creatinina, ácido úrico, aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT) foram determinados por método enzimático colorimétrico baseado na reação de Trinder, no soro de ratos. O sangue foi coletado nos animais em jejum de 8 horas.

3.28 Peroxidação lipídica

A fim de determinar se a bebida de café é capaz de reduzir o estresse oxidativo, foi analisada a peroxidação de lipídeos isoladas nos rins e fígados dos animais. A peroxidação de lipídeos foi determinada pela formação de substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com Winterbourn, Gutteridge e Halliwell (1981). Os produtos da peroxidação de lipídeos reagem com o ácido tiobarbitúrico produzindo um composto que apresenta absorvância a 532 nm.

Os rins e os fígados dos animais foram pesados e homogeneizados em homogeneizador de tecidos, em banho de gelo, após adição de PBS 0,1 M, pH 7,4 (volume equivalente a 4 vezes o peso fresco de tecido). O homogeneizado foi centrifugado a 3.000 g, por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante, mantido em banho de gelo, foi utilizado nos ensaios para análise da peroxidação lipídica.

Alíquotas de 500 µL do sobrenadante foram misturadas a 500 µL de ácido clorídrico a 25% (v/v), 500 µL de ácido tiobarbitúrico a 1% (p/v, em NaOH 0,05 M) e 45µL de BHT 2% (p/v, em etanol). A mistura foi aquecida em banho de água fervente, durante 10 minutos. Após o resfriamento, em banho de gelo por 10 minutos, foram adicionados 1,5 mL de butanol e as amostras agitadas vigorosamente em vórtex. A seguir, foram centrifugadas a 900g, por 5 minutos e a fração contendo butanol foi recolhida e utilizada para a determinação da absorvância a 532 nm. A concentração de TBARS foi calculada a partir da curva padrão de dialdeído malônico (MDA; 1,1,3,3 tetraetoxipropano). Os resultados foram expressos em nmoles de MDA/g de tecido.

3.29 Lipídeos fecais

As fezes dos diferentes grupos foram coletadas separadamente uma vez por semana para análise de conteúdo lipídico fecal, utilizando o método de "Soxhlet" (gravimétrico), que se baseia na perda de peso do material submetido à extração com éter, ou na quantidade de material solubilizado pelo solvente, conforme AOAC (2000).

3.30 Tratamentos e delineamento experimental

O tratamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com parcelas subdivididas.

Para os parâmetros extrato aquoso, umidade, fibras, cinzas, minerais, polifenóis, cafeína, trigonelina, ácido clorogênico e poder redutor utilizou-se 4 tipos de café (café cru, café torração clara, café torração média e café torração escura) e 5 repetições para cada tratamento.

As análises antioxidantes *in vitro* compreenderam 4 concentrações (25, 50, 100, 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), 4 pontos de torração (cru, claro, médio e escuro) e 3 repetições.

Para as análises *in vivo* foram utilizadas 2 tipos de bebida (água e café), 2 linhagens de animais (Zucker fa/fa e Zucker fa/+ ou +/+) e 5 repetições para cada tratamento.

3.31 Análise estatística

Após a obtenção dos dados, os mesmos foram submetidos à análise de variância. Para comparação das médias, foi utilizado o teste Tukey a 5% de significância. Para observar a influência da concentração das bebidas de café

sobre a atividade sequestrante de DPPH e atividade quelante de metais, foi utilizado o teste de Regressão. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SISVAR (Sistema para Análise de Variância), desenvolvido por Ferreira (2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise sensorial

A análise sensorial realizada por meio da prova da xícara foi feita em diversas amostras apenas para a seleção de café classificados como bebida mole, que foi submetido a três diferentes torrações e utilizados em todas as análises subsequentes.

4.2 Análise da cor

A utilização de coordenadas polares permite uma interpretação mais adequada de variações de coloração. As coordenadas polares do sistema CIE $L^*a^*b^*$ são: (i) L^* ou luminosidade; (ii) c^* ou croma, que fornecem uma medida da intensidade ou saturação da cor; e h_{ab} , que corresponde à tonalidade. Esses parâmetros podem ser calculados a partir dos valores medidos de L^* , a^* e b^* (equação 3):

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

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

(3)

Os resultados médios obtidos referentes aos cafés com torração clara, média e escura para a variável cor são apresentados na tabela 2.

Tabela 2 Análise da tonalidade dos grãos de café torrados em diferentes graus e moído, de acordo com os parâmetros da escala $L^* a^* b^*$.

Tipo de Torração	L^*	a^*	b^*	c^*	h_{ab}^*
<i>Clara</i>	36,46	12,41	10,98	16,57	41,50
<i>Média</i>	32,83	11,29	8,27	13,99	36,22
<i>Escura</i>	28,79	10,28	6,39	12,10	31,86
Média	32,69	11,33	8,55	14,22	36,53

Os resultados expressos na tabela acima permitem verificar que houve diferença nos valores de L^* a^* b^* e c^* entre todos os tratamentos analisados e que a tonalidade (h_{ab}) obtida foi decrescente de acordo como grau de torração, o que indica que a temperatura e o tempo utilizados permitiram que o grau de torração em cada tratamento fosse adequado. Tal resultado é de grande importância para que a composição química e as propriedades fisiológicas dos cafés amostrados possam ser comparadas com as de outros trabalhos.

4.3 Sólidos solúveis

A análise de sólidos solúveis em cafés torrados e moídos tem sido recomendada tanto para a verificação de fraudes, como para a averiguação do corpo da bebida, requisito apreciado pelos consumidores brasileiros. Vários trabalhos de pesquisa têm utilizado o refratômetro para medida dessa variável, porém, a técnica indicada para tal, pela legislação da portaria nº 377, de 26 de abril de 1999 (BRASIL, 1999) é a do extrato aquoso, sendo ambas utilizadas

nesse experimento para fins de comparação. O extrato aquoso do café torrado e moído representa a quantidade de substâncias capazes de se solubilizarem em água fervente.

Os teores médios de sólidos solúveis e extrato aquoso das bebidas estudadas estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 Teores médios de sólidos solúveis (g.100g-1) e extrato aquoso em bebidas de cafés preparadas com grãos verdes e torrados.

<i>Tratamentos</i>	Análises Físico-Químicas	
	<i>Sólidos Solúveis</i>	<i>Extrato Aquoso</i>
Café verde	25.50	30.60
Torração Clara	25.00	30.00
Torração Media	25.00	31.80
Torração Escura	25.00	30.40

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

De acordo com a tabela acima, pode-se observar que as bebidas de café analisadas não diferiram entre si tanto na análise de sólidos solúveis quanto na de extrato aquoso, indicando que foram comparadas amostras com o mesmo rendimento. Os teores médios de sólidos solúveis encontrados por meio da metodologia do extrato aquoso foram superiores, demonstrando assim maior confiabilidade como método de averiguação em bebidas de café.

Segundo Lopes (2000), a fração de sólidos solúveis de grãos torrados sofre variações de acordo como grau de torração, podendo haver um aumento de até 1% no teor de sólidos em razão da degradação da celulose, dos carboidratos e desnaturação das proteínas. Porém, no presente trabalho, tal diferença não foi encontrada, provavelmente por não ter sido utilizada a torração muito escura que provoca maior degradação de compostos (Tabela 3).

Todas as bebidas analisadas enquadraram-se dentro do limite padrão, o qual estipula um mínimo de 25 (g.100g⁻¹) de sólidos solúveis em cafês, sendo que valores abaixo podem indicar fraudes (LICCIARDI et al., 2005).

4.4 Análises físico-químicas

A torração provoca mudanças tanto físicas no grão, como modificações na forma, cor e tamanho, quanto químicas decorrentes principalmente das reações pirolíticas que provocam alterações nos compostos orgânicos do grão cru gerando produtos como: caramelos, ácidos voláteis, carbonilas voláteis e sulfetos (PIMENTA; VILELA, 2003).

Para a caracterização das amostras foram realizadas as análises de açúcares totais, açúcares redutores, extrato etéreo, proteína, fibra bruta, umidade, acidez, pH e cinzas. A composição físico-química das amostras de café estudadas está demonstrada nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 Composição físico-química de grãos de cafês crus e torrados em diferentes graus (g/100g-1).

<i>Tratamentos</i>	Análises Físico-Químicas				
	<i>Açúcares Totais</i>	<i>Açúcares Redutores</i>	<i>Extrato Etéreo</i>	<i>Proteína</i>	<i>Fibra Bruta</i>
Café verde	7.10 a	0.41 d	19.86 a	13.79 a	12.88 a
Torração Clara	0.65 b	0.43 c	17.38 b	13.45 a	10.48 b
Torração Media	0.60 c	0.52 b	16.50 c	12.92 a	9.94 b
Torração Escura	0.58 d	0.58 a	16.01 c	10.85 b	9.80 b

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

De acordo com a tabela acima é possível observar que a quantidade de açúcares totais diferiu entre todas as amostras analisadas, apresentando um

decréscimo no conteúdo com o aumento na intensidade da torração. Os açúcares participam, juntamente com os aminoácidos e proteínas, durante o processo de torração da reação de Maillard e caramelização, degradando-se e originando vários compostos voláteis (LOPES, 2000).

Já, o teor de açúcares redutores demonstrou-se superior nos grãos submetidos à torração escura (0,58) e inferior nas amostras verdes (0,41). Com a elevação da temperatura a sacarose sofre desidratação seguida de hidrólise a açúcares redutores (CARVALHO; CHALFOUN, 2000), o que explica o aumento encontrado. O conteúdo desse açúcar é de primordial importância para o *flavor* do café. A sacarose tende a degradar-se proporcionalmente ao grau de torração, sendo que a torração mais intensa proporciona o aparecimento de pentoses como a arabinose e ribose (MARIA et al., 1996).

De acordo com Franca, Mendonça e Oliveira (2005) a quantidade total de açúcares decresce à medida que a torração atinge o seu fim, fato verificado neste experimento. Os teores de açúcares redutores encontrados no presente trabalho são inferiores aos demonstrados por Lopes (2000) de 0,77% em diferentes cultivares de cafés torrados.

Os resultados obtidos para extrato etéreo apresentaram-se de acordo com o limite mínimo de 8% previsto pela Portaria nº 377, de 26 de abril de 1999. O ensaio que verifica o teor de extrato etéreo consiste na extração dos óleos essenciais presentes nos grãos de café, e que são responsáveis pelo seu aroma e o sabor. Portanto, a qualidade do café pode ficar comprometida, se o teor de extrato etéreo estiver abaixo do limite mínimo especificado no ensaio.

Maiores valores de extrato etéreo foram encontrados nos grãos de café verde (19,86) havendo uma redução significativa com a torração (17,38) e permanecendo constante a partir da torração média (16,50). Os triacilgliceróis do grão do café são pouco afetados pela torração, sofrendo apenas pequena

hidrólise e decomposição, com liberação de ácidos graxos e formação de produtos voláteis. Muitos lipídios são retidos nas estruturas celulares do grão, onde o dióxido de carbono formado a partir da decomposição de carboidratos os protege contra oxidações (FRANCA; MENDONÇA; OLIVEIRA, 2005).

A torração leva à desnaturação e à degradação das proteínas, que podem ser observadas a partir das mudanças que ocorrem na composição dos aminoácidos, com o aumento dos termoestáveis como alanina, ácido glutâmico, glicina, leucina, fenilalanina e valina, e à diminuição de outros, como arginina, cisteína, serina e treonina. Esses aminoácidos encontram-se envolvidos em uma série de reações que darão origem aos compostos que formam as substâncias voláteis responsáveis pelo aroma do café. Os resultados obtidos para proteína (Tabela 4) evidenciaram maior teor no grão de café verde em comparação com os torrados. Os valores encontrados para os grãos submetidos à torração média são inferiores aos demonstrados por Fernandes et al. (2000) e condizem com os teores encontrados por Lopes (2000) de 14,30 a 11,36%.

Estudos relatam que o consumo de fibra pode reduzir riscos de doenças nas populações, destacando-se a prevenção de doenças cardiovasculares e gastrointestinais, câncer de colón, hiperlipidemias, diabetes e obesidade, entre outras (CHAU; HUANG, 2004; TURANO, 2002).

Os resultados obtidos para a fibra bruta (Tabela 4) evidenciaram um maior teor de fibra nos grãos de café estudados, destacando-se o café verde (12,88) em relação aos grãos torrados. Porém, a análise de fibra bruta não revela o exato conteúdo de fibra que desempenha importante papel na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares e gastrintestinais, sendo importante a realização de análises complementares de fibra solúvel, insolúvel e totais para embasamento desses dados.

Tabela 5 Composição físico-química de grãos de cafés crus e torrados em diferentes graus.

<i>Tratamentos</i>	Análises Físico-Químicas			
	<i>Umidade</i> (g/100g)	<i>Acidez</i> (mL de NaOH.100g ⁻¹)	<i>pH</i>	Cinzas (g/100g)
Café verde	11.55 a	200.00 b	5.91 a	3.42 d
Torração Clara	6.60 b	250.00 a	5.37 d	4.06 c
Torração Média	3.21 c	250.00 a	5.55 c	4.27 b
Torração Escura	2.36 d	199.00 b	5.83 b	4.46 a

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

Observando-se a tabela acima pode-se notar que, conforme esperado, a umidade do grão de café verde encontrada (15,55) foi estatisticamente superior à apresentada pelos grãos torrados na tonalidade clara (6,60), média (3,21) e escura (2,36).

De acordo com Coelho e Pereira (2002), a acidez da bebida de café é uma das características utilizadas para a avaliação da qualidade, pois as fermentações que ocorrem nos grãos por meio de rotas bioquímicas variadas induzem à produção ácidos que depreciam a bebida. A fração ácida do café é constituída, basicamente, por ácidos não voláteis (oxálico, málico, cítrico, tartárico e pirúvico) e ácidos voláteis (acético, propiônico, valérico e butírico).

As torrações clara e média destacaram-se com um maior valor para esta variável (250,00 mL de NaOH.100g⁻¹). Apesar de haver formação de ácidos voláteis com a torração os ácidos não voláteis já existentes no café verde podem se decompor com o aumento do grau de torração, o que explica o resultado encontrado para a torração escura (200,00 mL de NaOH.100g⁻¹).

Os teores de pH encontrados foram superiores nos cafés verdes (5,91) seguidos daqueles expostos a torração escura (5,83), média (5,55) e clara (5,37)

respectivamente. As variações do pH com a torração, podem ser de muita importância na aceitação do produto pelo consumidor. Segundo Sivetz e Desrosier (1979), o pH ideal deve estar entre 4,95 e 5,20 tornando o café palatável, sem excesso de amargor ou acidez, valores esses inferiores aos encontrados neste estudo. Segundo Atencia (1985), o pH cai de 6,0 para 5,1 durante a torração devido à formação de diversos ácidos orgânicos a partir de carboidratos.

Os valores de pH para a torração clara e média estão entre os encontrados pela Organización Internacional del Café - OIC (1992), de 5,31 a 5,63 para amostras de cafés comerciáveis, e aos verificados por Lopes (2000), de 5,15 a 5,56 em diferentes cultivares de café arábica torrados. Já o pH da torração escura estão abaixo dos encontrados por estes autores.

Em relação ao resíduo mineral fixo (cinzas) evidenciou-se a presença de um teor mais elevado de minerais na torração escura. A fração determinada nos grãos torrados mostrou-se superior ao grão verde. Todas as amostras apresentaram um teor de resíduo mineral fixo inferior ao estipulado pela Portaria nº 377, de 26 de abril de 1999, a qual prevê um máximo de 5 g/100g.

Os resultados obtidos permitem sugerir que o grau de torração apresenta grande influência na composição química do grão de café, sendo necessária uma maior padronização deste critério pelas indústrias de comercialização, já que, os compostos químicos do café são responsáveis tanto pela parte sensorial da bebida quanto pela parte nutricional e seus efeitos fisiológicos no organismo do consumidor.

4.5 Teor de minerais

Os resultados da análise de minerais obtidos para as diferentes amostras de café encontram-se nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6 Teores médios de macrominerais em amostras de café antes e após três diferentes pontos de torração (g.100g⁻¹).

<i>Torração</i>	Macrominerais (g.100g⁻¹)					
	<i>Nitrogênio</i>	<i>Fósforo</i>	<i>Potássio</i>	<i>Cálcio</i>	<i>Magnésio</i>	<i>Enxofre</i>
Verde	2,08 d	0,49 a	3,66 c	0,11 b	0,19 d	0,165a
Clara	2,71 a	0,13 d	4,55 a	0,12 a	0,26 a	0,17 a
Media	2,67 b	0,25 c	4,56 a	0,12 a	0,24 b	0,17 a
Escura	2,44 c	0,37 b	4,26 b	0,12 a	0,23 c	0,16 a

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

Tabela 7 Teores médios de microminerais em amostras de café antes e após três diferentes pontos de torração (mg.100g⁻¹).

<i>Tratamentos</i>	Microminerais (mg.100g⁻¹)				
	<i>Boro</i>	<i>Cobre</i>	<i>Manganês</i>	<i>Ferro</i>	<i>Zinco</i>
Café verde	0,54 d	1,06 d	2,09 c	2,28 d	0,63 c
Torração Clara	0,94 a	1,34 a	2,97 a	2,33 c	0,64 c
Torração Media	0,80 b	1,29 b	2,21 b	2,83 b	0,73 b
Torração Escura	0,64 c	1,20 c	2,09 c	5,33 a	0,88 a

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

De acordo com as tabelas acima é possível observar que as amostras analisadas apresentaram predominantemente o elemento potássio e o nitrogênio em sua composição, sendo estes seus principais macroelementos, visto que os

outros foram encontrados em quantidades bem inferiores (fósforo, cálcio, magnésio e enxofre). Dentre os microelementos analisados o manganês e o ferro destacaram-se na composição, seguidos na ordem de abundância pelo cobre, boro e zinco. De todos os minerais apenas o fósforo destacou-se com quantidades superiores nos grãos verdes, para os demais analisados houve um aumento no seu conteúdo com a torração. O mineral enxofre não variou nas quatro amostras.

Em todas as amostras verdes foram obtidos níveis de cobre ($1,06 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$), zinco ($0,63 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$), manganês ($2,09 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$), potássio ($3,66 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$), cálcio ($0,11 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$) e magnésio ($0,19 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$) de acordo com os citados na literatura. Já os valores encontrados para o mineral ferro ($2,28 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$) foram inferiores aos citados ($3,0$ a $6,0 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$) (KRIVAN; BARTH; MORALES, 1993; MORGANO et al., 2002). Pode-se supor que o valor discrepante encontrado seja decorrente dos diferentes tipos de adubação ou pulverização nos cafezais com agrotóxicos e fungicidas. Além disso, regiões de cultivo que podem se diferenciar quanto ao clima, altitude e tipo de solo também podem alterar o conteúdo dos minerais.

A análise do conteúdo de minerais em grãos de café é de grande relevância para estudar seus efeitos bioativos no organismo, visto que alguns desses minerais podem interferir positivamente na tolerância à glicose, levando a bebida do café a uma associação com um menor risco de diabetes tipo II (GARAMBONE; ROSA, 2007).

Dois estudos de corte com indivíduos saudáveis para examinar a relação entre o consumo a longo prazo de café e a incidência de diabetes mellitus 2, observou uma associação significativamente inversa entre estes, independente de fatores como índice de massa corporal, tabagismo, atividade física e o hábito alimentar. Segundo os autores, o café contém muitos componentes que poderiam

contribuir para esta associação, entre eles o potássio e o magnésio. Tais constituintes podem ter efeito benéfico na prevenção do diabetes (por ações sinérgicas ou independentes), no metabolismo da glicose e na resistência insulínica (SALAZAR-MARTINEZ et al., 2004).

4.6 Compostos fenólicos

O teor de compostos fenólicos totais das diferentes bebidas obtidas por meio das quatro amostras foi determinado. Os valores percentuais médios das determinações dos compostos fenólicos totais dos cafés *in natura* e dos cafés torrados são apresentados na tabela 8.

Tabela 8 Conteúdo de compostos fenólicos (g eq. Ac. Gálico / 100g) de quatro tipos de bebida do café.

Tratamentos	Compostos Fenólicos
<i>Café verde</i>	4.83 a
<i>Torração Clara</i>	4.24 b
<i>Torração Média</i>	3.60 c
<i>Torração Escura</i>	2.94 d
Média	3,90

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

De acordo com os dados expressos na tabela 8, no grão torrado houve uma variação significativa, nos teores de fenólicos entre os distintos graus de torração analisados, sendo todos estatisticamente diferentes do grão verde. A degradação desses constituintes com a torração e combinação para formação de novos compostos pode ser considerada causa dessas diferenças. O café verde destacou-se com o maior teor de fenólicos (4,83%). Com a torração os cafés

apresentaram perdas de 12,21% para o grau claro, 25,47% para o grau médio e 39,13% para a torração escura.

Os resultados obtidos apresentam-se próximos ao intervalo de 4,31 a 6,18 % citados por Fernandes (2003), para cafés verdes da espécie *Coffea arabica* L. da região do sul de Minas Gerais.

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos nos vegetais incluindo frutos, legumes, grãos, gramíneas, verduras, sementes, ervas, especiarias e algas, podendo ser obtidos a partir de flores, folhas, raízes e cascas. Esses compostos constituem uma das principais classes de antioxidantes naturais. Karakaya e Tas (2001) avaliaram a atividade antioxidante e o conteúdo de fenólicos totais de alimentos comumente consumidos na Turquia. Os pesquisadores verificaram que tanto o café turco (fervido) quanto o café instantâneo tiveram uma correlação positiva entre o conteúdo de fenólicos e a atividade antioxidante.

A análise do teor de compostos fenólicos é de grande importância quando se pretende verificar atividade antioxidante de uma amostra. A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se, principalmente, às suas propriedades redutoras e estrutura química. Essas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (BASILE et al., 2005).

Sendo assim, como os teores de compostos fenólicos encontrados para os grãos torrados foram estatisticamente inferiores aos detectados nos grãos verdes, sugere-se que os cafés bebida mole *in natura* possuem a maior capacidade de atuação contra as oxidações biológicas do que os que sofreram tratamento térmico, e que esta atuação diminui à medida que o grau de torração aumenta.

4.7 Cafeína, trigonelina e ácido clorogênico

Os teores de trigonelina, ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico) e cafeína foram calculados a partir dos cromatogramas obtidos para cada amostra. Na Figura 2, apresenta-se o cromatograma obtido a 272 nm da solução padrão de trigonelina, ácido 5-cafeoilquínico (5 ACQ) e cafeína. Os tempos de retenção correspondente aos três compostos de interesse foram identificados: trigonelina (~3 minutos), ácido clorogênico (~16 minutos) e cafeína (~17 minutos).

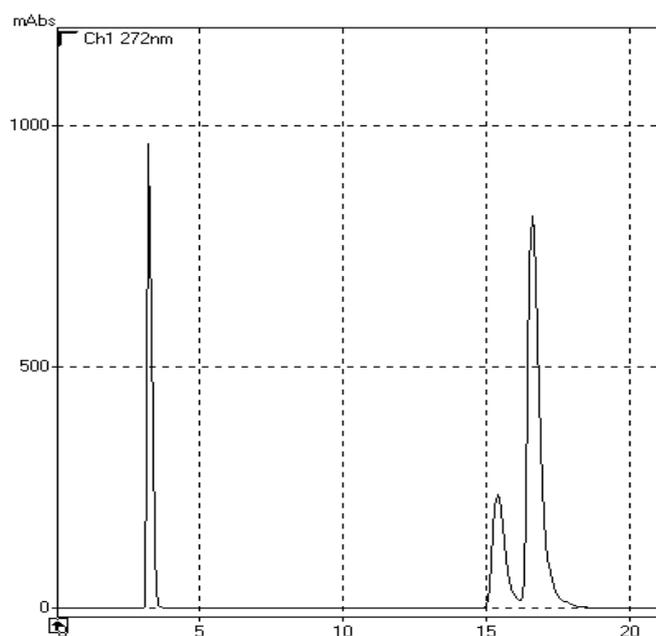


Figura 2 Cromatograma da solução padrão de trigonelina, ácido clorogênico e cafeína.

O prévio conhecimento da concentração de trigonelina permite estimar o potencial de degradação para formação dos compostos voláteis e do ácido nicotínico (AGUIAR et al., 2005). Durante a torração, a trigonelina sofre

desmetilação para formar o ácido nicotínico (niacina), que pode chegar a teores próximos a $20 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de café torrado. O ácido nicotínico é considerado como fator preventivo da pelagra e faz parte das coenzimas desidrogenase I e desidrogenase II, importantes em várias reações enzimáticas de oxidação (BOBBIO; BOBBIO, 2003). O conteúdo de ácido nicotínico em grãos verdes varia de 1,6 a $4,4 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, aumentando quase dez vezes com a torração (MACRAE, 1985).

Os teores de trigonelina em diferentes classes de bebida encontrados em cafés crus e torrados encontram-se na figura 3. A variação encontrada permaneceu na faixa de $0,56$ a $1,58 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de café. A quantidade de trigonelina extraída no grão cru foi de $1,58 \pm 0,02$ e $1,02$, $0,83$ e $0,56 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de café para as amostras torrados nos graus claro, médio e escuro, respectivamente. Monteiro e Trugo (2005) relataram valores de $0,2 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ para cafés brasileiros com torração média, os quais são bem inferiores aos obtidos no presente estudo.

Houve uma redução no teor de trigonelina após a torração. A bebida extraída do café submetido à torração escura apresentou a maior degradação de trigonelina, em torno de 65%, sendo possivelmente o padrão de bebida com maior formação de ácido nicotínico.

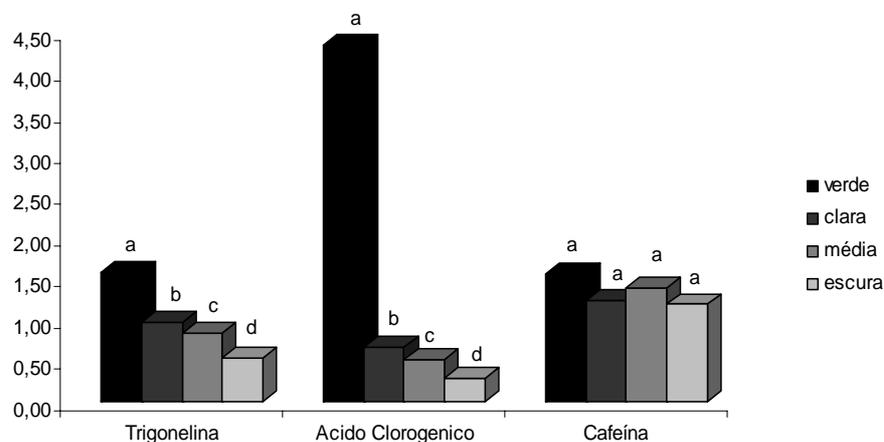


Figura 3 Teores médios de trigonelina (g.100g^{-1}), ácido clorogênico (g.100g^{-1}) e cafeína (g.100g^{-1}) em extratos de cafês antes e após três graus de torração. Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Tabela 9 Teores médios de trigonelina (g.100g^{-1}), ácido clorogênico (g.100g^{-1}) e cafeína (g.100g^{-1}) em extratos de cafês antes e após três graus de torração.

Tratamentos	Compostos não voláteis		
	Trigonelina	Ácido Clorogênico	Cafeína
Verde	1,58 +/- 0,02	4,30 +/- 0,09	1,52 +/- 0,03
Torração Clara	1,02 +/- 0,03	0,69 +/- 0,02	1,23 +/- 0,01
Torração Média	0,83 +/- 0,02	0,52 +/- 0,01	1,38 +/- 0,01
Torração Escura	0,56 +/- 0,02	0,31 +/- 0,02	1,16 +/- 0,04

Analisando os teores de ácido clorogênico encontrados (Tabela 09), observa-se que houve redução drástica à medida que os grãos foram torrados, portanto, o processo de torração do café influenciou na composição qualitativa e quantitativa de ácidos clorogênicos. Vários trabalhos atribuem funções

farmacológicas aos ácidos clorogênicos, principalmente a sua atividade como antioxidante (DUARTE et al., 2005).

Como o ácido clorogênico vem sendo indicado como compostos com potencial atividade antioxidante, os resultados apresentados na análise cromatográfica reforçam a hipótese proposta anteriormente de que os cafés torrados amostrados possuem menor poder de proteção contra danos oxidativos, porém, o processo de torração amplia a complexidade química do café e compostos fenólicos podem ser degradados, podendo, outros compostos antioxidantes serem formados, principalmente resultantes da reação de Maillard, fazendo com que a torração média apresente os maiores valores de atividade antioxidante (NICOLI et al., 1997).

Em pesquisa realizada por Iwai et al. (2004), o ácido 5-cafeoilquínico foi isolado do café e a atividade antioxidante desse ácido fenólico foi testada pelo método DPPH, comparando sua atividade com o ácido ascórbico e o α -tocoferol. O ácido 5-cafeoilquínico apresentou atividade superior a dos antioxidantes estudados. Esse composto contém em sua estrutura duas hidroxilas: uma na posição *meta* e outra na posição *para*. Segundo Moure et al. (2000), a presença de hidroxila nas posições *orto* e *para* conferem uma boa atividade antioxidante ao composto fenólico.

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).

Segundo Araújo (2007), o conteúdo total de ácido clorogênico em café arábica é de 5,5 g.100g⁻¹, valor este superior ao encontrado neste estudo para todos os tratamentos analisados (Figura 3).

Quanto à cafeína, o valor encontrado para o grão cru encontra-se dentro do que é estabelecido pela literatura que é de 0,5 a 2 g.100g⁻¹ para *Coffea arabica* L. (MELLO et al., 1992). A cafeína não participa de reações que ocorrem durante a torração, sendo quaisquer variações em sua concentração ocasionadas pela perda por arraste de vapor e pela perda de massa do grão durante a torração (VITORINO et al., 2001).

A cafeína foi o composto entre os estudados que apresentou maior estabilidade à torração. Os valores encontrados foram semelhantes ou superiores aos observados por Monteiro e Trugo (2005), os quais, estudando dez amostras de café comerciais do Brasil, encontraram variação de 0,8 a 1,4 %.

A cafeína é uma metilxantina contida nos grãos de café cujos teores, no caso da bebida, são influenciados pelo tipo do produto (torrado ou instantâneo, descafeinado ou comum) e o processo utilizado no seu preparo. Entre as funções farmacológicas comprovadas das metilxantinas no organismo humano são citadas a estimulação do sistema nervoso central e cardiovascular, o aumento da taxa metabólica e o efeito diurético. Alguns pesquisadores testaram o efeito antioxidante da cafeína na prevenção do dano oxidativo. A capacidade antioxidante foi avaliada pelo método de TBARS e de oxidação da LDL-c (lipoproteína de baixa densidade) humana. Os níveis de TBARS produzidos durante a peroxidação da LDL-c humana apresentaram uma redução significativa (LEE, 2000). A provável capacidade antioxidante da cafeína é exercida pelo mecanismo de captação de radicais hidroxil e oxigênio singlete e reação com elétrons.

4.8 Determinação qualitativa dos principais compostos fenólicos presentes no café

O perfil dos extratos de café obtidos por meio da cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica é demonstrado no cromatograma abaixo (Figura 4).

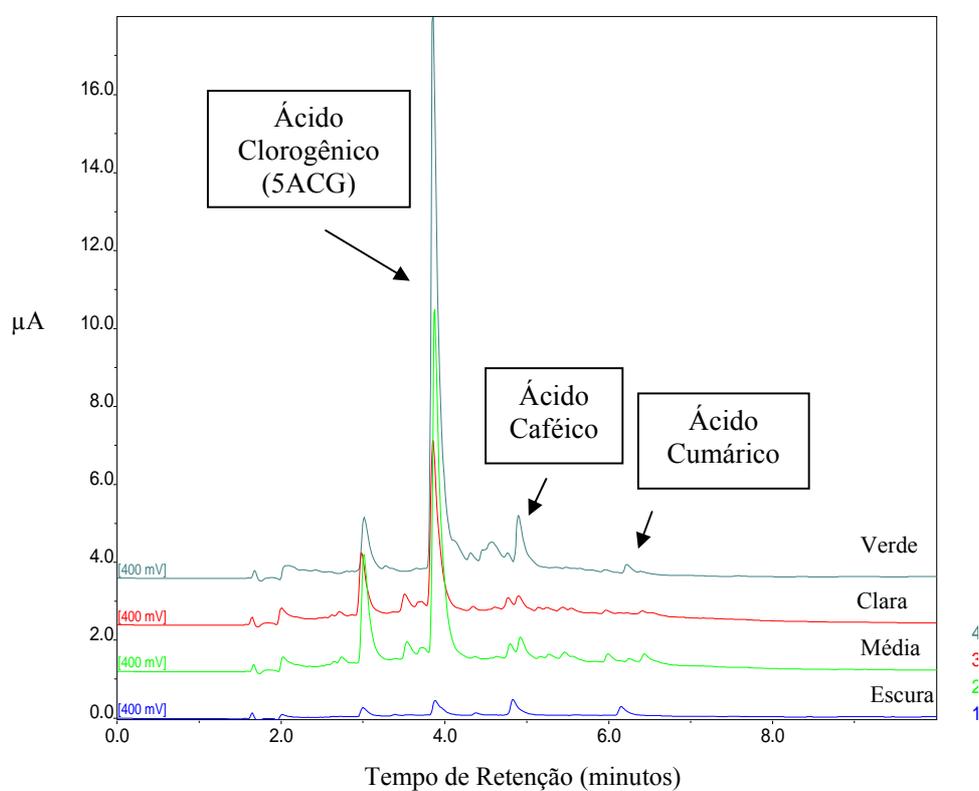


Figura 4 Análise qualitativa dos principais compostos fenólicos presentes em extratos de cafês antes e após três graus de torração.

Baseado nos tempos de retenção dos compostos foi determinado que os picos ilustrados acima correspondem aos ácidos clorogênico, caféico e cumárico

nos quatro extratos de café. O ácido clorogênico apresentou o pico mais proeminente em relação aos picos do ácido cafêico e cumárico, indicando sua prevalência na composição química do café. Esse resultado corrobora com o citado por Monteiro e Trugo (2005). Segundo os autores os compostos fenólicos são muito conhecidos por suas características antioxidantes *in vitro* e entre eles figuram os ácidos clorogênicos, os quais são considerados os mais importantes e os que se apresentam em maior quantidade no café.

Os ácidos clorogênicos são formados, principalmente, pela esterificação do ácido quínico com o ácido cafêico, ferúlico ou p-cumárico. A esterificação também pode ocorrer entre o ácido quínico e dois ácidos cafêicos ou, então, entre o ácido quínico mais o ferúlico (MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000).

Com relação ao grau de torração, a amostra verde destacou-se com os maiores picos para os três compostos fenólicos identificados, seguida pela amostra com torração média.

4.9 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas são fundamentais para se conhecer as condições de higiene em que os alimentos são preparados, os riscos que estes alimentos podem oferecer à saúde do consumidor e se os alimentos terão ou não a vida útil pretendida. Além disso, a análise laboratorial permite determinar o agente etiológico mais provável, no caso de um episódio de toxinfecção alimentar. Essas análises são indispensáveis também para verificar se os padrões e especificações microbiológicos, nacionais e internacionais, estão sendo atendidos adequadamente (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

No caso do café, a contaminação acontece, quase sempre, após a torrefação, pois o emprego de temperaturas elevadas elimina o risco de se

utilizar matérias-primas inadequadas. Porém, as condições higiênicas envolvidas durante o manuseio e o acondicionamento do produto final podem contaminá-lo.

Os resultados encontrados para as análises de coliformes totais e fecais neste estudo se encontram nas Tabelas 10 e 11. Essas bactérias são encontradas nas fezes de animais de sangue quente, inclusive o homem, e pode ser veículo de transmissão de doenças ou agente causador de problemas gastrointestinais.

Segundo a legislação vigente para café torrado e moído o limite máximo são 10 Coliformes a 45°C/g (BRASIL, 1999). Como é possível observar nas tabelas acima, apenas a amostra de café verde apresentou contagens acima do permitido pela legislação, porém tal contaminação foi completamente eliminada com o processo de torração, inclusive na amostra que sofreu a menor exposição a altas temperaturas (torração clara). Para a contagem de coliformes fecais a amostra de café verde, que havia apresentado resultados positivos para coliformes totais, obteve contagens negativas.

Conforme demonstrado, a contaminação sofrida pelo café durante todo o seu processamento pós- colheita pode ser destruída com a etapa da torração, portanto, um bom planejamento e implantação do local de torração, moagem e empacotamento, além de um eficaz treinamento dos funcionários, evita uma recontaminação deste produto.

4.10 Atividade sequestrante de radicais livres DPPH

Existem várias metodologias propostas para avaliação da atividade antioxidante de um composto natural ou artificial. Entre esses métodos encontra-se a análise da redução de radicais livres DPPH[•] (radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila). O mecanismo de redução de radicais livres DPPH envolve a doação de hidrogênio. A conversão do radical DPPH[•] em DPPH-H resulta em declínio relativamente rápido da absorbância. Os radicais livres DPPH[•], que inicialmente apresentam cor roxa por possuírem elétron livre, perdem esta cor quando um radical hidrogênio doado por uma molécula antioxidante entra em ressonância com a molécula de DPPH. Nessa reação, a espécie DPPH[•] é reduzida pelos constituintes antioxidantes presentes na amostra (AH). Os

radicais A[•] gerados reagem de várias formas resultando em novos compostos (NEBESNY; BUDRYN, 2003).

Na Tabela 12, estão representados os resultados da atividade sequestrante de radicais DPPH das bebidas de café. O butil hidroxi tolueno (BHT), o ácido ascórbico (AA) e o trolox foram utilizados como padrões.

Tabela 12 Análise da atividade sequestrante de radicais DPPH (%) em extratos obtidos de grãos café antes e após três graus de torração, em quatro concentrações.

Tratamentos	Concentrações (ppm)			
	25	50	100	200
<i>VERDE</i>	44,12 eB	44,89 eB	44,76 fB	51,57 eA
<i>T. CLARA</i>	41,72 fB	49,49 dA	53,44 dA	55,30 dA
<i>T. MÉDIA</i>	54,45 cB	55,36 cB	58,48 cA	59,13 cA
<i>T. ESCURA</i>	46,92dB	48,22 dB	48,35 eB	53,81 dA
<i>BHT</i>	65,83 bC	70,70 bB	73,44 bB	77,18 bA
<i>AA</i>	91,96 aA	92,46 aA	93,44 aA	92,21 aA
<i>TROLOX</i>	-	-	46,42 f	-

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes dentro da coluna e maiúsculas dentro e cada linha diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

- T.: torração

De acordo com a tabela acima, o ácido ascórbico destacou-se com a maior atividade sequestrante de DPPH em todas as concentrações. Entre as amostras de café analisadas, as torradas apresentaram a maior porcentagem de sequestro de radicais livres, chegando a 59,13% de atividade na concentração máxima testada (200 ppm) na torração média (Tabela 12). As concentrações apresentadas pelas

amostras de café, tanto verde quanto torradas, foram similares ao padrão Trolox, um análogo da vitamina E.

A atividade sequestrante de radicais DPPH foi dose-dependente para todas as amostras avaliadas e para o padrão BHT, ou seja, quanto maior a concentração das amostras maior a sua atividade antioxidante. Fato não apresentado apenas pelo padrão ácido ascórbico.

A atividade sequestrante de radicais livres dos cafés verdes foi menor que a apresentada por Naidu et al. (2007), que encontrou valores próximos a 80% em cafés verdes da espécie arábica. Araújo (2007) e Duarte et al. (2005), utilizando a mesma metodologia para avaliar a atividade sequestrante de radicais livres de amostra de café torrados, obtiveram valores na faixa de 82 % a 92,52 % para a concentração de 200 ppm, valores estes também superiores aos obtidos neste trabalho.

Os resultados da tabela 12 permitem verificar que nas concentrações de 25, 50, 100 e 200 ppm a atividade sequestrante de radicais livres foi significativamente superior nas amostras obtidas a partir dos grãos torrados, quando comparados aos extratos dos grãos *in natura*, destacando-se entre os torrados aqueles submetidos ao grau médio de torração. Stalmach et al. (2006) ao pesquisarem sementes de café também verificaram que a capacidade antioxidante da bebida preparada com grãos de café submetidos à torração média foi o dobro daquela de grãos verdes não torrados.

A potencialização da atividade antioxidante com a torração também foi observada no trabalho de Daglia et al. (2000) e Nicoli et al. (1997), sugerindo assim que outros compostos, que não os fenólicos, poderiam ser responsáveis pela atividade antioxidante em grãos de café submetidos à torração.

Segundo Araújo (2007), apesar da torração reduzir o conteúdo de polifenóis, que, como visto anteriormente são compostos com comprovada ação antioxidante, os produtos da reação de Maillard, especialmente as melanoidinas, são formados e estes também apresentam ação contra oxidações biológicas. Além disso, durante o processo de torração, as condições de tempo e temperatura aplicados podem romper as ligações entre os compostos fenólicos e as moléculas ligadas a eles, conferindo aos compostos resultantes uma estrutura com maior capacidade antioxidante.

A relação entre o grau de torração do café e sua capacidade antioxidante varia de acordo com a espécie de café (Arábica ou Robusta), condições da torração, procedimento utilizado para extração e teste de antioxidação (GARAMBONE; ROSA, 2007).

4.11 Avaliação da atividade quelante de íons Fe^{2+}

Na avaliação da atividade quelante, o ferrozine, um reagente cromogênico, torna a solução rósea de acordo com a quantidade de ferro disponível em solução. Assim, quanto menor a quelação de íons pela amostra, maior o número de íons disponíveis para reação com a ferrozina e maior será a absorbância. Os resultados do poder quelante estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 Análise da atividade quelante de íons Fe^{2+} (%) em extratos obtidos de grãos de café antes e após três graus de torração, em quatro concentrações.

Concentrações (ppm)	Tratamentos			
	T. Clara	T. Média	T. Escura	Verde
200	1,94 cD	4,4 bD	1,39 dD	10,34 aD
400	3,8 cC	6,03 bC	3,1 dC	22,72 aC
800	4,4 dB	9,6 bB	9,2 cB	32,01 aB
1600	14,00 dA	20,12 bA	14,70 cA	55,40 aA

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes dentro da linha e maiúsculas dentro de cada coluna diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

- T.: torração

Assim como no teste anterior, houve influência da torração no poder quelante das amostras ($p < 0,05$). Dentre as amostras torradas, a torração média se destacou com maior atividade quelante de íons Fe^{2+} .

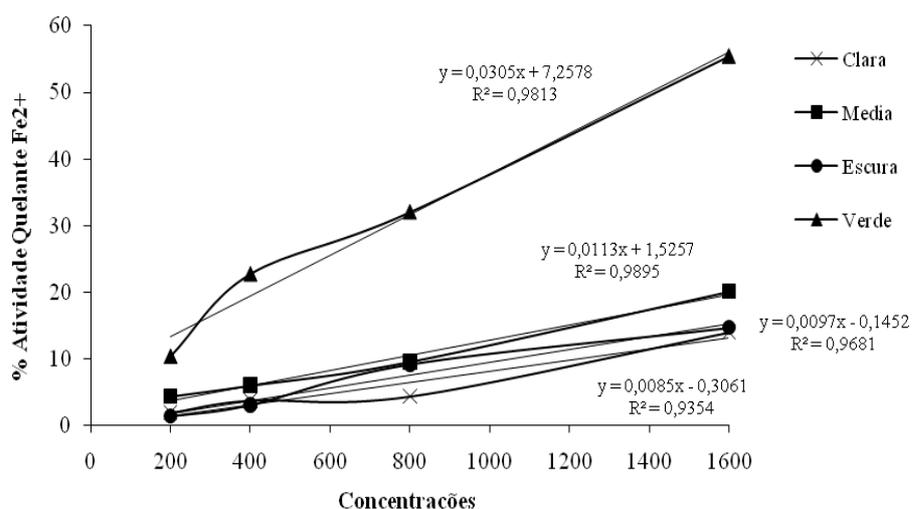


Figura 5 Porcentagem de atividade quelante de íons Fe^{2+} pelas amostras (extratos de cafés verdes e submetidos à torração clara, média e escura) em quatro diferentes concentrações.

Através da regressão, verificou-se que todas as amostras apresentaram poder quelante de metais dose-dependente, o qual atingiu o seu máximo com a amostra verde, apresentando 55,40% de atividade quelante (Figura 5).

Nessa análise, diferentemente do resultado obtido na análise da atividade sequestrante de radicais livres, os cafés verdes demonstraram maior atividade antioxidante que os torrados. Uma maior concentração de polifenóis nesse caso é favorável, pois um dos seus mecanismos de ação antioxidante de especial relevância é a capacidade de se ligar a metais, tais como: íons ferro e cobre, impedindo ou minimizando a participação desses metais em reações de Fenton. Os resultados apresentados estão de acordo com Santos et al. (2007), que

encontraram uma maior atividade quelante nas amostras de café verde, provavelmente em razão da presença de compostos fenólicos funcionais.

Diante dos resultados dos dois testes antioxidantes realizados, a bebida de café pode ser considerada como antioxidante e sua ingestão pode contribuir para a quelação de metais de transição o que pode levar à peroxidação lipídica, com consequente lesão às membranas plasmáticas e à oxidação do DNA, causando injúria ou morte celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

4.12 Capacidade antioxidante equivalente ao trolox

Alguns alimentos são especialmente ricos em substâncias que, *in vitro*, apresentam atividade antioxidante. Entre estes alimentos encontra-se a bebida de maior consumo em todo o mundo, o café (MADHAVI; DESHPANDE; SALUNKHE, 1996). A análise da atividade antioxidante da bebida do café comparada ao antioxidante trolox encontra-se na figura 6.

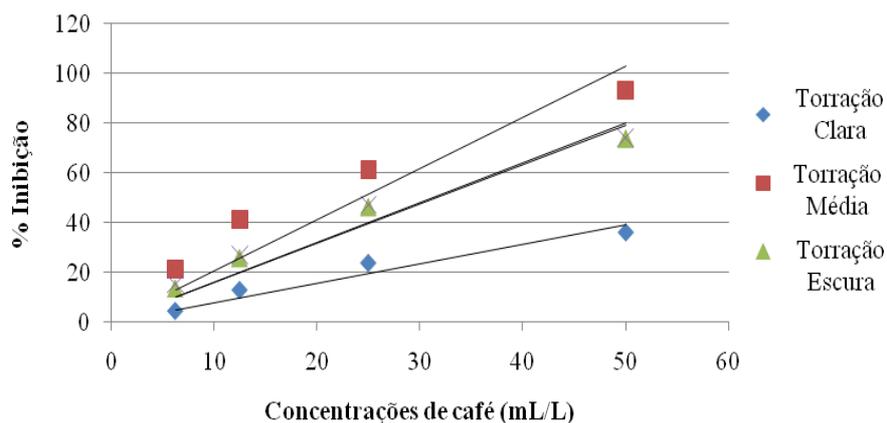


Figura 6 Efeito do extrato de café, obtido de amostras submetidas a três diferentes graus de torração, na absorção do radical ABTS+.

O gráfico acima representa a porcentagem do substrato ABTS⁺ reduzido que é expresso como porcentagem de inibição. O extrato obtido do café na torração média destacou-se com a maior porcentagem de inibição. Fato este que pode ser atribuído ao maior teor de compostos fenólicos nestas amostras, como demonstrado na figura 4. Todas as amostras demonstraram atividade antioxidante dose-dependente.

O estresse oxidativo desempenha um papel importante na patogênese do diabetes tipo 2. Este é causado pela produção de radicais livres, que são formados de forma desproporcionada no diabetes pela oxidação da glicose, glicação não-enzimática de proteínas, e a subsequente degradação oxidativa de proteínas glicadas (MARITIM; SANDERS; WATKINS, 2003). Essas consequências do estresse oxidativo podem promover o desenvolvimento de complicações do diabetes.

O valor de TEAC compara o efeito do padrão Trolox com o do extrato de café como um antioxidante em potencial. Todos os extratos de café apresentaram atividade antioxidante, destacando-se a torração média com a maior porcentagem de inibição. A ordem crescente de potencial antioxidante foi torração clara, escura, verde e média (Tabela 14).

Tabela 14 Análise da capacidade antioxidante equivalente ao trolox (TEAC) em extratos obtidos de grãos café antes e após três graus de torração (porcentagem de inibição).

Tratamentos	TEAC (%)
<i>Café verde</i>	14.76 b
<i>Torração Clara</i>	5.83 d
<i>Torração Média</i>	16.22 a
<i>Torração Escura</i>	12.78 c
Média	12,39

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

De acordo com os resultados obtidos nas análises de cromatografia líquida de alta eficiência, sugere-se que o ácido clorogênico foi um contribuinte chave para a atividade antioxidante encontrada no ensaio TEAC.

4.12 Viabilidade celular (% de células vivas) – ensaio MTT

As complicações vasculares do diabetes mellitus são a principal causa de morbimortalidade nos países desenvolvidos. Entre as teorias que explicam como a hiperglicemia crônica conduz aos danos celulares e teciduais observados

nessa doença, a formação dos produtos de glicação avançada, também chamados AGEs (do inglês, *Advanced Glycated End-Products*), é considerada uma das mais importantes. Os AGEs promovem estresse oxidativo, alterações morfofuncionais e aumento da expressão de mediadores inflamatórios (BARBOSA; OLIVEIRA; SEARA, 2008).

Os efeitos dos compostos do café sobre a viabilidade celular em células induzidas com AGE são apresentados na figura 7. A absorbância do MTT é proporcional à viabilidade celular, quanto maior a absorção de MTT, maior a viabilidade da célula.

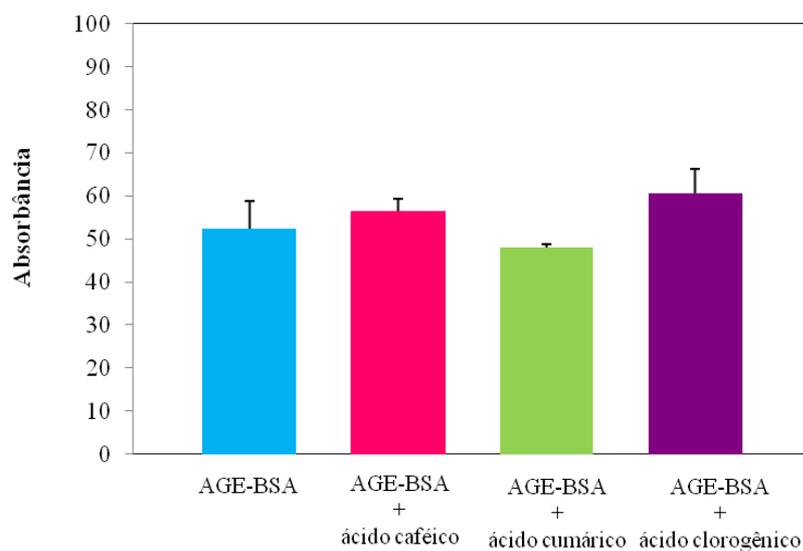


Figura 7 Efeito dos compostos fenólicos do café, na concentração de 50 μ M, na indução da morte celular por AGE.

De acordo com a figura acima, dentre os ácidos presentes na bebida do café testados o ácido cumárico demonstrou um efeito negativo sobre a viabilidade das células, enquanto que o ácido caféico e o ácido clorogênico mostraram efeitos positivos sobre a viabilidade celular. O ácido clorogênico demonstrou aproximadamente 10% de aumento na viabilidade celular em células induzidas com AGE. Esses resultados podem ser considerados benéficos, já que os ácidos que apresentaram efeito positivo na viabilidade celular, caféico e clorogênico, são os encontrados em maior quantidade na bebida no café (Figura 4).

4.13 Análise sensorial – teste de ordenação

As bebidas preparadas com as amostras torradas em três diferentes graus de torração foram avaliadas por provadores treinados os quais as ordenaram de acordo com sua preferência. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 Teste de ordenação realizado com amostras de café submetidas a três diferentes graus de torração com dez provadores treinados.

Provadores	Ordenação		
	<i>Primeiro</i>	<i>Segundo</i>	<i>Terceiro</i>
1	Média	Clara	Escura
2	Média	Clara	Escura
3	Clara	Média	Escura
4	Média	Clara	Escura
5	Média	Clara	Escura
6	Média	Clara	Escura
7	Clara	Média	Escura
8	Média	Clara	Escura
9	Média	Clara	Escura
10	Clara	Média	Escura

Uma vez comprovada a atividade biológica das amostras em estudo, seu consumo poderá representar uma forma de contribuir com a diminuição do risco da síndrome metabólica e de doenças crônicas não transmissíveis como, por exemplo, doenças cardiovasculares, câncer e diabetes mellitus. Entretanto, além do possível efeito benéfico à saúde que a bebida preparada com estas amostras de café possa ter, é necessário que ela tenha boa aceitação do ponto de vista sensorial. Frente a esses pressupostos apenas bebida classificada como mole na prova da xícara foi selecionada para o estudo como um todo e a amostra submetida à torração média, melhor classificada no teste de ordenação e maior capacidade antioxidante encontrada nos testes *in vitro*, foi selecionada para os ensaios biológicos.

4.14 Ganho de peso

O tratamento para a obesidade reduz significativamente o risco de desenvolvimento de algumas doenças, como o Diabetes Mellitus tipo 2. Diante deste contexto houve um rápido crescimento na pesquisa dos potenciais efeitos termogênicos de diversos compostos extraídos de plantas, como a cafeína do café (WESTERTERP-PLANTENGA; LEJEUNE; KOVACS, 2005).

A cafeína exerce um efeito sobre a descarga das células nervosas e liberação de alguns outros neurotransmissores e hormônios, tais como a adrenalina, agindo também na ativação da lipase hormônio sensível, uma enzima que mobiliza os depósitos de gordura para utilizar como fonte de energia em vez do glicogênio muscular (BALLONE, 2005; PETERSEN, CÔRTE-REAL & STILWELL, 2005). Dulloo et al. (1989), mostraram em seu estudo que a cafeína facilita a perda e a manutenção do peso e em longo prazo pode ser um fator benéfico para o emagrecimento de indivíduos com sobrepeso e obesidade.

Os resultados encontrados na avaliação semanal do peso dos animais estudados encontram-se na figura 8.

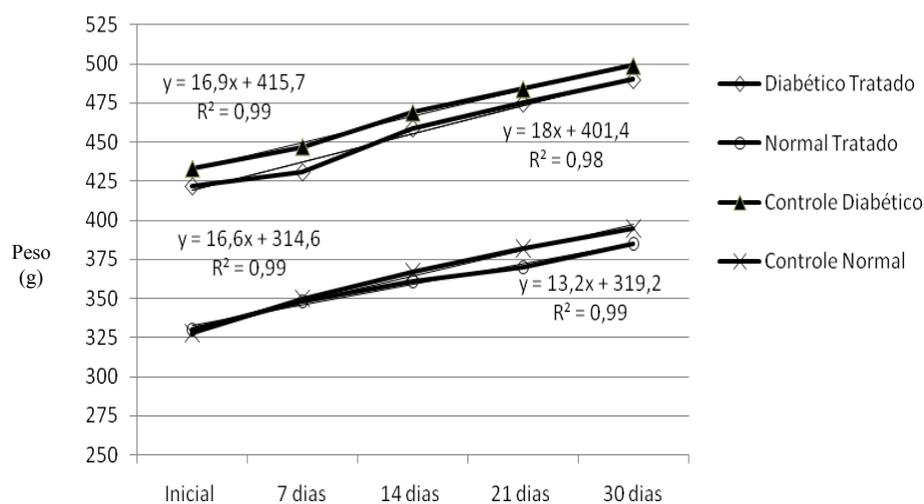


Figura 8 Peso em gramas aferido semanalmente, durante 30 dias, nos animais dos grupos diabético tratado, normal tratado, controle diabético e controle normal.

Segundo Salazar et al. (2004), em humanos, a administração aguda de cafeína estimula a termogênese e aumenta o gasto energético, o que pode facilitar redução de peso e manutenção. Tal efeito não foi observado no presente estudo para os grupos controle diabético e diabético tratado os quais não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, para a variável peso, em nenhum dos tempos analisados (Figura 8).

Existem evidências de que esse aumento da termogênese é dependente da quantidade de cafeína ingerida, podendo levar a um aumento no consumo diário de energia de aproximadamente 100 kcal (ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009). Provavelmente, o volume de café administrado nos animais, neste estudo, não

forneceu a quantidade suficiente de cafeína para induzir maior gasto energético e lipólise do tecido adiposo dos animais.

Tabela 16 Ganho de peso (g) de ratos Zucker tratados durante 30 dias de experimento.

Tratamento	<i>Grupos</i>		Média
	<i>Normal</i>	<i>Diabético</i>	
<i>Controle</i>	67,0 aA	66,0 aA	66,5
<i>Café</i>	55,0 bB	68,0 aA	61,5
Média	61,0	67,0	

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes dentro da linha diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Comparando o peso final dos animais com o peso inicial, observou-se que o grupo controle normal que recebia apenas água apresentou um aumento de peso de 67 g em média, enquanto o grupo normal tratado, o qual recebia bebida do café por gavagem, um aumento de 55 g em média. Já, o grupo controle diabético demonstrou um ganho de peso de 66 g e o grupo diabético tratado, 68g em média, como mostra a Tabela 16. Verificou-se que os animais normais (magros) que receberam água obtiveram maior ganho de peso do que os animais que receberam café, já, nos animais diabéticos (obesos) não houve diferença estatisticamente significativa para a variável ganho de peso. Fato este que corrobora com o citado por Salazar-Martinez et al. (2004), os quais relatam um maior efeito termogênico em mulheres magras do que em mulheres obesas.

4.15 Consumo alimentar, consumo de água e volume urinário

O consumo médio diário de dietas dos animais experimentais dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café é apresentado na Tabela 17.

Tabela 17 Consumo de ração (g/dia) de ratos Zucker dos grupos controle e tratados com bebida do café por 30 dias.

Tratamento	Grupos		Média
	Normal	Diabético	
<i>Controle</i>	20,13 +/- 0,20 bB	28,85 +/- 0,52 bA	24,49
<i>Café</i>	24,67 +/- 0,07 aB	37,24 +/- 0,35 aA	30,95
Média	22,4	33,04	

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

De acordo com a tabela acima, os animais diabéticos apresentaram maior consumo de ração em relação aos animais do grupo controle, sendo este resultado já esperado, visto que, um dos principais sintomas do diabetes mellitus tipo II é a presença de polifagia (aumento do apetite). Comparando os animais que receberam a bebida do café com aqueles que receberam apenas água por gavage foi possível observar que, independente da presença ou ausência do diabetes, o grupo tratado com café apresentou um maior consumo alimentar.

Tal resultado contraria Greenberg, Boozer e Geliebter (2006) os quais descrevem em seu artigo que a cafeína ou outros compostos do café são capazes de aumentar a saciedade, e, portanto, reduzir o consumo de alimentos. Constatação esta também realizada por Westerterp-Plantenga, Lejeune e Kovacs

(2005) em um estudo transversal com 76 humanos, correlacionando positivamente o consumo habitual de cafeína com maior saciedade.

O consumo médio diário de água dos animais experimentais dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café é apresentado na Tabela 18.

Tabela 18 Consumo diário de água (mL/dia) de ratos Zucker tratados com bebida do café por 30 dias.

Tratamento	Grupos		Média
	<i>Normal</i>	<i>Diabético</i>	
<i>Controle</i>	29,87 +/- 0,20 aA	28,23 +/- 1,03 bA	29,05
<i>Café</i>	27,90 +/- 0,83aB	38,99 +/- 0,17 aA	33,44
Média	28,89	33,61	

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

Apesar da sede intensa ser outro sintoma importante presente nos quadros de diabetes mellitus tipo II, nos grupos controle não houve diferença estatisticamente significativa para a ingestão de água. Já, os animais diabéticos tratados apresentaram uma maior ingestão de água (38,99) quando comparados ao controle tratado (28,23). De todos os grupos estudados o grupo diabético tratado destacou-se com a maior ingestão diária de água (38,99).

Os valores obtidos para o volume diário de urina são apresentados na tabela 19.

Tabela 19 Volume diário de urina (mL) de ratos Zucker dos grupos controle e tratados com bebida do café por 30 dias.

Tratamento	Grupos		Média
	Normal	Diabético	
<i>Controle</i>	5,47 +/- 0,24 aB	8,04 +/- 0,18 aA	6,75
<i>Café</i>	3,74 +/- 0,14 aB	10,46 +/- 0,06 aA	7,10
Média	4,60	9,25	

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

A presença de poliúria (aumento volume urinário) complementa os principais sintomas do diabetes mellitus tipo II, juntamente com a polidipsia (aumento sede) e a polifagia (aumento apetite), citados acima, e a perda de peso (SOUSA et al., 2003). Nos diabéticos, em razão da hiperglicemia, o limiar renal de reabsorção de glicose é excedido, resultando em glicosúria (eliminação de glicose na urina). A glicosúria causa uma diurese osmótica e, conseqüentemente, a poliúria, levando a uma perda profunda de água e eletrólitos. A perda de água pelos rins aliada a hiperosmolaridade causada pelos altos níveis de glicose no sangue, leva à redução da água intravascular, estimulando os receptores osmóticos do centro da sede no cérebro. Dessa forma, aparece a sede intensa (polidipsia).

De acordo com a Tabela 19, não houve diferença significativa no volume diário de urina entre os animais controle e tratados. Já entre os grupos diabéticos e normais pode-se observar diferença para este parâmetro, destacando-se com o maior volume diário de urina, conforme esperado, os ratos diabéticos.

Segundo Alves, Casal e Oliveira (2009) apesar do efeito diurético da cafeína, a ingestão da bebida do café provoca um ligeiro aumento da frequência

de micção, não se observando, contudo, alterações do volume total de urina eliminado diariamente. Segundo os autores, o pequeno aumento da produção de urina verificado após 3 h é compensado por uma diminuição durante as horas restantes do dia, o que explica o fato, de neste estudo, os animais tratados apresentarem o mesmo volume urinário diário dos animais controle mesmo ingerindo grande quantidade de café por dia.

4.16 Peso do fígado

Neste trabalho, a cor do fígado analisado e o aumento do peso deste órgão nos animais diabéticos sugere o acúmulo de gordura no fígado, provavelmente em razão do quadro de síndrome metabólica presente nesses animais. De acordo com a Figura 09, as médias de peso do fígado dos animais diabéticos que receberam apenas água (13,96 g), foram superiores ($p < 0,05$) a do grupo controle normal (10,44 g). Foi possível observar macroscopicamente durante a eutanásia a presença de esteatose hepática nos ratos diabéticos (Zucker obesos).

A Síndrome Metabólica além de compreender um espectro de alterações que incluem resistência à insulina, hipertensão arterial, obesidade e dislipidemia muitas vezes está associada a outras entidades clínicas como doença renal crônica e doença hepática gordurosa não alcoólica (CARVALHEIRA; SAAD, 2006).

A hepatomegalia decorrente da infiltração de gordura é descrita em aproximadamente 75% dos pacientes com a síndrome. A doença hepática gordurosa, o diabetes mellitus tipo 2 e a dislipidemia compartilham mecanismos patogênicos. É provável que a esteatose (acúmulo de gordura) seja mediada pela resistência à insulina, um solo comum a estas condições. Como resultado da

resistência à insulina, há uma maior síntese e retenção de triacilgliceróis no hepatócito, levando à esteatose macrovesicular (SASS; CHANG; CHOPRA, 2005).

Além disso, ratos Zucker obesos apresentam mutações no receptor de leptina levando à resistência à leptina (PRAGA, 2002). A leptina aumenta a expressão de citocinas fibrogênicas no endotélio glomerular e no interstício renal, facilitando a proliferação e a esclerose glomerular. Além disso, a leptina contribui para o acúmulo de gordura no tecido adiposo subcutâneo e reduz a deposição de gordura na região central do abdômen e em órgãos não adiposos como o fígado e os rins. Deste modo, a leptina atenua os efeitos deletérios da deposição de ácidos graxos livres nestes órgãos. Contudo, em situações de resistência às suas ações, ocorre acúmulo de gordura abdominal, aumento da produção de ácidos graxos livres, resistência insulínica e esteatose generalizada (PAULA, 2006).

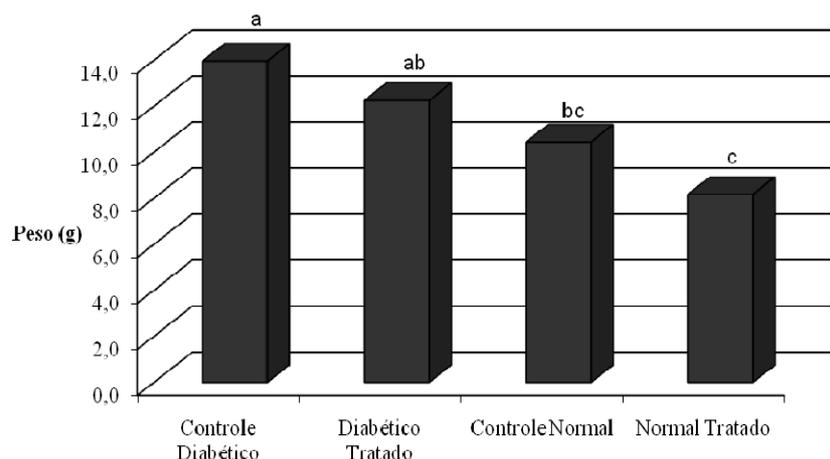


Figura 9 Peso (g) dos fígados inteiros dos animais pertencentes aos quatro diferentes grupos estudados. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Substâncias capazes de combater o estresse oxidativo são capazes de proteger o fígado do acúmulo indevido de gordura, portanto, as substâncias antioxidantes presentes nas bebidas de café podem contribuir para a diminuição do acúmulo de gordura hepática. Além disso, estudos em humanos verificaram também um aumento da lipólise após a ingestão de cafeína ou café (ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009).

Porém, neste estudo, apesar dos animais tratados apresentarem uma tendência a menor ganho de peso hepático não foram encontradas diferenças estatisticamente significativa entre os grupos diabéticos, controle (13,96 g) e tratado (12,25 g), e os grupos normais, controle (10,44 g) e tratado (8,17 g), indicando que a bebida do café não influenciou no acúmulo de gordura hepática.

4.17 Peso dos rins

O peso médio dos rins dos animais experimentais dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café é apresentado na Figura 10.

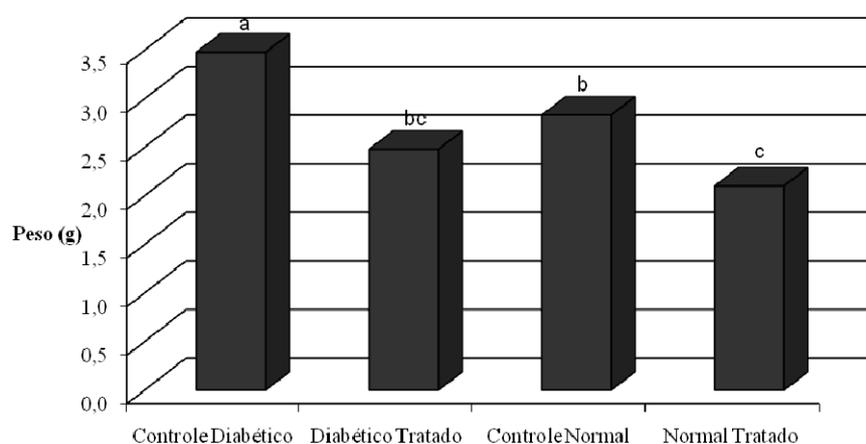


Figura 10 Peso (g) dos rins inteiros dos animais pertencentes aos quatro diferentes grupos estudados. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Conforme a figura acima, os ratos diabéticos que não receberam café tiveram um maior peso renal, com diferença significativa ($p < 0,05$), apresentando em média $3,48 \pm 0,25$ gramas, enquanto o grupo tratado apresentou uma média de $2,48 \pm 0,45$ gramas.

A alteração de gordura é observada mais frequentemente no fígado, já que este é o principal órgão envolvido no metabolismo de lipídios, apesar de poder ocorrer em outros órgãos, tais como: o coração, os músculos e os rins (KOTEISHI; DIEHL, 2001). O acúmulo de gordura no tecido renal, assim como

demonstrado no fígado, pode então explicar o aumento do peso avaliado nos animais diabéticos portadores de síndrome metabólica.

Além do acúmulo de gordura o aumento do peso renal nestes grupos podem ser decorrente da hipertrofia renal, uma adaptação estrutural e funcional decorrente da obesidade, observadas em estudos clínicos e experimentais, assim como o aumento da taxa de filtração glomerular e aumento do fluxo sanguíneo renal (KAMBHAM et al., 2001).

Em indivíduos obesos, ocorre elevação das necessidades metabólicas basais, com acúmulo de produtos do metabolismo celular. Conseqüentemente, a obesidade é acompanhada de alterações hemodinâmicas caracterizadas por aumento do fluxo sanguíneo regional, do débito cardíaco (DC) e da pressão arterial. Parte do aumento do DC ocorre em resposta à maior demanda metabólica do tecido adiposo, porém uma porção significativa é destinada a órgãos não-adiposos como o coração e os rins. Animais e seres humanos portadores de obesidade apresentam hipertrofia renal compensatória (HALL et al., 2003).

Entre as principais alterações metabólicas associadas ao dano renal no paciente com síndrome metabólica, citam-se o aumento da atividade glicocorticóide, os distúrbios do metabolismo do ácido úrico, a resistência à insulina, o aumento de atividade da angiotensina II (AII) e a hiperleptinemia (PAULA, 2006).

A formação dos produtos finais de glicação avançada nos quadros de diabetes mellitus tipo II também podem contribuir para as lesões renais. Segundo Vlassara e Palace (2002), as células tubulares renais acumulam altos níveis de AGEs. Estes aumentam a liberação do fator de crescimento β (TGF- β),

que estimula a síntese de componentes da matriz do colágeno, fenômeno este que deve contribuir, ao menos parcialmente, para o espessamento da membrana basal, característico da nefropatia diabética. O acúmulo de AGEs no colágeno da membrana basal, aliado à capacidade desses compostos de se ligarem a proteínas plasmáticas, pode também contribuir para alterações na filtração.

De acordo com a figura acima, para a variável peso dos rins, os grupos que receberam café apresentaram valores significativamente menores que os apresentados pelos grupos que receberam apenas água. É possível observar que o peso dos rins nos animais diabéticos tratados foi estatisticamente igual aos animais normais, ou seja, a bebida do café foi eficaz no combate a hipertrofia renal, atenuando o efeito das alterações metabólicas relacionadas a síndrome metabólica presente.

A ação benéfica da bebida do café encontrada corrobora com o resultado encontrado por Cheung e Lee (1988) os quais demonstraram que a ingestão da cafeína reduz o tamanho e o número dos adipócitos em roedores.

4.18 Análises bioquímicas

A prevalência do diabetes mellitus tipo 2 tem aumentado dramaticamente nas últimas décadas. Dieta e estilo de vida são fatores de risco primários determinantes para esta doença. Além do sobrepeso e da obesidade, outros fatores incluem sedentarismo, tabagismo e uma dieta rica em carga glicêmica e ácidos graxos trans e menor teor de fibra e ácidos graxos poliinsaturados. O consumo do café pode estar relacionado com diabetes, pois a curto prazo estudos metabólicos têm sugerido que a cafeína afeta a sensibilidade à insulina e o metabolismo da glicose (KEIJZERS et al., 2002).

Nas figuras abaixo, são apresentados os resultados obtidos com respeito às concentrações séricas de glicose, colesterol total e triacilgliceróis, e os níveis urinários de glicose, uréia e creatinina, onde pode-se observar que o tratamento com a bebida do café causou significativas alterações nos valores destes marcadores bioquímicos, demonstrando-se eficaz de uma forma geral no combate do desenvolvimento da síndrome metabólica e do diabetes tipo 2.

A glicemia média dos animais experimentais dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café é apresentada na Figura 11.

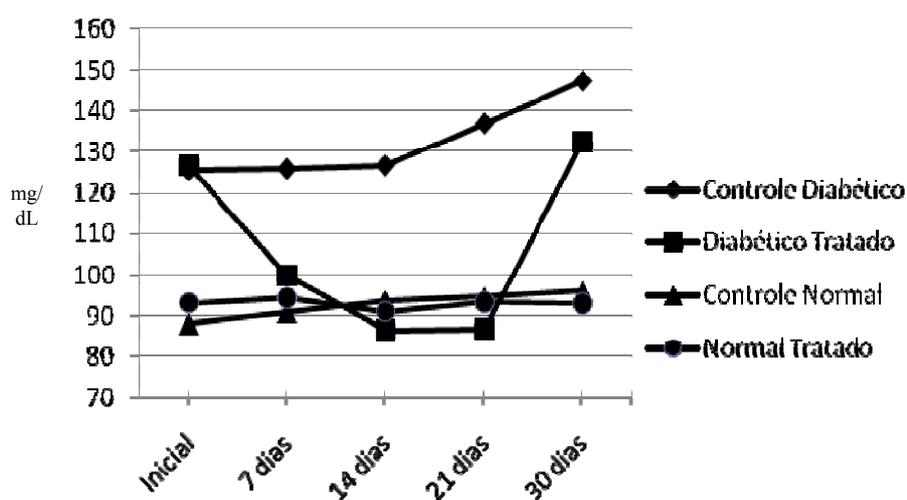


Figura 11 Glicemia média (mg/dL) dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferida semanalmente por 30 dias.

Na figura acima, pode-se observar que, conforme esperado, os animais diabéticos, tanto controle como tratados, apresentaram glicemia superior a 99 mg/dL. O grupo controle diabético apresentou média de glicose sanguínea de

125 mg/dL no início do experimento e média final de 147 mg/dL. Já, o grupo diabético tratado iniciou o experimento com glicemia média de 126 mg/dL e final de 132 mg/dL. Os animais normais, tanto controle quanto tratados, apresentaram valores de glicose entre 88 e 96 mg/dL durante os 30 dias analisados.

No presente estudo, a bebida do café administrada aos animais diabéticos demonstrou um efeito hipoglicêmico extremamente relevante no período de 21 dias. Porém, após este período a glicemia dos animais atingiu valores superiores aos iniciais. Tal fato provavelmente se deva ao desenvolvimento de um quadro de resistência ao efeito hipoglicêmico dos compostos bioativos presentes na bebida do café no organismo dos animais ou ao fato do efeito positivo da cafeína e do ácido clorogênico no metabolismo da glicose e na resistência insulínica só ocorrer a curto prazo. Para Greer et al. (2001), os efeitos agudos da cafeína na sensibilidade à insulina são provavelmente transitórios e não podem ser extrapolados para o uso a longo prazo.

Em estudo realizado por Sotillo e Hadley (2002), com ratos obesos, hiperlipidêmicos e resistentes à insulina, o ácido clorogênico também não promoveu a manutenção da hipoglicemia, mas reduziu significativamente a resposta glicêmica à sobrecarga de glicose. Os resultados sugerem que o ácido clorogênico não estimulou a liberação da insulina, mas agiu como agente anti-hiperglicêmico, com ação similar a de drogas como a metiformina que aumentam a sensibilidade à insulina e não a sua liberação. Nesse mesmo trabalho, as concentrações séricas de colesterol diminuíram em 44% e as de triacilgliceróis sérico e hepático em 58% e 24%, respectivamente, comparadas

com o mesmo grupo de ratos antes de receber infusão venosa de ácido clorogênico.

De acordo com a figura 12, no presente estudo também foram encontradas reduções extremamente significativas nas concentrações séricas de triacilgliceróis nos grupos tratados com bebida de café. Foi observada uma diminuição de aproximadamente 40% no grupo diabético tratado. Já, para os valores de colesterol, apesar de ter ocorrido uma redução de apenas 5% na concentração sérica, é importante notar que a bebida do café administrada evitou a elevação do colesterol sanguíneo como ocorreu no grupo controle (Figura 13).

Também é possível notar que mesmo nos grupos de animais com níveis de colesterol e triacilgliceróis normais houve uma redução na concentração sérica destes exames bioquímicos nos grupos tratados com a bebida.

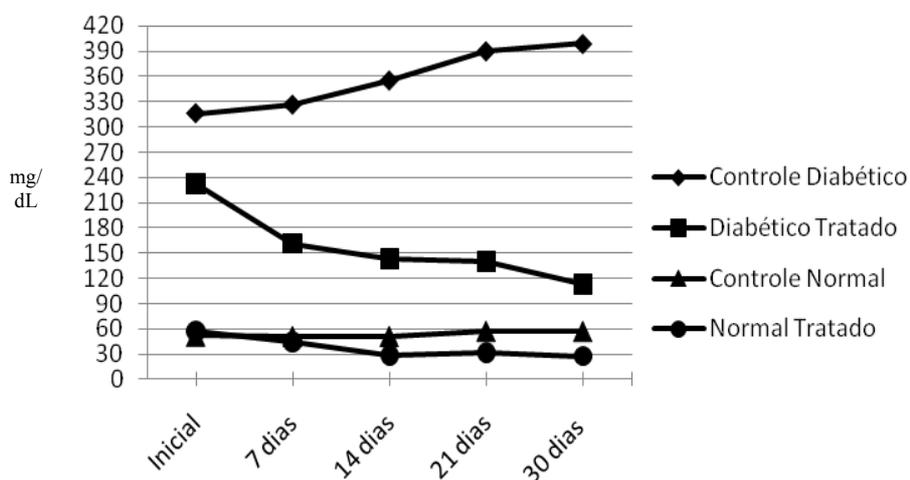


Figura 12 Níveis médios de triacilgliceróis (mg/dL) dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias.

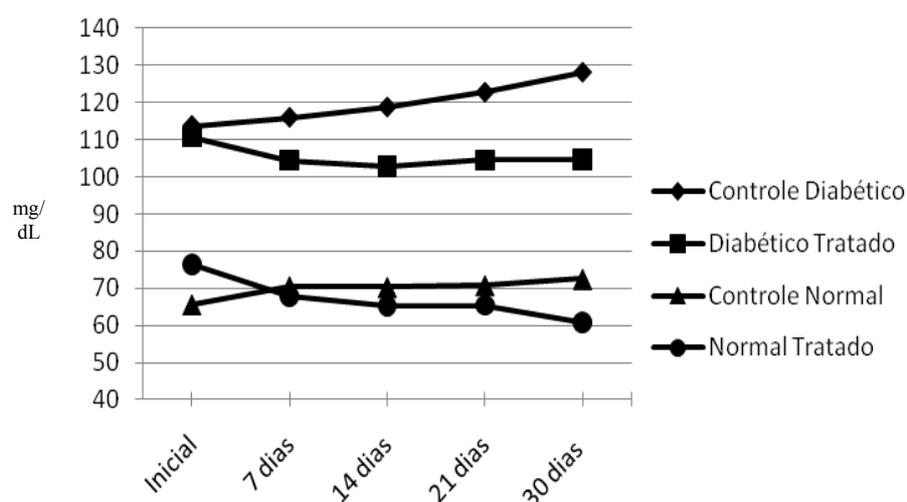


Figura 13 Níveis médios de colesterol (mg/dL) dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias.

Estudos realizados por Ito et al. (1998) não encontraram alterações significativas nos níveis séricos de HDL-c, em homens após a ingestão de 5 copos de café por dia, durante quatro semanas. Yukawa et al. (2004) demonstraram redução do colesterol total, enquanto os níveis séricos de triacilgliceróis e HDL-c não apresentaram alterações significativas após a ingestão por 4 semanas de 150 mL da bebida de café preparada com 8 g de café-arábica em 150 ml de água fervendo.

No Japão, em pesquisa realizada com homens jovens consumindo café e água mineral como bebida controle, a ingestão do café resultou na diminuição acentuada da LDL-c, além de originar importante redução na susceptibilidade da

LDL-c à oxidação. Sugerindo que o consumo desta bebida poderia proteger contra a aterosclerose, diminuindo os lipídeos sanguíneos e a oxidação da LDL-c (HAMMAR et al., 2003).

Neste trabalho, foi observada uma redução nos níveis de todas as frações do colesterol sérico analisadas (LDL-c, HDL-c e VLDL-c) em todos os ratos tratados com a bebida filtrada de café (Figura 14). Na patogênese da aterosclerose a HDL-c apresenta um importante papel protetor, enquanto o aumento do colesterol, à custa da LDL-c, promove a aterogênese. Diante disso, o efeito benéfico apresentado pela bebida do café na redução da LDL-c (lipoproteína de baixa densidade) foi contrabalanceado com a redução concomitante da HDL-c (lipoproteína de alta densidade). Não é possível saber se a bebida do café reduziu os teores de lipoproteínas LDL-c e VLDL-c nos animais diabéticos ou se apenas protegeu os organismos contra o aumento destas.

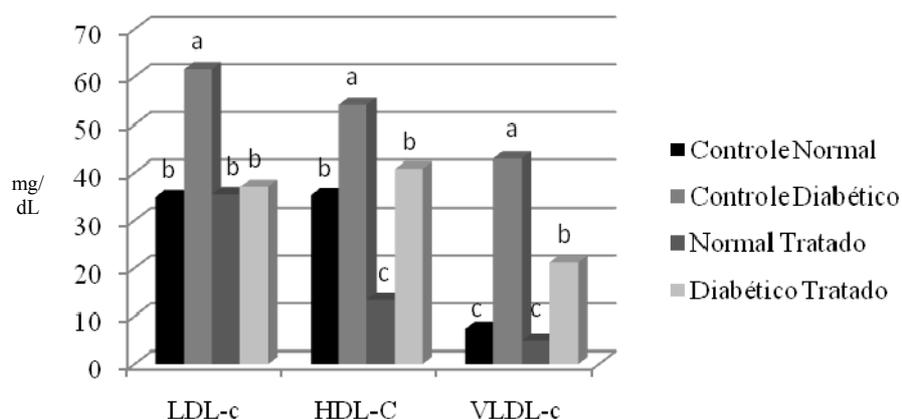


Figura 14 Níveis médios de LDL-c, HDL-c e VLDL-c (mg/dL) no sangue de ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café por 30 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

O grupo controle diabético destacou-se para todas as variáveis com as maiores concentrações séricas e o grupo normal tratado com os menores níveis. É possível observar na figura acima que nos animais considerados normais, ou seja, sem a presença de diabetes e síndrome metabólica, o grupo tratado apresentou médias sanguíneas mais baixas do que o controle nas análises de HDL-c e VLDL-c.

Contrariando o presente estudo uma meta-análise de 14 ensaios controlados randomizados permitiu concluir que o consumo de café fervido aumentava de forma dependente da dose a concentração sérica de LDL-c, enquanto que o consumo de café filtrado praticamente não alterava este parâmetro (JEE et al., 2001).

Também conhecida por transaminase glutâmico oxaloacética (TGO), a aspartato aminotransferase (AST) é encontrada em altas concentrações no citoplasma e nas mitocôndrias do fígado, músculos esquelético e cardíaco, rins, pâncreas e eritrócitos (glóbulos vermelhos do sangue), quando qualquer um desses tecidos é danificado, a AST é liberada no sangue. Como não há um método laboratorial para saber qual a origem da AST encontrada no sangue, o diagnóstico da causa do seu aumento deve levar em consideração a possibilidade de lesão em qualquer um dos órgãos onde é encontrada (NOMPLEGGI; BONKOVSKY, 1994).

A alanina aminotransferase (ALT), enzima conhecida também por transaminase glutâmico pirúvica (TGP), catalisa a reação: aspartato e alfa-queroglutarato, resultando em piruvato e glutamato. É encontrada em altas concentrações apenas no citoplasma do fígado, o que torna o seu aumento mais específico de lesão hepática (RUHL; EVERHART, 2005).

Conforme já citado anteriormente, danos hepáticos e renais são complicações frequentemente presentes em pacientes portadores da síndrome metabólica e do diabetes mellitus tipo II. Diante disso, a atividade das enzimas TGP e TGO foram dosadas em todos os grupos experimentais e são apresentadas na Figura 15.

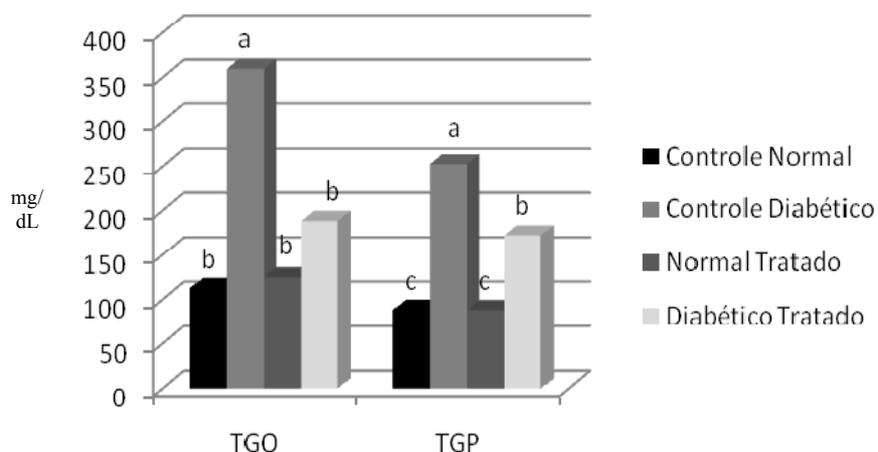


Figura 15 Atividade das enzimas TGO e TGP em ratos Zucker controle e tratados com a bebida do café por 30 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

De acordo com a figura acima, os grupos que receberam café apresentaram níveis séricos das enzimas TGO e TGP significativamente menores que os apresentados pelos controles positivo e negativo. É possível observar que embora a atividade enzimática da AST e da ALT tenha reduzido significativamente no grupo diabético que recebeu doses diárias de café comparado ao controle diabético, estas ainda permaneceram mais altas que no grupo controle normal.

Contrariando os resultados encontrados neste trabalho, Urgert, Shulz e Katan (1995), afirmaram que extratos de café aumentam os níveis séricos das transaminases AST e ALT em humanos, sendo esta elevação provocada pelos dipterenos cafestol e kaveol. A não ocorrência de tal fato neste estudo pode ser

explicada pelo preparo das bebidas que seriam administradas aos animais, pois as mesmas foram preparadas com filtro de papel, os quais segundo Cavin et al. (2002), não permitem a passagem total de cafestol e kaveol para o extrato.

Chen et al. (2004), analisando 6.000 mil participantes, verificaram que o risco de desenvolvimento de doença renal crônica é diretamente proporcional ao da Síndrome Metabólica. Segundo Kasiske et al. (1988) ratos Zucker obesos desenvolvem lesões renais em idades precoces.

A uréia é sintetizada no fígado e seu ciclo incorpora duas moléculas de amônia cuja principal fonte é o catabolismo protéico. Sua dosagem juntamente com a creatinina deve ser realizada sempre que houver suspeita de mau funcionamento renal ou hepático.

Os níveis médios de uréia na urina e no sangue dos animais experimentais dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café são apresentados nas Figuras 16 e 17 respectivamente.

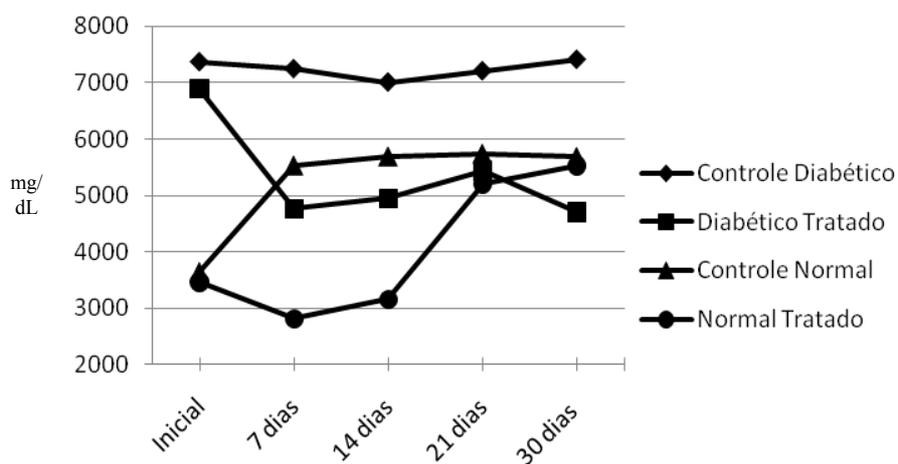


Figura 16 Níveis médios de uréia (mg/dL) na urina dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias.

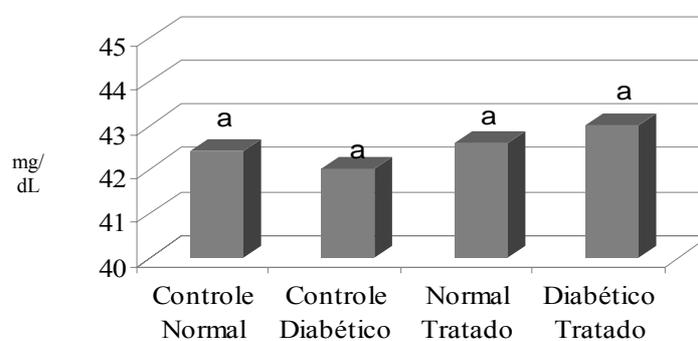


Figura 17 Níveis médios de uréia (mg/dL) no sangue dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café por 30 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os ratos diabéticos, controle (7367 mg/dL) e tratados (6890 mg/dL), destacaram-se com os maiores valores de uréia na urina no início do experimento, comprovando a presença de algum dano renal nestes animais. Porém, de acordo com a figura acima pode-se observar que após 7 dias de tratamento com a bebida do café o grupo diabético tratado apresentou uma redução de aproximadamente 31% nos níveis de uréia igualando-se aos grupos normais. É importante destacar que esta redução permaneceu até o final de 30 dias, quando estes animais foram submetidos à eutanásia. Já, para os valores séricos de uréia não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais, demonstrando-se, neste caso, a urina mais eficaz para aferição da uréia.

Segundo Praga (2002), o tratamento da hiperlipidemia e a redução da ingestão alimentar reduzem a injúria renal em ratos Zucker, pois a dislipidemia pode contribuir para o dano renal, principalmente por meio da proliferação mesangial e da matriz extracelular induzida pelo colesterol LDL (PRAGA, 2002). Portanto, o alto índice de colesterol LDL encontrado no grupo diabético controle neste experimento pode ter auxiliado no desenvolvimento do dano renal.

A prevalência ou probabilidade de microalbuminúria e (ou) redução da filtração glomerular são progressivamente ampliadas pelo aumento do número de fatores de risco da síndrome metabólica. Alterações patológicas específicas têm sido definidas como "glomerulopatia relacionada à obesidade". A alteração primária é uma glomerulomegalia (100% dos casos), glomerulosclerose focal e segmentar (80% dos casos) e aumento da celularidade da matriz mesangial (45% dos casos). A evolução clínica da glomerulopatia relacionada à obesidade parece

ser progressiva. Após um seguimento de 27 meses, 14% dos pacientes dobram os níveis de creatinina ou atingem insuficiência renal terminal (CARVALHEIRA; SAAD, 2006).

Para a análise de creatinina na urina, os resultados foram semelhantes aos obtidos para uréia (Figura 19). Ao início do experimento, conforme esperado, os grupos diabéticos, controle (69,4 mg/dL) e tratado (64,3 mg/dL), apresentaram maiores valores na urina e após 7 dias recebendo a bebida do café o grupo diabético tratado demonstrou uma redução de aproximadamente 31%. Esta redução também foi observada no grupo normal tratado, o qual, apesar de já apresentar valores baixos de creatinina no início do estudo (26,3) apresentou uma redução de aproximadamente 45% após receber café por 7 dias. Ambas as reduções foram mantidas até o final do experimento. Assim como para a uréia, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais nos valores séricos de creatinina, demonstrando-se, também neste caso, a análise urinária um método mais eficaz para detecção de creatinina (Figura 18).

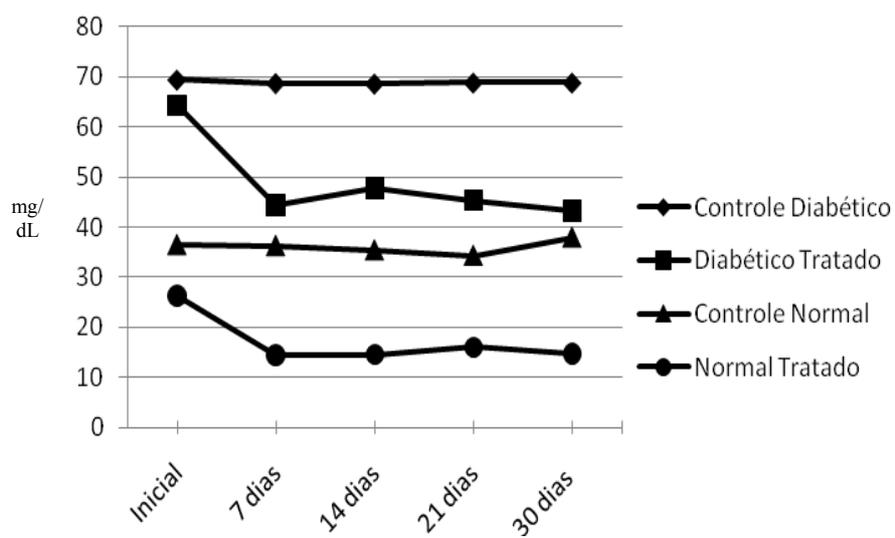


Figura 18 Níveis médios de creatinina (mg/dL) na urina dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias.

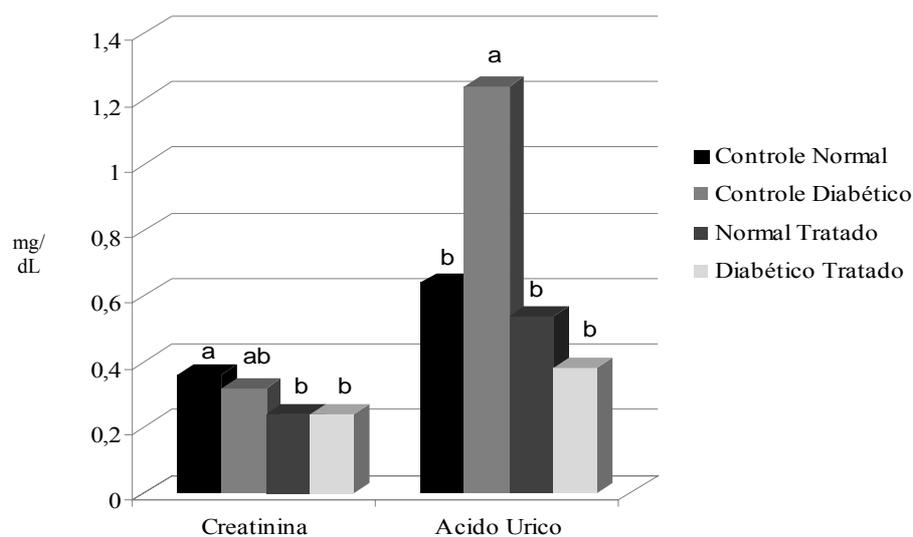


Figura 19 Níveis médios de creatinina (mg/dL) e ácido úrico (mg/dL) no sangue dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café por 30 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Elevações nas concentrações séricas de ácido úrico são comumente vistas em associação com intolerância à glicose, dislipidemia e hipertensão arterial, e há correlação significativa entre estas concentrações e resistência à insulina. Há evidências de que a insulina reduz o *clearance* urinário de ácido úrico. A hiperuricemia parece ser um componente das anormalidades presentes na síndrome metabólica ou síndrome da resistência a insulina (CARVALHEIRA; SAAD, 2006).

Corroborando com a afirmação acima, neste estudo o grupo controle diabético (1,24 mg/dL) apresentou valores séricos de ácido úrico

significativamente superiores aos encontrados para o grupo controle normal (0,64 mg/dL), confirmando a presença de hiperuricemia na síndrome metabólica. Porém, como é possível observar na figura 19, os animais do grupo diabético tratado apresentaram concentrações séricas de ácido úrico semelhantes aos animais dos grupos normais. Como foi encontrada hiperuricemia no grupo diabético controle conclui-se que realmente a bebida do café administrada agiu de forma benéfica na proteção do rim desses animais.

Com relação aos níveis de glicose na urina os resultados são apresentados na Figura 20.

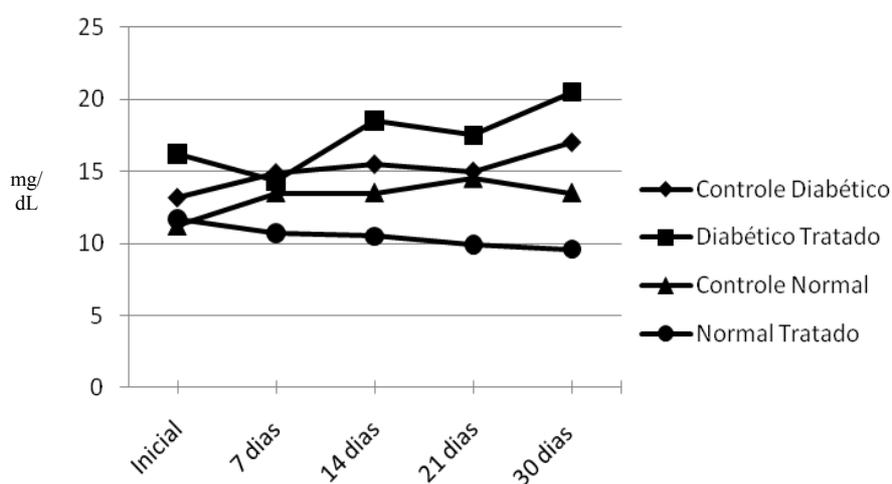


Figura 20 Níveis médios de glicose (mg/dL) na urina dos ratos Zucker dos grupos controle e daqueles tratados com a bebida do café aferidos semanalmente por 30 dias.

Alterações nas concentrações da glicose na urina estão diretamente relacionadas ao excesso de glicose na corrente sanguínea. Neste experimento, a

glicose apresentou significativo aumento nos grupos diabéticos, tanto controle quanto tratado, durante os 30 dias analisados. Entre si, os grupos normais, apresentaram diferenças estatisticamente significativas, sendo os níveis de glicose superiores no grupo controle normal. Já, entre os grupos diabéticos, os maiores valores de glicose na urina foram encontrados no grupo tratado (Figura 20).

4.19 Peroxidação lipídica

O excesso de espécies reativas no organismo pode causar alterações estruturais e funcionais a componentes da parede celular, levando à mudança de sua funcionalidade. Essas alterações estão envolvidas na fisiopatologia de várias doenças crônicas não transmissíveis como doença de Parkinson, doença de Alzheimer, diabetes, vários tipos de câncer, doenças cardiovasculares entre outras. Antioxidantes da dieta podem contribuir para o combate aos radicais livres e para proteção de componentes celulares como material genético, proteínas e lipídios contidos em membranas (SU et al., 2007).

O stress oxidativo, avaliado laboratorialmente por meio de índices de peroxidação lipídica, encontra-se aumentado no diabetes mellitus tipo II, mesmo em doentes ainda sem graves complicações. Apesar dessa evidência de que o stress oxidativo pode contribuir para a manifestação e progressão das complicações diabéticas, resta ainda esclarecer se o stress oxidativo estará associado ou se é causa das modificações fisiopatológicas subjacentes à diabetes (LEMOS et al., 2007).

A média dos valores encontrados quando analisados os índices de peroxidação lipídica no tecido hepático e renal dos animais dos grupos controle e dos animais tratados estão apresentados na Tabela 20.

Tabela 20 Teor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (nmol de MDA/mg de tecido) em fígados e rins de ratos.

Grupos	Órgão	
	RIM	FÍGADO
Controle Normal	0,47 +/- 0,18 ab	0,53 +/- 0,11 c
Normal Tratado	0,45 +/- 0,03 b	0,47 +/- 0,05 c
Controle Diabético	0,63 +/- 0,18 a	1,12 +/- 0,22 a
Diabético Tratado	0,47 +/- 0,04 ab	0,83 +/- 0,05 b
Médias	0,50	0,71

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

De acordo com a tabela acima, os animais do grupo controle diabético (1,12) apresentaram maior índice de peroxidação lipídica no tecido hepático do que os animais do grupo controle normal (0,53), porém no tecido renal apesar de ter sido encontrado um valor maior para o grupo controle diabético (0,63) do que para o grupo controle normal (0,47), esta diferença não foi significativa.

Durante a hiperglicemia persistente do diabetes somada a outros fatores presentes na síndrome metabólica como a obesidade, ocorre um aumento da produção de radicais livres de oxigênio por meio da auto-oxidação da glicose, e esses radicais exercem seus efeitos citotóxicos nos fosfolipídeos de membrana, resultando na formação de malonaldeído (MDA), um produto final da peroxidação lipídica, o qual reage com o ácido tiobarbitúrico.

O consumo, durante 30 dias, de café torrado bebida mole foi efetivo na redução da produção de TBARS no fígado de ratos, sugerindo que esta bebida confere uma proteção à membrana celular contra o ataque oxidativo. No tecido renal apesar dos níveis de TBARS menores nos animais controle esta diferença não foi significativa.

Confirmando os resultados obtidos *in vitro*, o café estudado demonstrou significativa atividade antioxidante, protegendo o fígado dos animais contra a lipoperoxidação.

Os resultados encontrados corroboram com os apresentados por Ozercan et al. (2006). Estes autores avaliando o efeito antioxidante do café instantâneo em ratos verificaram que o tratamento com café instantâneo reduziu significativamente os níveis de TBARS no tecido hepático.

De acordo com os trabalhos de Fujioka e Shibamoto (2006) e Natella et al. (2002), os ácidos clorogênicos presentes na bebida de café são capazes de serem absorvidos e exercem sua atividade antioxidante nos tecidos animais, assim como os produtos da reação de Maillard. Sendo assim, a redução dos níveis de TBARS observadas no fígado dos animais que receberam doses de café neste trabalho pode ser atribuída à presença de ácidos clorogênicos e melanoidinas no extrato aquoso do café administrado.

Embora vários estudos cite a melanoidina e outros produtos da reação de Maillard como prováveis antioxidantes existem pesquisadores que relatam uma propriedade oxidante dos produtos avançados da reação de Maillard (AGE's), sendo estes capazes de favorecer o surgimento e a progressão das diversas complicações do diabetes. Os efeitos patológicos desses produtos estão relacionados à capacidade desses compostos de modificar as propriedades químicas e funcionais das mais diversas estruturas biológicas. Por meio da

geração de radicais livres, da formação de ligações cruzadas com proteínas ou de interações com receptores celulares, promovem, respectivamente, estresse oxidativo, alterações morfofuncionais e aumento da expressão de mediadores inflamatórios (BARBOSA; OLIVEIRA; SEARA, 2008). Provavelmente, no tecido renal, este efeito antioxidante da bebida do café contrabalanceou o efeito oxidante dos produtos da reação de Maillard, não havendo diferença entre o grupo diabético tratado e o controle.

O processo de absorção e utilização dos compostos antioxidantes presente no café ainda não estão bem compreendidos, porém as presentes constatações indicam potenciais efeitos benéficos do café para a saúde. Assim, esta bebida pode trazer grandes benefícios para a saúde humana, contribuindo para prevenir ou adiar o início de doenças degenerativas em razão da combinação do teor de antioxidantes por dose servida com a frequência do consumo da bebida.

4.20 Análise de lipídeos fecais

As concentrações de lipídeos presentes nas fezes dos animais experimentais após o tratamento estão apresentadas na Tabela 21.

Tabela 21 Análise de lipídios fecais nos quatro grupos estudados ao final dos 30 dias de experimento ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$).

Tratamento	Grupos		Média
	Normal	Diabético	
<i>Controle</i>	3,09 bA	3,60 aA	3,35
<i>Café</i>	2,80 aB	2,78 aB	2,79
Média	2,95	3,19	

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes dentro da linha e maiúsculas dentro de cada coluna diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

De acordo com a tabela acima, pode-se afirmar que houve diferença significativa entre os grupos experimentais, sendo que a presença do diabetes e da síndrome metabólica causou um aumento no teor de lipídeos nas fezes dos animais, sendo o grupo controle diabético o que apresentou maior teor de gordura fecal (3,60).

Segundo Raupp et al. (2002), algumas fibras apresentam a capacidade de complexar-se com outros constituintes da dieta, como as substâncias tóxicas, podendo arrastá-los para a excreção fecal. Os nutrientes da dieta, como proteínas, minerais, carboidratos digeríveis e lipídeos, também poderão ser excretados em maior ou menor quantidade, dependendo da fibra presente na dieta.

Entre os grupos experimentais tratados com a bebida do café não houve diferença estatisticamente significativa, porém é possível observar diferença entres estes animais e os grupos controle. Segundo os resultados encontrados os grupos tratados com a bebida do café apresentaram um menor conteúdo de lipídios fecais do que os que receberam água, ou seja, nos animais tratados o arraste de lipídeos para as fezes foi significativamente menor do que nos animais

controle. Esse resultado indica um possível efeito negativo do café na excreção fecal de lipídios, apesar de um teor significativo de fibras ter sido encontrado (9,94%) no grão submetido à torração média e de ter sido observado um efeito hipolipemiante nas análises bioquímicas. Conforme já citado, a análise de fibra bruta não revela o exato conteúdo de fibra alimentar ou dietética, dando apenas uma noção do teor de fibras do alimento, além disso, a análise foi realizada no grão e provavelmente a fibra presente na bebida após a extração seja bem menor. Tais fatos podem explicar a menor excreção de gorduras fecais nos animais tratados com café bebida mole.

5 CONCLUSÃO

Decorrente da sua potencial atividade antioxidante, efeito hipoglicemiante e hipolipidêmico a bebida do café foi eficaz na proteção dos animais contra os sintomas da síndrome metabólica e do diabetes mellitus tipo II. Porém, é importante lembrar que sua ação no organismo varia conforme a frequência de ingestão, os hábitos alimentares, o estilo de vida (consumo de álcool e/ou tabaco) e a predisposição genética ao desenvolvimento de algumas doenças.

REFERÊNCIAS

ADAMS, A. N. et al. Thermal degradation studies of food melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 10, p. 4136-4142, Apr. 2005.

AGUIAR, A. T. E. et al. Diversidade química de cafeeiros na espécie *Coffea canephora*. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 577-582, 2005.

ALBERTI, F. G. M. M.; ZIMMET, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: part 1, diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. **Diabetic Medicine**, Chichester, v. 15, n. 7, p. 539-553, July 1998.

ALBERTI, K. G.; ZIMMET, P.; SHAW, J. Metabolic syndrome: a new world-wide definition: a consensus statement from the international diabetes federation. **Diabetic Medicine**, Chichester, v. 23, n. 5, p. 469-480, May 2006.

ALMEIDA, A. A. P. et al. Café e saúde: três décadas de estudos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 7, n. 6, p. 56-63, nov./dez. 2003. Edição especial.

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

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Digestive and kidney diseases: the prevention or delay of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 25, n. 4, p. 742-749, Apr. 2002.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 350, n. 1, p. 103-108, Jan. 1996.

ANDUEZA, S.; PEÑA, M. P.; CID, C. Chemical and sensorial characteristics of espresso coffee as affected by grinding and torrefacto roast. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 24, p. 7034-7039, Dec. 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 Ciência dos Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ARAÚJO, F. M.; MANCINI-FILHO, J. Compostos bioativos da café e seus benefícios à saúde. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 143, p. 60-65, 2006.

ARORA, A.; MURALEEDHARAN, G. N.; STRASBURG, G. M. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 24, n. 9, p. 1355-1363, Sept. 1998.

ARSA, G. et al. Diabetes Mellitus tipo 2: aspectos fisiológicos, genéticos e formas de exercício físico para seu controle. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, Florianópolis, v. 11, n. 1, p. 103-111, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>>. Acesso em: 10 set. 2007.

_____. **Preferência, bebida mais consumida:** estatísticas, produção agrícola. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>>. Acesso em: 10 maio 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists**. 12. ed. Washington, 1990. 1985 p.

_____. **Official methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 15. ed. Washington, 2000. 1094 p.

ATENCIA, E. J. E. **Contribuição ao estudo da liberação do gás carbônico do café torrado e moído**. 1985. 186 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1985.

BALLONE, G. J. **Cafeína**. São Paulo: Psiqweb, 2005. Disponível em: <<http://www.psiqweb.med.br>>. Acesso em: 17 out. 2009.

BARBOSA, J. H. P.; OLIVEIRA, S. L.; SEARA, L. T. O papel dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) no desencadeamento das complicações vasculares do diabetes. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 52, n. 6, p. 940-950, dez. 2008.

BARBOSA, P. J. B. et al. Influência da cor de pele auto-referida na prevalência da síndrome metabólica numa população urbana do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 94, n. 1, p. 34-40, jan. 2010.

BARRETO, M. L.; CARMO, E. H. Tendências recentes das doenças crônicas no Brasil. In: LESSA, I. (Ed.). **O adulto brasileiro e as doenças da modernidade: epidemiologia das doenças crônicas não-transmissíveis**. São Paulo: Hucitec, 1998. p. 15-27.

BASILE, A. et al. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 102, n. 1, p. 32-36, Oct. 2005.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, mar./abr. 1999.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. São Paulo: Varela, 2003. 238 p.

BORRELLI, R. C. et al. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 22, p. 6527-6533, Nov. 2002.

BRANDÃO, A. A. et al. Síndrome metabólica em crianças e adolescentes. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 166-177, mar. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 8**, de 11 de junho de 2003. Aprova o regulamento técnico da identidade e de qualidade para a classificação de café beneficiado grão cru. Brasília, 2003. Disponível em: <<http://www.ministerio.gov.br>>. Acesso em: 15 jan. 2007.

_____. **Portaria nº 377**, de 26 de abril de 1999. Estabelece normas para fixar a identidade e as características mínimas de qualidade do café torrado em grão e café torrado e moído. Brasília, 1999. Disponível em: <<http://www.receita.fazenda.gov.br/Legislacao/Portarias/Ant2001/1999/portmf037799.htm>>. Acesso em: 15 jan. 2007.

CARVALHEIRA, J. B. C.; SAAD, M. J. A. Doenças associadas à resistência à insulina/hiperinsulinemia, não incluídas na síndrome metabólica. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 360-367, abr. 2006.

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

CARVALHO, V. D. de; CHALFOUN, S. M. Aspectos qualitativos do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 3, p. 185-195, jul./set. 2000.

CASTRO, L. C. V. et al. Nutrição e doenças cardiovasculares: os marcadores de risco em adultos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 369-377, jul./set. 2004.

CAVIN, C. et al. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 40, n. 8, p. 1155-1163, Aug. 2002.

CERUTTI, P. A. Oxidant stress and carcinogenesis. **European Journal of Clinical Investigation**, Oxford, v. 21, n. 1, p. 1-5, Jan. 1991.

_____. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**, London, v. 344, n. 8926, p. 862-863, 1994.

CHAGAS, S. J. de R. **Caracterização química e qualitativa de cafés de alguns municípios de três regiões produtoras de Minas Gerais**. 1994. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1994.

CHARLES RIVER LABORATORIES. **Research animal models**. Disponível em: <<http://www.criver.com/en-US/ProdServ/ByType/ResModOver/ResMod/Pages/ZuckerRat.aspx>>. Acesso em: 5 mar. 2010.

CHAU, C. F.; HUANG, Y. L. Characterization of passion fruit seed fibres: a potential fibre source. **Food Chemistry**, Beijing, v. 85, n. 2, p. 189-194, Apr. 2004.

CHEN, J. et al. The metabolic syndrome and chronic kidney disease in U.S. adults. **Advances in Internal Medicine**, Chicago, v. 14, n. 3, p. 167-174, Feb. 2004.

CHEUNG, W. T.; LEE, C. M. Potentiation of the antioipolytic effect of 2-chloroadenosine after chronic caffeine treatment. **Pharmacology**, New York, v. 36, n. 5, p. 331-339, Feb. 1988.

CHOU, T. M.; BENOWITZ, N. L. Caffeine and coffee effects on health and cardiovascular disease. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 109, n. 2, p. 173-189, Apr. 1994.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee: chemistry**. New York: Elsevier Applied Science, 1985. 287 p.

COELHO, K. F.; PEREIRA, R. G. F. A. Influência de grãos defeituosos em algumas características químicas do café cru e torrado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 2, p. 375-384, mar./abr. 2002.

CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO. **Custos de produção da cafeicultura no sul de Minas Gerais**. Lavras: UFLA/CNPq, 2000. 16 p.

- COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 2. ed. Barueri: Manole, 2006. 996 p.
- DAGLIA, M. et al. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 5, p. 1449-1454, Apr. 2000.
- DAM, R. M. van; FESKENS, E. J. M. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. **The Lancet**, London, v. 360, n. 9344, p. 1477-1478, Nov. 2002.
- DAM, R. M. van; HU, F. B. Consumo de café e risco de diabetes tipo 2: revisão sistemática. **JAMA**, São Paulo, v. 294, n. 1, p. 97-104, jan. 2005.
- DECKER, E. A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, New York, v. 55, n. 11, p. 396-407, Nov. 1997.
- DEL CASTILHO, M. D.; AMES, J. M.; GORDON, M. H. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brew. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 13, p. 3698-3703, Sept. 2002.
- DESPRES, J. P. et al. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. **Arteriosclerosis and Thrombosis**, Dallas, v. 28, n. 6, p. 1039-1049, Dec. 2008.
- DUARTE, S. M. da S. et al. Efeito da bebida de café descascado sobre a atividade antioxidante, os parâmetros hematológicos e bioquímicos em ratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 703-708, dez. 2009.
- _____. Effect of processing and roasting of the antioxidant activity of coffee brews. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 387-393, dez. 2005.
- DULLOO, A. et al. Normal caffeine consumption: influence on thermogenesis and daily energy expenditure in lean and postobese human volunteers. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 49, n. 1, p. 44-50, Jan. 1989.

ECKEL, R. H.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome. **Lancet**, London, v. 365, n. 9468, p. 1415-1428, Apr. 2005.

ENCARNAÇÃO, R. O.; LIMA, D. R. **O café e a saúde humana**. Brasília: EMBRAPA Café, 2003. 64 p.

ESPÓSITO, K.; CERIELLO, A.; GIUGLIANO, D. Diet and the metabolic syndrome. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, New York, v. 5, n. 4, p. 291-296, Aug. 2007.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Compostos fenólicos em café. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 23-26, 2006.

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

FERNANDES, S. M. **Composição química e qualidade do café torrado e moído armazenado à temperatura ambiente e sob refrigeração**. 2003. 79 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

FERNANDES, S. M. et al. Comparação entre duas cooperativas do sul de Minas Gerais quanto à composição química de cafés com torração comercial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 4, p. 830-835, jul./ago. 2002.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FIETZ, V. R.; SALGADO, J. M. Efeito da pectina e da celulose nos níveis séricos de colesterol e triacilgliceróis em ratos hiperlipidêmicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 318-321, set./dez. 1999.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **FAO/WHO consultation on the health implications of acrylamide in food**. Geneva, 2002. Disponível em: <<http://www.who.int/fsf/Acrylamide>>. Acesso em: 15 fev. 2010.

FOOD AND NUTRITION INFORMATION CENTER. **Dietary recommended intakes**. Disponível em: <http://fnic.nal.usda.gov/nal_display/index.php?info_center=4&tax_level=3&tax_subject=256&topic_id=1342&level3_id=5140>. Acesso em: 10 maio 2010.

FRANCA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; OLIVEIRA, S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 38, n. 7, p. 709-715, Nov. 2005.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 182 p.

FRIEDMAN, M. Chemistry, biochemistry and dietary role of potato polyphenols. **Journal of Science Food Agriculture**, London, v. 79, n. 5, p. 362-372, May 1997.

FUJIOKA, K.; SHIBAMOTO, T. Quantitation of volatiles and nonvolatiles acids in an extract from coffee beverages: correlation with antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 16, p. 6054-6058, Aug. 2006.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 8, p. 3597-3604, Apr. 2000.

GARAMBONE, E.; ROSA, G. Possible health benefits of chlorogenic acid. **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 2, p. 229-235, abr./jun. 2007.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Acrilamida: nova ameaça à segurança alimentar? **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 101, p. 37-41, 2002.

GLEI, M. et al. Bread enriched with green coffee extract has chemoprotective and antigenotoxic activities in human cells. **Nutrition and Cancer**, London, v. 56, n. 2, p. 182-192, 2006.

GRANATH, F.; TORNQVIST, M. Who knows whether acrylamide in food is hazardous to humans? **Journal of the National Cancer Institute**, Bethesda, v. 95, n. 12, p. 842-843, Dec. 2003.

GREENBERG, J. A.; BOOZER, C. N.; GELIEBTER, A. Coffee, diabetes, and weight control. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 84, n. 4, p. 682-693, Oct. 2006.

GREER, F. et al. Caffeine ingestion decreases glucose disposal during a hyperinsulinemic-euglycemic clamp in sedentary humans. **Diabetes**, New York, v. 50, n. 10, p. 2349-2354, Oct. 2001.

GROBBEE, D. E. et al. Coffee, caffeine and cardiovascular disease in men. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 323, n. 15, p. 1026-1032, Oct. 1990.

GROSS, J. et al. Diabetes melito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 46, n. 1, p. 16-26, fev. 2002.

GRUNDY, S. M. et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. **Circulation**, Baltimore, v. 112, n. 12, p. 2735-2752, Sept. 2005.

HALL, J. E. et al. Obesity-associated hypertension and kidney disease. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, Philadelphia, v. 12, n. 2, p. 195-200, Mar. 2003.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v. 52, n. 8, p. 253-265, Aug. 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Oxford University, 1999. 530 p.

HAMMAR, N. et al. Association of boiled and filtered coffee with incidence of first nonfatal myocardial infarction: the SHEEP and VHEEP study. **Journal Internal Medicine**, Oxford, v. 253, n. 6, p. 653-659, May 2003.

HARTGE, P. et al. Coffee drinking and risk of bladder cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, Philadelphia, v. 70, n. 6, p. 1021-1026, 1983.

HARTLEY, T. R. et al. Caffeine and stress: implications for risk, assessment, and management of hypertension. **Journal of Clinical Hypertension**, London, v. 3, n. 3, p. 354-382, 2001.

HARTMAN, P. E.; SHANKEL, D. M. Antimutagens and anticarcinogens: a survey of putative interceptor molecules. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, New York, v. 15, n. 3, p. 145-182, 1990.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Coffee and health: a review of recent human research. **Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 46, n. 2, p. 101-123, Feb. 2006.

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

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo, 1985. v. 1, 533 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL STANDARDS FOR FOODS. **Microbiological analysis**. New York: Academic, 1981. 296 p.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF consensus world definition of the metabolic syndrome**. Disponível em: <http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Metas_def_final.pdf>. Acesso em: 22 mar. 2010.

ISOSAKI, M.; CARDOSO, E. **Manual de dietoterapia & avaliação nutricional do serviço de nutrição e dietética do instituto do coração - HCFMUSP**. São Paulo: Atheneu, 2004. 218 p.

ITO, T. et al. Effect of filtered coffee intake on lipid metabolism. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 52, n. 1, p. 210-216, July 1998.

IWAI, K. et al. *In vitro* antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activities of seven hydroxycinnamoyl derivatives in green coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 15, p. 4893-4898, July 2004.

JANLE, E. M. et al. Effect of long-term oral administration of green tea extract on weight gain and glucose tolerance in Zucker diabetic (ZDF) rats. **Journal of Herbal Pharmacotherapy**, Binghamton, v. 5, n. 3, p. 55-65, Jan. 2005.

JEE, S. H. et al. Coffee consumption and serum lipids: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 153, n. 4, p. 353-362, Dec. 2001.

JOHNSON, K. A.; CLIFFORD, M. N.; MORGAN, L. M. Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fisher 344 rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 85, n. 2, p. 154-168, Sept. 1986.

JOHNSTON, K. L.; CLIFFORD, M. N.; MORGAN, L. M. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 78, n. 4, p. 728-733, Oct. 2003.

KAHN, C. R. Section on cellular and molecular physiology. **Joslin Magazine**, Boston, v. 11, n. 3, p. 17-18, 1998.

KAMBHAM, N. et al. Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic. **Kidney International**, Malden, v. 59, n. 1, p. 1498-1509, Oct. 2001.

KARAKAYA, S. N. E.; TAS, A. A. Antioxidant activity of some foods containing compounds. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Hants, v. 52, n. 6, p. 501-508, Nov. 2001.

KASISKE, B. L. et al. Treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in obese Zucker rats. **Kidney International**, Malden, v. 33, n. 3, p. 667-672, 1988.

KEIJZERS, G. B. et al. Caffeine can decrease insulin sensitivity in humans. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 25, n. 2, p. 364-369, Feb. 2002.

KLIGERMAN, M. J. et al. Coffee intake and coronary heart disease. **Annals of Epidemiology**, New York, v. 4, n. 6, p. 425-433, Dec. 1994.

KLIGERMAN, J. Estimativas sobre a incidência e mortalidade por câncer no Brasil. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 1, p. 175-179, mar. 2000.

KOTEISH, A.; DIEHL, A. M. Animal models of steatosis. **Seminars in Liver Disease**, New York, v. 21, n. 1, p. 89-104, Feb. 2001.

KRAKAUER, T. The polyphenol chlorogenic acid inhibits staphylococcal exotoxin-induced inflammatory cytokines and chemokines. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, New York, v. 24, n. 1, p. 113-119, Feb. 2002.

KRIVAN, V.; BARTH, P.; MORALES, A. F. Multielement analysis of green coffee and its possible use for the determination of origin. **Microchimica Acta**, Dordrecht, v. 110, n. 4/6, p. 217-236, 1993.

LAKKA, T. A.; LAAKSONEN, D. E. Physical activity in prevention and treatment of the metabolic syndrome. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, Ottawa, v. 32, n. 1, p. 76-88, Jan. 2007.

LEE, C. Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition on LDL peroxidation. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 295, n. 1/2, p. 141-154, May 2000.

LEMOS, E. T. et al. Efeitos do exercício físico aeróbio no perfil metabólico e oxidativo de ratos diabéticos tipo 2. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação**, Lisboa, v. 22, n. 1, p. 168-174, 2007.

LERARIO, A. C.; BETTI, R. T. B.; WAJCHENBERG, B. L. O perfil lipídico e a síndrome metabólica. **Revista da Associação de Medicina Brasileira**, São Paulo, v. 55, n. 3, p. 232-233, jun. 2009.

LERARIO, D. D. G. et al. Excesso de peso e gordura abdominal para a síndrome metabólica em nipo-brasileiros. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 2, p. 4-11, fev. 2002.

LEVESQUE, J.; LAMARCHE, B. The metabolic syndrome: definitions, prevalence and management. **Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics**, Basel, v. 1, n. 3, p. 100-108, Feb. 2008.

LICCIARDI, R. et al. Avaliação físico-química de cafés torrados e moídos, de diferentes marcas comerciais, da região Sul de Minas Gerais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 425-429, jul./set. 2005.

LOPES, H. F. Hipertensão, obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 154-158, jul./set. 2005.

LOPES, L. M. V. **Avaliação da qualidade de grãos crus e torrados de cultivares de cafeeiro (Coffea arábica L.)**. 2000. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

MACHADO, D. F. et al. Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido fólico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 270-275, fev. 2003.

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

MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. **Food antioxidants**. New York: M. Dekker, 1996. 480 p.

MARIA, C. A. B. de. **Uma nova abordagem para o estudo de precursores e componentes do aroma do café**. 1995. 195 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1995.

MARIA, C. A. B. de et al. Composition of green coffee water-soluble fractions and identification of volatiles formed during roasting. **Food Chemistry**, Oxford, v. 55, n. 3, p. 203-207, Mar. 1996.

MARITIM, A.; SANDERS, R.; WATKINS, J. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, London, v. 17, n. 1, p. 24-38, Feb. 2003.

MARTÍNEZ, T. F.; MOYANO, F. J. Effect of tannic acid on *in vitro* enzymatic hydrolysis of some protein sources. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 83, n. 5, p. 456-464, May 2003.

MCANLINS, G. T. et al. Black tea consumption does not protect low density lipoprotein from oxidative modification. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 52, n. 3, p. 202-206, Mar. 1998.

MCLAUGHLIN, T. et al. Use of metabolic markers to identify overweight individuals who are insulin resistant. **Advances in Internal Medicine**, Chicago, n. 139, p. 802-809, 2003.

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, p. 89-95, jan. 1992.

MELLO, V. D.; LAAKSONEN, D. E. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 509-518, jul. 2009.

MONTAGNON, C. et al. Genetic parameters of several biochemical compounds from green coffee, *Coffea canephora*. **Plant Breeding**, Berlin, v. 117, n. 6, p. 576-578, July 1998.

MONTEIRO, C. A. et al. The nutrition transition in Brazil. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 49, n. 2, p. 105-113, Feb. 1995.

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.

MONTEIRO JÚNIOR, F. das C. et al. Efeito da perda ponderal induzida pela cirurgia bariátrica sobre a prevalência de síndrome metabólica. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 92, n. 6, p. 452-456, jun. 2009.

MORABITO, D. C. et al. Glicose no metabolismo do coração de obesidade Zucker rats após tratamento com phorbol éster. **International Journal of Obesity**, London, v. 26, n. 3, p. 327-334, Jan. 2002.

MORAES, R. C. P. **Efeito da torrefação e da granulometria na composição química do café**. 2002. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

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. 195-203, mar./abr. 2000.

MORGANO, M. A. et al. Determinação de minerais em café cru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 19-23, jan./abr. 2002.

MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 2, p. 990-997, Feb. 2001.

NAIDU, M. M. et al. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 1, p. 377-384, Jan. 2007.

NARDINI, M. et al. Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 21, p. 6211-6216, Nov. 2002.

NASCIMENTO, P. M. **Estudo da composição química, atividade antioxidante e potencial odorífico de um café conillon, em diferentes graus de torrefação e análise comparativa com café arábica**. 2006. 90 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006.

NATELLA, F. et al. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 21, p. 6211-6216, Sept. 2002.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. **JAMA**, Chicago, v. 285, n. 19, p. 2486-2497, May 2001.

NEBESNY, E.; BUDRYN, G. Antioxidative activity of green and roasted coffee beans as influenced by convection and microwave roasting methods and content of certain compounds. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 217, n. 2, p. 157-163, Aug. 2003.

NERI, V. C. C. **Acrilamida em alimentos: formação endógena e riscos à saúde**. 2004. 72 p. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2004.

NICOLI, M. C. et al. Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 30, n. 2, p. 292-297, Feb. 1997.

NOMPLEGGI, D. J.; BONKOVSKY, H. L. Nutritional supplementation in chronic liver disease: an analytical review. **Hepatology**, Baltimore, v. 19, n. 1, p. 518-533, Jan. 1994.

NURMINEN, M. L.; NIITYNEN, L.; KORPELA, R. Coffee, caffeine and blood pressure: a critical review. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 53, n. 11, p. 831-839, Nov. 1999.

OLIVEIRA, C. P. **Avaliação “in vitro” da atividade antioxidante de produtos da reação de Maillard**. 2000. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

OLTHOF, M. R. et al. Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in humans. **American Journal Clinical Nutrition**, New York, v. 73, n. 3, p. 532-538, Mar. 2001.

ORGANIZACION INTERNACIONAL DEL CAFÉ. **El despulpado del café por medio de desmucilaginas mecánicas sin proceso de fermentación y su efecto en la calidad de bebida de café producido en la región de Apucarana en el estado del Paraná en Brasil**. London, 1992. No page. (Reporte de Evaluación Sensorial).

OZERCAN, I. H. et al. Does instant coffee prevent acute liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl₄)? **Hepatology Research**, Baltimore, v. 35, n. 1, p. 163-168, Jan. 2006.

PAIVA, D. C.; BERSUSA, A. A.; ESCUDER, M. M. Avaliação da assistência ao paciente com diabetes e/ou hipertensão pelo Programa de Saúde da Família do município de Francisco Morato, São Paulo, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 2, p. 377-385, fev. 2006.

PAULA, R. B. Obesidade, síndrome metabólica e progressão da lesão renal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 13-19, 2006. Suplemento.

PEREIRA, R. G. F. A. et al. Análise sensorial de três marcas de café torrado e moído comercializadas na região sul de Minas Gerais. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA CAFEEIRA DO SUL DE MINAS, 3., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2002. 1 CD-ROM.

PEREIRA, R. G. F. A.; PAIVA, E. F. F. **Classificação e análise sensorial de cafés especiais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2006. 67 p.

PETERSEN, R.; CÔRTE-REAL, F.; STILWELL, D. **Cafeína**. Lisboa: Universidade de Lisboa, 2005. 12 p.

PICKAVANCE, L. et al. The development of overt diabetes in young Zucker Diabetic Fatty (ZDF) rats and the effects of chronic MCC-555 treatment. **British Journal of Pharmacology**, London, v. 125, n. 1, p. 767-770, Aug. 1998.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Efeito do tipo e época de colheita na qualidade do café (*Coffea arabica* L.). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 131-136, 2003.

PINTO, N. A. V. D. **Avaliação química e sensorial de diferentes padrões de bebida do café arábica cru e torrado**. 2002. 92 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, Berne, v. 67, n. 5, p. 289-297, Oct. 1997.

POULSEN, H. E.; PRIEME, H.; LOFT, S. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v. 7, n. 1, p. 9-16, Feb. 1998.

PRAGA, M. Obesity: a neglected culprit in renal disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Denver, v. 17, n. 7, p. 1157-1159, July 2002.

RAUPP, D. S. et al. Arraste via fecal de nutrientes da ingestão produzido por bagaço de mandioca hidrolisado. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 235-242, 2002.

REZENDE, E. M.; SAMPAIO, I. B. M.; ISHITANI, L. H. Multiple causes of death due to non-communicable diseases: a multidimensional analysis. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 5, p. 1223-1231, set./out. 2004.

RODRIGUES, T. C.; CANANI, L. H.; GROSS, J. L. Síndrome metabólica, resistência à ação da insulina e doença cardiovascular no diabetes melito tipo 1. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 94, n. 1, p. 134-139, 2010.

ROHN, S.; RAWEL, H. M.; KROLL, J. Inhibitory effects of plant phenols on the activity of selected enzymes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 12, p. 3566-3571, June 2002.

ROSMARIN, P. C. Coffee and coronary heart disease: a review. **Progress in Cardiovascular Diseases**, Amsterdam, v. 32, n. 3, p. 239-245, 1989.

RUHL, C. E.; EVERHART, J. E. Coffee and caffeine consumption reduce the risk of elevated serum alanine aminotransferase activity in the United States. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 128, n. 1, p. 24-32, Jan. 2005.

SALA, M. et al. Coffee consumption and bladder cancer in nonsmokers: a pooled analysis of case-control studies in European countries. **Cancer Causes and Control**, Netherlands, v. 11, n. 10, p. 925-931, Oct. 2000.

SALAZAR-MARTINEZ, M. E. et al. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes in men and women. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 140, n. 10, p. 1-8, Mar. 2004.

SANTOS, M. H. et al. Influence of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee (*Coffea arabica*). **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 604-610, maio/jun. 2007.

SASS, D. A.; CHANG, P.; CHOPRA, K. B. Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical review. **Digestive Diseases and Science**, New York, v. 50, n. 1, p. 171-180, Jan. 2005.

SCHIAVO, M.; LUNARDELLI, A.; OLIVEIRA, J. R. Influência da dieta na concentração sérica de triacilgliceróis. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, p. 283-288, jul./ago. 2003.

SCHMIDT, R. E. et al. Non-obese diabetic mice rapidly develop dramatic sympathetic neuritic dystrophy a new experimental model of diabetic autonomic neuropathy. **American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 163, n. 5, p. 2077-2091, May 2003.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedade, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SHAROVSKY, L. et al. Tratamento não farmacológico da síndrome metabólica: visão do psicólogo e do nutricionista. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 182-185, jul./set. 2005.

SHILS, M. E. et al. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. 2105 p.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence: review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 215, n. 2, p. 213-219, Feb. 1993.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, June 1995.

SINAIKO, A. Obesity, insulin resistance and the metabolic syndrome. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 1, p. 3-5, jan. 2007.

SIVETZ, M.; DESROSIER, N. W. **Physical and chemical aspects of coffee**. Westpor: Coffee Technology, 1979. 575 p.

SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 4, p. 1077-1080, Feb. 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 84, n. 1, p. 1-28, abr. 2005. Suplemento.

SOMOSA, V. et al. Activity-guided identification of a chemopreventive compound in coffee beverage using *in vitro* and *in vivo* techniques. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 23, p. 6861-6869, Dec. 2003.

SOTILLO, D. V.; HADLEY, M. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) zucker rats. **Journal of Nutrition and Biochemistry**, New York, v. 13, n. 12, p. 717-726, Dec. 2002.

SOUSA, C. M. S. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, mar./abr. 2007.

SOUSA, R. R. et al. O paciente odontológico portador de diabetes mellitus: uma revisão da literatura. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria Clínica Integrada**, João Pessoa, v. 3, n. 2, p. 71-77, jul./dez. 2003.

STADLER, R. H. et al. The inhibitory effects of coffee on radical-mediated oxidation and mutagenicity. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 308, n. 2, p. 177-190, July 1994.

STALMACH, A. et al. HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed, paper-filtered coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 18, n. 1, p. 253-262, 2006.

SU, L. et al. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 3, p. 990-997, Jan. 2007.

TANAKA, K. et al. Coffee consumption and decreased serum gamma-glutamyltransferase and aminotransferase activities among male alcohol drinkers. **International Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 438-443, June 1998.

TANG, S. Z. et al. Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. **Food Chemistry**, London, v. 76, n. 1, p. 45-51, Jan. 2002.

THELLE, D. S. Coffee, tea and coronary heart disease. **Current Opinion in Lipidology**, London, v. 6, n. 1, p. 25-27, Feb. 1995.

THELLE, D. S.; HEYDEN, S.; FODOR, J. G. Coffee and cholesterol in epidemiological and experimental studies. **Atherosclerosis**, Limerick, v. 67, n. 2/3, p. 97-103, 1987.

TOCI, A.; FARAH, A.; TRUGO, L. C. Efeito do processo de descafeinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés arábica e robusta antes e após a torração. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 965-971, set./out. 2006.

TOSCANO, C. M. As campanhas nacionais para detecção das doenças crônicas não-transmissíveis: diabetes e hipertensão arterial. **Ciência & Saúde Coletiva**, São Paulo, v. 9, n. 4, p. 885-895, jul./ago. 2004.

TRUGO, L. C. et al. Torrefação e granulometria na composição química. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Anais...** Brasília: EMBRAPA Café, 2001. p. 1511-1517.

TUOMILEHTO, J. et al. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus among middle-aged finish men and women. **JAVA**, Pearl River, v. 291, n. 10, p. 1213-1219, Oct. 2004.

TURANO, W. Estimativa de consumo diário de fibra alimentar na população adulta, em regiões metropolitanas do Brasil. **Nutrição Brasil**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 3, p. 130-135, set./out. 2002.

TURNER, N. C.; GUDGEON, C.; TOSELAND, N. Effects of genetic hyperinsulinaemia on vascular reactivity, blood pressure, and renal structure in the Zucker rat. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, Hagerstown, v. 26, n. 5, p. 714-720, Jan. 1995.

TZAO, R. et al. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 12, p. 4989-4995, May 2005.

URGERT, R.; SHULZ, A. G. M.; KATAN, M. B. Effects of cafestol and kahweol from coffee grounds on serum lipids and serum liver enzymes in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 61, n. 1, p. 149-154, Jan. 1995.

VILAS-BOAS, B. M. et al. Seleção de extratores e tempo de extração para determinação de açúcares em café torrado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 5, p. 1169-1173, set./out. 2001.

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

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, n. 3, p. 17-24, 2001. Especial café.

VLISSARA, H.; PALACE, M. R. Diabetes and advanced glycation endproducts. **Journal of Internal Medicine**, Oxford, v. 251, n. 2, p. 87-101, Feb. 2002.

WESTERTERP-PLANTENGA, M. S.; LEJEUNE, M. P. G. M.; KOVACS, E. M. R. Body weight loss and weight maintenance in relation to habitual caffeine intake and green tea supplementation. **Obesity Research**, Silver Spring, v. 13, n. 7, p. 1195-1204, July 2005.

WINTERBOURN, C. C.; GUTTERIDGE, J. M.; HALLIWELL, B. Doxorubicin-dependent lipid peroxidation at low partial pressures of O₂. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 2, n. 1, p. 1119-1122, 1981.

WOISK, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apiculture Research**, Cardiff, v. 37, n. 2, p. 99-105, June 1998.

YU, T. W.; ANDERSON, D. Reactive oxygen species-induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 379, n. 2, p. 201-210, Feb. 1997.

YUKAWA, G. S. et al. Effects of coffee consumption on oxidative susceptibility of low-density lipoproteins and serum lipid levels in humans. **Biochemistry**, Moscow, v. 69, n. 1, p. 70-74, Jan. 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Análises bioquímicas

Resumo da análise de variância para a variável glicemia sérica (mg/dL).

Tempos	Grupos			
	<i>Controle Diabético</i>	<i>Diabético Tratado</i>	<i>Controle Normal</i>	<i>Normal Tratado</i>
<i>Inicial</i>	125,5 a	126,7 a	88,2 c	93,1 b
<i>7 dias</i>	125,9 a	99,9 b	91,0 d	94,3 c
<i>14 dias</i>	126,7 a	86,5 c	93,7 b	91,0 b
<i>21 dias</i>	136,9 a	86,8 c	94,5 b	93,3 b
<i>30 dias</i>	147,1 a	132,3 b	95,9 c	93,0 d

CV (%) = 11,5

Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resumo da análise de variância para a variável colesterol sérico (mg/dL).

Tempos	Grupos			
	<i>Controle Diabético</i>	<i>Diabético Tratado</i>	<i>Controle Normal</i>	<i>Normal Tratado</i>
<i>Inicial</i>	113,7 a	110,7 b	65,6 d	76,5 c
<i>7 dias</i>	115,9 a	104,4 b	70,5 c	67,8 d
<i>14 dias</i>	118,7 a	102,7 b	70,3 c	65,2 d
<i>21 dias</i>	122,7 a	104,5 b	70,8 c	65,4 d
<i>30 dias</i>	128,1 a	104,7 b	72,5 c	60,8 d

CV (%) = 6,30

Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resumo da análise de variância para a variável triacilgliceróis (mg/dL).

Tempos	Grupos			
	<i>Controle Diabético</i>	<i>Diabético Tratado</i>	<i>Controle Normal</i>	<i>Normal Tratado</i>
<i>Inicial</i>	315,9 a	232,3 b	51,7 d	57,3 c
<i>7 dias</i>	326,2 a	161,3 b	51,2 c	44,3 d
<i>14 dias</i>	355,3 a	143,2 b	51,3 c	28,1 d
<i>21 dias</i>	390,3 a	140,2 b	57,3 c	31,3 d
<i>30 dias</i>	399,1 a	112,7 b	57,1 c	27,4 d

CV (%) = 13,10

Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resumo da análise de variância para a variável uréia urinária (mg/dL).

Tempos	Grupos			
	<i>Controle Diabético</i>	<i>Diabético Tratado</i>	<i>Controle Normal</i>	<i>Normal Tratado</i>
<i>Inicial</i>	7367 a	6890 b	3648 c	3466 d
<i>7 dias</i>	7244 a	4764 c	5533 b	2811 d
<i>14 dias</i>	7005 a	4944 c	5693 b	3158 d
<i>21 dias</i>	7205 a	5437 c	5742 b	5214 d
<i>30 dias</i>	7410 a	4705 d	5686 b	5535 c

CV (%) = 12,50

Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resumo da análise de variância para a creatinina urinária (mg/dL).

Tempos	Grupos			
	<i>Controle Diabético</i>	<i>Diabético Tratado</i>	<i>Controle Normal</i>	<i>Normal Tratado</i>
<i>Inicial</i>	69,4 a	64,3 b	36,5 c	26,3 d
<i>7 dias</i>	68,7 a	44,4 b	36,3 c	14,4 d
<i>14 dias</i>	68,6 a	47,7 b	35,4 c	14,5 d
<i>21 dias</i>	68,8 a	45,3 b	34,3 c	16,0 d
<i>30 dias</i>	68,8 a	43,2 b	38,0 c	14,7 d

CV (%) = 12,40

Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resumo da análise de variância para a variável glicemia urinária (mg/dL).

Tempos	Grupos			
	<i>Controle Diabético</i>	<i>Diabético Tratado</i>	<i>Controle Normal</i>	<i>Normal Tratado</i>
<i>Inicial</i>	13,2 c	16,2 a	11,2 d	14,7 b
<i>7 dias</i>	14,9 a	14,3 ab	13,5 b	10,7 d
<i>14 dias</i>	15,5 b	18,5 a	13,5 c	10,5 d
<i>21 dias</i>	15,0 b	17,5 a	14,5 b	9,9 c
<i>30 dias</i>	17,0 b	20,5 a	13,5 c	9,6 d

CV (%) = 14,55

Médias seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

APÊNDICE B - Tabelas de Análise de Variância

Resumo da análise de variância para a variável umidade

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	545.700040	181.900013	4086.263	0.0000
erro	16	0.712240	0.044515		
Total corrigido	19	546.412280			
CV (%) =	3.04				
Média geral:	6.9360000	Número de observações:		20	

Resumo da análise de variância para a variável acidez titulável

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	0.948615	0.316205	1252.297	0.0000
erro	16	0.004040	0.000253		
Total corrigido	19	0.952655			
CV (%) =	0.28				
Média geral:	5.6635000	Número de observações:		20	

Resumo da análise de variância para a sólidos solúveis.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	23.437500	7.812500	1.0E+0009	0.0000
erro	16	0.000000000E+0000	0.000000000E+0000		
Total corrigido	19	23.437500			
CV (%) =	0.30				
Média geral:	24.3750000	Número de observações:		20	

Resumo da análise de variância para a variável açúcares totais.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	0.000002	5.83333333E-0007	0.778	0.5234
erro	16	0.000012	7.50000000E-0007		
Total corrigido	19	0.000014			
CV (%) =	0.41				
Média geral:	0.2122500	Número de observações:		20	

Resumo da análise de variância para a variável açúcares redutores.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	0.098639	0.032880	297.353	0.0000
erro	16	0.001769	0.000111		
Total corrigido	19	0.100409			
CV (%) =	2.18				
Média geral:	0.4816500	Número de observações:		20	

Resumo da análise de variância para a variável fenólicos.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	9.898509	3.299503	244.312	0.0000
erro	16	0.216085	0.013505		
Total corrigido	19	10.114594			
CV (%) =	2.98				
Média geral:	3.9047000	Número de observações:		20	

Resumo da análise de variância para a variável extrato aquoso.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	9.000000	3.000000	0.526	0.6705
erro	16	91.200000	5.700000		
Total corrigido	19	100.200000			
CV (%) =	7.78				
Média geral:	30.7000000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável proteína.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	26.000415	8.666805	29.671	0.0000
erro	16	4.673480	0.292093		
Total corrigido	19	30.673895			
CV (%) =	4.24				
Média geral:	12.7505000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável extrato etéreo.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	43.999535	14.666512	80.218	0.0000
erro	16	2.925320	0.182833		
Total corrigido	19	46.924855			
CV (%) =	2.45				
Média geral:	17.4365000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável fibra bruta.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	30.769880	10.256627	17.833	0.0000
erro	16	9.202400	0.575150		
Total corrigido	19	39.972280			
CV (%) =	7.04				
Média geral:	10.7740000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável cinzas.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	3.126900	1.042300	751.207	0.0000
erro	16	0.022200	0.001388		
Total corrigido	19	3.149100			
CV (%) =	0.92				
Média geral:	4.0550000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável nitrogênio.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	125.151255	41.717085	463523.167	0.0000
erro	16	0.001440	0.000090		
Total corrigido	19	125.152695			
CV (%) =	0.04				
Média geral:	24.7545000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável fósforo.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	36.533920	12.177973	167972.046	0.0000
erro	16	0.001160	0.000073		
Total corrigido	19	36.535080			
CV (%) =	0.28				
Média geral:	3.0840000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável potássio.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	255.057360	85.019120	121023.658	0.0000
erro	16	0.011240	0.000702		
Total corrigido	19	255.068600			
CV (%) =	0.06				
Média geral:	42.4500000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável cálcio.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	0.420735	0.140245	221.731	0.0000
erro	16	0.010120	0.000633		
Total corrigido	19	0.430855			
CV (%) =	2.18				
Média geral:	1.1515000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável magnésio.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	1.312655	0.437552	1207.039	0.0000
erro	16	0.005800	0.000363		
Total corrigido	19	1.318455			
CV (%) =	0.83				
Média geral:	2.3065000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável enxofre.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	0.024420	0.008140	46.514	0.0000
erro	16	0.002800	0.000175		
Total corrigido	19	0.027220			
CV (%) =	0.80				
Média geral:	1.6530000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável boro.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	47.292120	15.764040	39410.100	0.0000
erro	16	0.006400	0.000400		
Total corrigido	19	47.298520			
CV (%) =	0.27				
Média geral:	7.3280000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável cobre.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	22.285855	7.428618	14082.689	0.0000
erro	16	0.008440	0.000528		
Total corrigido	19	22.294295			
CV (%) =	0.19				
Média geral:	12.2295000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável manganês.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	292.533775	97.511258	233559.900	0.0000
erro	16	0.006680	0.000418		
Total corrigido	19	292.540455			
CV (%) =	0.09				
Média geral:	23.1965000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável ferro.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	3143.074055	1047.691352	504911.495	0.0000
erro	16	0.033200	0.002075		
Total corrigido	19	3143.107255			
CV (%) =	0.14				
Média geral:	31.9485000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável zinco.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamentos	3	23.683060	7.894353	16977.104	0.0000
erro	16	0.007440	0.000465		
Total corrigido	19	23.690500			
CV (%) =	0.30				
Média geral:	7.1450000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável trigonelina.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamento	3	2.809215	0.936405	1930.732	0.0000
erro	16	0.007760	0.000485		
Total corrigido	19	2.816975			
CV (%) =	2.24				
Média geral:	0.9825000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável ácido clorogênico.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamento	3	56.045080	18.681693	3334.528	0.0000
erro	16	0.089640	0.005603		
Total corrigido	19	56.134720			
CV (%) =	5.13				
Média geral:	1.4580000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável cafeína.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
tratamento	3	2813.703055	937.901018	1.005	0.0460
erro	16	14928.750800	933.046925		
Total corrigido	19	17742.453855			
CV (%) =	3.72				
Média geral:	8.1735000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável quelante de Fe²⁺.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	3	1536.614119	512.204706	1.0E+0009	0.0000
concentracao	3	1037.292319	345.764106	1.0E+0009	0.0000
cafes*concentracao	9	401.981006	44.664556	1.0E+0009	0.0000
erro	0	0.000000000E+0000	0.00000000E+0000		
Total corrigido	15	2975.887444			
CV (%) =	0.09				
Média geral:	13.3218750	Número de observações:	16		

Resumo da análise de variância para a variável atividade antioxidante – DPPH

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
cafes	5	19047.267461	3809.453492	3811.036	0.0000
concentracao	3	514.569800	171.523267	171.595	0.0000
concentracao*cafes	15	262.680250	17.512017	17.519	0.0000
erro	48	47.980067	0.999585		
Total corrigido	71	19872.497578			
CV (%) =	1.64				
Média geral:	61.1094444	Número de observações:	72		

Resumo da análise de variância para a variável capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	190.184700	63.394900	633949.000	0.0000
erro	8	0.000800	0.000100		
Total corrigido	11	190.185500			
CV (%) =	0.08				
Média geral:	12.3950000	Número de observações:	12		

Resumo da análise de variância para a variável peroxidação do rim.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
grupo	3	0.061933	0.020644	4.674	0.0361
erro	8	0.035333	0.004417		
Total corrigido	11	0.097267			
CV (%) =	13.20				
Média geral:	0.5033333	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável peroxidação do fígado.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
grupo	3	0.806158	0.268719	35.397	0.0000
erro	8	0.060733	0.007592		
Total corrigido	11	0.866892			
CV (%) =	11.84				
Média geral:	0.7358333	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável peso do fígado.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
grupos	3	93.421981	31.140660	11.970	0.0002
erro	17	44.228133	2.601655		
Total corrigido	20	137.650114			
CV (%) =	14.33				
Média geral:	11.2542857	Número de observações:		21	

Resumo da análise de variância para a variável peso do rim.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
grupos	3	5.193858	1.731286	16.390	0.0000
erro	17	1.795723	0.105631		
Total corrigido	20	6.989581			
CV (%) =	11.99				
Média geral:	2.7109524	Número de observações:		21	

Resumo da análise de variância para a variável colesterol HDL.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ratos	3	4328.200000	1442.733333	32.531	0.0000
erro	16	709.600000	44.350000		
Total corrigido	19	5037.800000			
CV (%) =	18.55				
Média geral:	35.9000000	Número de observações:		20	

Resumo da análise de variância para a variável colesterol LDL.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ratos	3	2522.000000	840.666667	8.078	0.0017
erro	16	1665.200000	104.075000		
Total corrigido	19	4187.200000			
CV (%) =	24.17				
Média geral:	42.2000000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável uréia sérica.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ratos	3	61.200000	20.400000	0.753	0.5367
erro	16	433.600000	27.100000		
Total corrigido	19	494.800000			
CV (%) =	12.28				
Média geral:	42.4000000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável creatinina sérica.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ratos	3	0.054000	0.018000	6.545	0.0043
erro	16	0.044000	0.002750		
Total corrigido	19	0.098000			
CV (%) =	18.08				
Média geral:	0.2900000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável TGO / AST.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ratos	3	194395.350000	64798.450000	8.000	0.0017
erro	16	129600.400000	8100.025000		
Total corrigido	19	323995.750000			
CV (%) =	15.86				
Média geral:	196.2500000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável TGP / ALT.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
ratos	3	93040.800000	31013.600000	13.011	0.0001
erro	16	38138.000000	2383.625000		
Total corrigido	19	131178.800000			
CV (%) =	12.46				
Média geral:	150.4000000	Número de observações:	20		

Resumo da análise de variância para a variável lipídios fecais.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
grupos	3	1.314825	0.438275	87.219	0.0000
erro	8	0.040200	0.005025		
Total corrigido	11	1.355025			
CV (%) =	2.31				
Média geral:	3.0675000	Número de observações:	20		