



FERNANDA PAOLA DE PÁDUA GANDRA

**EFEITO DA ADULTERAÇÃO DO CAFÉ NA
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO***

LAVRAS – MG

2012

FERNANDA PAOLA DE PÁDUA GANDRA

**EFEITO DA ADULTERAÇÃO DO CAFÉ NA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE *IN VITRO***

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

Orientadora

Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira

Coorientador

Dr. Michel Cardoso De Angelis Pereira

LAVRAS – MG

2011

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

Gandra, Fernanda Paola de Pádua.

Efeito da adulteração do café na atividade antioxidante *in vitro* /
Fernanda Paola de Pádua Gandra. – Lavras : UFLA, 2012.
88 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Rosemary Gualberto F. A. Pereira.

Bibliografia.

1. Antioxidantes. 2. Estresse oxidativo. 3. Adulterantes. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 663.93

FERNANDA PAOLA DE PÁDUA GANDRA

**EFEITO DA ADULTERAÇÃO DO CAFÉ NA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE *IN VITRO***

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

APROVADA em 18 de novembro de 2011.

Dra. Mirian Pereira Rodarte UFJF

Dr. Michel Cardoso De Angelis Pereira UFLA

Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira
Orientadora

LAVRAS – MG

2011

Aos meus pais, Antônio e Márcia.

Aos meus irmãos Tom, Renata, Ricardo e Aurélio.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde, força e coragem.

À Universidade Federal de Lavras e ao departamento de Ciência dos Alimentos por permitirem a realização deste trabalho.

À professora Dra. Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira, pela orientação, confiança, amizade e oportunidade de me desenvolver profissionalmente.

Ao professor Dr. Michel pelas valiosas sugestões, pelos conselhos e amizade.

Ao Dr. Marcelo Ribeiro Malta pela realização das análises de CLAE.

Ao professor Dr. João de Deus pelas sugestões nas análises estatísticas.

À Tina, Renato e William pela atenção e colaboração.

À Adriene Ribeiro Lima, minha companheira de trabalho e amiga. Aos amigos Vanderley Almeida e Míriam Helena pela valiosa contribuição.

As minhas queridas amigas Aline, Amanda, Angélica, Kedma, Mariana, Renata e Thais pelos inúmeros momentos de felicidade.

Aos amigos, colegas e funcionários do Polo de Tecnologia e Qualidade do Café pelos bons momentos compartilhados.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da adulteração do café sobre a atividade antioxidante *in vitro*. O café foi adulterado com diferentes concentrações de casca de café, milho e palha melosa (0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% e 100%) testados separadamente. Em todos os experimentos, a bebida foi preparada segundo uma mesma metodologia. Foram determinados os teores de compostos fenólicos, cafeína, trigonelina e ácido clorogênico nas bebidas. A avaliação da atividade antioxidante *in vitro* foi verificada através dos métodos de sequestro do radical DPPH, poder redutor, atividade quelante de ferro e inibição da lipoperoxidação. A concentração de compostos fenólicos, cafeína e ácido clorogênico das amostras diminuíram com o aumento da concentração de adulterantes. Os teores de trigonelina de cafés com casca e palha melosa aumentaram com a adição destes resíduos. Cafés com milho apresentaram teores decrescentes de trigonelina com o aumento da concentração do adulterante. A adição de adulterantes reduziram a capacidade sequestrante de radicais livres, o poder redutor, a atividade quelante de ferro e a capacidade de inibir lipoperoxidação da bebida de café. Os resultados demonstram que a adição de casca, milho e palha melosa ao café prejudica a capacidade antioxidante da bebida de café, reduzindo a proteção contra o estresse oxidativo.

Palavras-chave: Café. Adulteração. Antioxidantes. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

The present study had as objective to evaluate the effect of the coffee adulteration on the antioxidant activity *in vitro*. The coffee was adulterated with different concentrations of coffee hulls, maize and saccharine straw (0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% and 100%) tested separately. In all experiments, the drink was prepared according to the same methodology. The contents of phenolic compounds were determined, caffeine, trigonelline and chlorogenic acid in beverages. The evaluation of antioxidant activity *in vitro* was verified by the methods of radical kidnapping DPPH, reducing power, iron chelation activity and inhibition of lipoperoxidation. The concentration of phenolic compounds, caffeine and chlorogenic acid of the samples decreased with increasing concentration of adulterants. The contents of trigonelline in coffee with husk and saccharine straw increased with the addition of these residues. Coffee with maize showed decreasing levels of trigonelline with increasing concentration of the adulterant. The adulterant addition reduced the kidnapping capacity of free radicals, the reducing power, the iron chelation activity and the ability to inhibit lipid peroxidation of drink coffee. The results show that the addition of husk, maize and saccharine straw to coffee affect the antioxidant capacity of drink coffee, reducing the protection against oxidative stress.

Keywords: Coffee. Adulteration. Antioxidants. Oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Teores de compostos fenólicos (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa.....	52
Figura 2	Teores de cafeína (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa.....	55
Figura 3	Teores de trigonelina (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa.....	58
Figura 4	Teores de ácido 5-cafeoilquínico (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa.....	61
Figura 5	Atividade sequestrante de DPPH (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa.....	64
Figura 6	Poder redutor (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa.....	68
Figura 7	Atividade quelante de Fe ²⁺ (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa.....	70
Figura 8	Inibição da lipoperoxidação (%) das bebidas de café adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Teores (%) de alguns constituintes de grãos crus e torrados das espécies arábica e conilon	27
Tabela 2	Análise de cor dos grãos de café, palha e casca torrados e moídos, de acordo com os parâmetros de cromaticidade da escala CIE L* a* b*	49

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico
AAPH	Dicloridrato do 2,2'-azobis-(2-metilpropanoamidina)
AQF	Atividade Quelante de Ferro
ASRL	Atividade Sequestrante de Radicais Livres
BHT	Butil-hidróxi-tolueno
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazina
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
MDA	Malonaldeído
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TRAP	<i>Total Reactive Antioxidant Potential</i>
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Importância econômica do café no Brasil	15
2.2	Histórico do consumo e da qualidade do café torrado e moído no Brasil	16
2.3	Fraudes em cafés	18
2.4	Composição química dos adulterantes	20
2.5	Torração do café	22
2.6	Composição química dos grãos crus e torrados	23
2.7	Café e saúde	27
2.8	Estresse oxidativo	29
2.9	Lipoperoxidação	31
2.10	Mecanismo de defesa antioxidante	31
2.11	Proteção antioxidante do café	33
2.12	Métodos de avaliação da atividade antioxidante	34
2.12.1	Métodos de avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i>	35
2.12.1.1	ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)	36
2.12.1.2	TRAP (Total Reactive Antioxidant Potencial)	37
2.12.1.3	Sequestro do radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina)-6-sulfônico)	38
2.12.1.4	Cooxidação de Substratos	38
2.12.1.5	Sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) ..	39
2.12.1.6	Poder redutor	40
2.12.1.7	Atividade quelante de ferro	40
2.12.1.8	Determinação de inibição da lipoperoxidação	40
3	MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1	Matéria-prima e local de execução	42
3.2	Preparo das amostras	42
3.3	Análise de cor	43
3.4	Preparo da bebida	43
3.5	Determinação de fenólicos totais	44
3.6	Determinação dos teores de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico	44
3.7	Atividade antioxidante <i>in vitro</i>	45

3.7.1	Atividade sequestrante de radicais livres DPPH	45
3.7.2	Poder redutor	45
3.7.3	Avaliação da atividade quelante de íons Fe ²⁺	46
3.7.4	Avaliação da capacidade de inibir lipoperoxidação	46
3.8	Delineamento experimental e análise estatística	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	Análise de cor	49
4.2	Determinação de compostos fenólicos	51
4.3	Cafeína, trigonelina e ácido clorogênico	54
4.3.1	Cafeína	54
4.3.2	Trigonelina	57
4.3.3	Ácido clorogênico	60
4.4	Atividade sequestrante de radicais livres DPPH (ASRL)	63
4.5	Poder redutor	67
4.6	Atividade quelante de ferro (AQF)	69
4.7	Lipoperoxidação	72
5	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

O setor cafeeiro do Brasil se destaca por possuir baixo custo de produção e alta produtividade, o que lhe garante a competitividade no mercado internacional. A cadeia produtiva e de processamento do café absorve matérias-primas de outros setores e fornece insumos para diversas indústrias, apresentando assim interligações com outros setores da economia.

Por ser um produto de valor econômico significativo, o café tem sido alvo de adulterações por muitas torrefadoras, a fim de aumentar as margens de lucro. O café moído é bastante vulnerável a adulteração, uma vez que apresenta características físicas que são facilmente reproduzidas por torração e moagem de uma variedade de materiais. No Brasil, os adulterantes encontrados com maior frequência no café torrado e moído são os resíduos do beneficiamento dos frutos secos, milho, paus, cevada, trigoilho, açúcar mascavo e soja.

A prática de adulterar o café existe há vários anos e teve seu auge por volta de 1980, que ocasionou a queda da qualidade do café comercializado no país naquela época. A preocupação com a qualidade do café surgiu então em 1989, quando a Associação Brasileira das Indústrias de Café, a ABIC, criou o Programa de Controle do Café Torrado e Moído/Selo de Pureza ABIC.

Apesar da consolidação do selo de pureza, a ocorrência de fraudes ainda é frequente. Em uma pesquisa realizada em 2008/2009 com cafés comerciais de Minas Gerais, cerca de 50% estavam adulterados (MERCADO MINEIRO, 2009). A ABIC considera a adulteração um dos problemas mais graves que afetam a qualidade do café brasileiro (JHAM et al., 2008).

As fraudes em alimentos comprometem não só a qualidade, mas também o valor nutricional do produto. Dessa maneira, cafés adulterados podem apresentar qualidade inferior e composição química alterada, comprometendo

até mesmo o conteúdo de compostos bioativos que conferem à bebida poder antioxidante.

Pesquisas têm demonstrado que a capacidade antioxidante do café se deve a um conjunto de compostos tais como a cafeína, ácidos clorogênicos e produtos da reação de Maillard, como melanoidinas. O desenvolvimento de estudos relacionados à atividade biológica do grão e de constituintes do café verde e, especialmente, do café torrado que é utilizado para preparar diferentes tipos de bebidas tem contribuído para o aumento do consumo entre os brasileiros.

Além dos possíveis efeitos à saúde atribuídos ao café, o consumo crescente está relacionado ao conceito de qualidade que se refere a um produto aromático, saboroso e sem misturas. Assim, a pureza do café ainda constitui uma preocupação para os consumidores, visto que os efeitos das fraudes são desconhecidos.

Diante do exposto, o presente trabalho propõe-se a determinar os efeitos da adulteração do café sobre a atividade antioxidante *in vitro*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância econômica do café no Brasil

Apenas *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre têm importância para a economia global (ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO CAFÉ - OIC, 2010). A espécie *Coffea arabica* L representa mais de 70% da produção mundial e possui grande importância para as regiões que a cultivam, uma vez que seu produto é de qualidade superior e de maior aceitação em todos os mercados consumidores comparado com *Coffea canephora* (MARTÍN; PABLOS; GONZÁLEZ, 1998; OIC, 2010).

A produção do café ocorre em diferentes regiões do mundo, sendo o Brasil o maior produtor e exportador (GOTTELAND; DE-PABLO, 2007). Desde 1987 até 2000, em torno de 30% da produção mundial de cerca de 100 milhões de sacas de café ao ano, eram provenientes do Brasil. No final da década de 1990, esse produto gerou mais de três bilhões de dólares em receitas cambiais para o país. Embora o café tenha, ao longo do tempo, diminuído sua participação nas exportações brasileiras, devido à diversificação de produtos exportados, constitui-se, ainda hoje, um expressivo gerador de divisas. Exemplo disso é que o café, em 2008, representou cerca de 2,37% da pauta de exportação sendo 0,5% do PIB brasileiro (OIC, 2010)

A Associação brasileira de indústrias de café (ABIC) representa atualmente 500 empresas de torrefação e moagem de café de todo o país sendo que as dez maiores empresas concentram 75,28% da produção total das empresas associadas. As menores empresas tiveram sua participação em nível de 7,07% da produção total das associadas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ - ABIC, 2010b, 2011).

Dentre os principais estados brasileiros responsáveis pela produção de café destacam-se Minas Gerais, Espírito Santo, Rondônia, Bahia, São Paulo e Paraná, sendo que a maior parte das indústrias processadoras de café está concentrada na região Sudeste. Minas Gerais possui mais de 25% dessas empresas e 38% das empresas mineiras são responsáveis por mais de 90% do volume total de café processado (ORMOND; PAULA; FERREIRA FILHO, 1999; SANTOS et al., 2007).

2.2 Histórico do consumo e da qualidade do café torrado e moído no Brasil

No Brasil, o consumo interno de café antes de 1959 era relativamente baixo, visto que se situava em torno de 2,8 milhões de sacas ao ano. Através da adoção de políticas de valorização do produto nos anos 50, houve excesso de produção no final desta década, o que forçou o governo a lançar, em 1958, a “Campanha de Aumento do Consumo Interno de Café”. Após a implantação da campanha houve um aumento de 5,12 milhões de sacas no volume consumido, o que tornou o Brasil o segundo maior consumidor de café no mundo, ficando atrás apenas dos EUA (VEGRO, 2002).

Na década de 1980 houve drástica retração do consumo de café relacionada com a qualidade do produto vendido no mercado brasileiro, visto que as matérias-primas de qualidade eram destinadas ao mercado externo. A competição no mercado de café torrado e moído era por preço, não havia uma segmentação por meio da qualidade do produto, favorecendo assim a ocorrência de fraudes que intensificou neste período. Sendo assim, o consumidor não fazia distinção entre os cafês, nivelados pela baixa qualidade (LEME, 2007; SAES; JAYO, 1998). Uma pesquisa concluída em janeiro de 1988 mostrava que 67% dos brasileiros consideravam o café consumido no mercado interno de má qualidade (ORMOND; PAULA; FERREIRA FILHO, 1999).

A preocupação com as fraudes e com a qualidade de cafés comercializados surgiu no final da década de 80 quando a Associação Brasileira de Café, a ABIC criou o Programa de Controle do Café Torrado e Moído/Selo de Pureza ABIC, um programa de autorregulamentação do setor, ainda vigente, que atesta a pureza dos cafés comercializados (ABIC, 2010b). O consumidor passou a identificar o selo de pureza, e a sua presença na embalagem do café passou a ser reconhecida como um indicador de qualidade (ORMOND; PAULA; FERREIRA FILHO, 1999).

Dessa forma, o consumo na década de 90 caracterizou-se pela busca da melhoria da qualidade (VEGRO, 2002). O consumo passou de 2,9 quilos *per capita* em 1992 para 3,6 quilos em 1998 (equivalente a 12,2 milhões de sacas de café verde), um crescimento de 24%, apesar do aumento significativo dos preços do café a partir de 1994. Porém, a taxa de crescimento foi de apenas 0,2% ao ano nesta década, condição considerada por alguns analistas como de estagnação do consumo (ORMOND; PAULA; FERREIRA FILHO, 1999).

Em 2004, uma pesquisa sobre o consumo de café realizada pela ABIC mostrou que a qualidade em café era traduzida basicamente pela pureza, consistência e aroma. A pesquisa revelou ainda, que os consumidores tinham a percepção de que o café não era benéfico à saúde (ABIC, 2004).

O consumo de café atual caracteriza-se pela procura cada vez maior por cafés especiais (descafeinado, *gourmet*, orgânico, de origem certificada) (ABIC, 2011; LEME, 2007; SAES; JAYO, 2006). Os efeitos estimulantes e os possíveis benefícios à saúde atribuídos ao café também têm contribuído para o aumento do consumo do produto entre os brasileiros. Além disso, houve consolidação do conceito de qualidade e de um bom café como sendo um produto sem misturas, aromático e saboroso (ABIC, 2011).

Estes atributos fazem com que o consumo de café seja cada vez mais crescente. No período compreendido entre novembro de 2009 e outubro de 2010

a ABIC registrou o consumo de 19,13 milhões de sacas, isto representando um acréscimo de 4,03% em relação ao período anterior correspondente. O consumo *per capita* foi de 6,02 kg de café em grão cru ou 4,81 kg de café torrado, quase 81 litros para cada brasileiro por ano (ABIC, 2011).

O crescimento do consumo e a grande oferta nos mercados nacional e internacional fez com que o setor produzisse e comercializasse cada vez mais cafés de qualidade (ABIC, 2004). Porém, a qualidade do café ainda constitui uma preocupação para os consumidores e para as autoridades sanitárias visto que este produto ainda é alvo de adulterações (JHAM et al., 2008).

Em 2010 as entidades responsáveis pela legislação do café regulamentaram normas para o café torrado em grão e torrado e moído a fim de garantir a qualidade do produto comercializado no país. O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceu a Instrução Normativa nº 16 que tem por objetivos definir o padrão oficial de classificação do café torrado em grão e o do café torrado e moído, considerando os requisitos de identidade e qualidade, amostragem, o módulo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto (BRASIL, 2010).

2.3 Fraudes em cafés

As fraudes em alimentos são alterações, adulterações e falsificações realizadas com a finalidade de obtenção de maiores lucros. Estas operações comprometem características sensoriais e muitas vezes o valor nutritivo dos alimentos. Os produtos fraudados podem ter sabor e aparência similares e mesmo valor comercial do produto original (EVANGELISTA, 2005).

Como um produto de consumo, o café moído é bastante vulnerável a adulteração, uma vez que apresenta características físicas que são facilmente

reproduzidas por torrefação e moagem de uma variedade de produtos como cereais, sementes, raízes e pergaminhos (OLIVEIRA et al., 2008).

No Brasil, os materiais encontrados com maior frequência no café torrado e moído são cascas, paus, milho, cevada, trigoilho, açúcar mascavo e soja. De acordo com Lopez (1983), os adulterantes mais comumente usados desde a década de 80 são milho, cevada, trigo e centeio, em concentrações que variam entre 20 e 40%.

Análises de amostras de café realizadas no final da década de 90 mostraram que mais de 30% das marcas de café analisadas burlavam a legislação, com impurezas (cascas, palha etc.) acima do limite de tolerância ou com misturas de outras substâncias no café torrado e moído (adição de milho, cevada, centeio e caramelo) (ORMOND; PAULA; FERREIRA FILHO, 1999). Em uma pesquisa realizada em 2008/2009 com cafés comerciais de Minas Gerais, cerca de 50% estavam adulterados (MERCADO MINEIRO, 2009).

Em outubro de 2006, a ABIC divulgou nomes de empresas não associadas à ABIC que estavam comercializando cafés com impurezas. Das 43 amostras de cafés coletadas destas empresas, de abril a junho do mesmo ano, 37 estavam adulteradas com cascas e paus, com concentrações variando de 1,5% a 11,5%; e 3 amostras adulteradas com milho, com as seguintes porcentagens: 27%, 42,5 % e 83%. Outras duas amostras possuíam caramelo e trigo. Algumas amostras adulteradas com cascas e paus possuíam outros tipos de impurezas como a cevada, o caramelo, e a aveia (ABIC, 2010b).

De acordo com a Normativa n. 16, o percentual máximo em conjunto de impurezas, sedimentos e matérias estranhas será de 1,0%. Isoladamente, o percentual máximo de impurezas será de 0,1%. A amostragem deverá ser realizada coletando-se o café torrado em grão e torrado e moído ao acaso em sua embalagem original e inviolada, a fim de garantir a preservação de sua qualidade e confiabilidade dos resultados da classificação e da análise (BRASIL, 2010).

Ao longo dos anos, vários estudos foram realizados com a finalidade de detectar as fraudes (LOPEZ, 1983; OLIVEIRA et al., 2008), já que a fiscalização não é eficiente ficando a cargo apenas da ABIC.

2.4 Composição química dos adulterantes

Os adulterantes usados para fraudar o café torrado e moído possuem algumas características específicas como baixo valor econômico (em relação ao café), disponibilidade no mercado, e similaridade ao café após a torração e moagem. Além de afetar sensorialmente, a adição de adulterantes pode comprometer a composição química do café e até mesmo causar danos à saúde dos consumidores.

Os principais contaminantes utilizados para fraudar café são milho, cascas, cevada e açúcar (LOPEZ, 1983).

O milho tem sido considerado o adulterante mais amplamente utilizado, devido ao seu custo significativamente menor em relação ao café (JHAM et al., 2008). Os grãos do milho são geralmente amarelos ou brancos e contêm de 61-78% de amido, 6-12 proteínas, 2-4% fibra, 3-6% de óleo e 1-4% minerais, distribuídos de forma heterogênea nas quatro principais estruturas físicas que formam o grão: endosperma, gérmen, pericarpo (casca) e ponta (PAES, 2010).

Os resíduos do beneficiamento do café, como casca e palha melosa, também são frequentemente usados nas fraudes devido à semelhança com o café torrado e moído e grande volume produzido.

No processamento do café por via seca, após a lavagem preliminar e a separação dos frutos em diferentes estádios de maturação, procede-se à secagem. Estes frutos denominados de café em coco podem ser beneficiados nas propriedades cafeeiras, unidades de beneficiamento volantes ou empresas de comercialização do produto. Estas operações de limpeza e descascamento geram

proporções semelhantes de café beneficiado e resíduos sólidos. Aproximadamente 50% destes resíduos são gerados, representando um problema de ordem econômica, ambiental e social.

Durante o beneficiamento, dois tipos de resíduos distintos são produzidos: a palha melosa e a casca (OLIVEIRA et al., 2008). Vilela et al. (2001) definem casca melosa como casca de café sem pergaminho, composta pela mucilagem ou mesocarpo e casca ou epicarpo. Brand et al. (2001) afirmam que a palha melosa é rica em carboidratos (35%), proteínas (5,2%), fibras (30,8%) e minerais (10,7%).

Já a casca é composta de epicarpo e endocarpo (pergaminho). Os trabalhos de Barcelos et al. (1997a, 1997b) mostram, respectivamente que a casca de café mista (casca e pergaminho) apresentam 89,7 e 87,7% de matéria seca, 10,3 e 11,4% de proteína bruta, 51,7 e 48,4% de FDN, 42,0 e 33,0% de FDA, 1,9 e 1,8% de EE, 0,43 e 0,21% de cálcio e 0,09 e 0,12% de fósforo.

A separação destes dois resíduos é feita por diferença de densidade de ambos através de processos mecânicos de ventilação (VILELA et al., 2001). Na prática, no momento da separação da casca e da palha melosa, algum conteúdo de pergaminho é separado junto à palha melosa.

O pergaminho ou endocarpo é um componente fibroso que representa de 28,7 a 38,8% da casca e é composto basicamente por 37% de celulose, 25% de hemicelulose e de 9,3 a 13,5% de lignina em base seca (BARCELOS et al., 2002; FIGUEIREDO et al., 2008). A mucilagem está aderida ao pergaminho a qual constituída por água, pectinas, açúcares e ácidos orgânicos (MATOS; LO MONACO; GARCIA, 2010).

2.5 Torração do café

Durante a torração dos grãos de café, ocorrem consideráveis mudanças químicas responsáveis pelo aroma e sabor final da bebida (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006). Os grãos de café são submetidos a altas temperaturas por diferentes tempos dependendo das características desejadas para o produto final (ALESSANDRINI et al., 2008).

Várias reações ocorrem durante a torração dos grãos: a degradação de Strecker, reação de Maillard, a caramelização de açúcares e a degradação de ácidos clorogênicos (CLARKE; MACRAE, 1985; RODARTE, 2008; TOCI; FARAH; TRUGO, 2006).

Na degradação de Strecker ocorre uma reação entre aminoácidos e compostos dicarbonílicos. O aminoácido perde um carbono e ocorre formação de aldeído e CO₂. Os aminoácidos livres podem ser degradados durante a torração, ou combinados com outros componentes, gerando uma mistura de complexos voláteis e não voláteis (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006).

A reação de Maillard é uma reação de escurecimento não enzimático e caracteriza-se pela combinação do grupamento carbonila de carboidratos redutores com o grupo amínico de aminoácidos, proteínas e peptídeos. As melanoidinas (produto da reação de Maillard) representam 25% da matéria seca do café, geralmente possuem alto peso molecular, cor castanha e tem sido foco de várias pesquisas relacionadas a sua atividade antioxidante, anti-hipertensiva, poder de ligação a metais e efeitos antimicrobianos (BEKEDAM et al., 2008a, 2008b; TOCI; FARAH; TRUGO, 2006). Já foi comprovado que o ácido cafeico e o ácido quínico são quimicamente incorporados nas melanoidinas durante a torração. O mecanismo de ação antioxidante associado com as melanoidinas envolve a transferência de átomos de hidrogênio e transferência de elétrons (BEKEDAM et al., 2008a; LIU; KITTS, 2011).

As propriedades químicas e funcionais das melanoidinas do café não são totalmente compreendidas, devido à composição química extremamente complexa dessas moléculas (BEKEDAM et al., 2008a). Exemplificando este fato contraditório, outros estudos mostram a formação de radicais livres durante a torração (GOODMAN; PASCUAL; YERETZIAN, 2011).

2.6 Composição química dos grãos crus e torrados

O fruto do cafeeiro é formado pelo grão (endosperma + embrião), que é envolvido pelo pergaminho ou endocarpo, pela mucilagem ou mesocarpo, e finalmente pela casca ou epicarpo (MATOS; LO MONACO; GARCIA, 2010).

A composição química do café cru depende da espécie e da variedade em questão, e também de outros fatores como práticas agrícolas, grau de maturação do fruto do café, processamento primário e condições de estocagem (TOLEDO; BARBOSA, 1997).

O grão de café cru possui além de uma grande variedade de minerais como potássio (K), magnésio (Mg), cálcio (Ca), sódio (Na), ferro (Fe), manganês (Mn), rubídio (Rb), zinco (Zn), cobre (Cu), estrôncio (Sr), cromo (Cr), vanádio (V), bário (Ba), níquel (Ni), cobalto (Co), chumbo (Pb), molibdênio (Mo), titânio (Ti) e cádmio (Cd); aminoácidos como alanina, arginina, asparagina, cisteína, ácido glutâmico, glicina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, tirosina, valina; lipídeos como triglicérides e ácidos graxos livres, açúcares como sucrose, glicose, frutose, arabinose, galactose, maltose e polissacarídeos. Adicionalmente, o café também possui uma vitamina do complexo B, a niacina (vitamina B3, PP ou “*Pelagra Preventing*” do inglês) e, em maior quantidade que todos os demais componentes, os ácidos clorogênicos, na proporção de 7 a 10 %, isto é, 3 a 5 vezes mais que a cafeína (ABIC, 2010a).

As proteínas, no café, estão livres no citoplasma ou ligadas a polissacarídeos de parede celular. Os teores de proteínas presentes nos grãos de café variam de 8,7% a 16%, e a maioria é solúvel em água, representada principalmente pela fração albumina. Outras possuem atividade enzimática, como as lipases, as proteases, a catalase e as peroxidases. No processo de torração, as proteínas são desnaturadas e degradadas em moléculas menores. Algumas proteínas também reagem com carboidratos (reação de Maillard) ou com compostos fenólicos (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006).

Os açúcares predominantes no café são os não redutores, particularmente a sacarose; os redutores se apresentam em quantidades pequenas. Durante a torração, a sacarose é rapidamente degradada, ocorrendo caramelização, acompanhada pela produção de gás carbônico. A natureza e o conteúdo desses açúcares são essenciais para o *flavor* do café, para a formação do pigmento e outras moléculas. Os teores de sacarose dependem da espécie, variedade e grau de maturidade (ABRAHÃO, 2007).

O conteúdo de sólidos solúveis é de grande importância para a qualidade da bebida e para o rendimento industrial, havendo uma variação no teor de sólidos entre diferentes espécies e cultivares, o grau de torração e o tipo de moagem.

Os lipídeos do café localizam-se principalmente no citossol e se apresentam na forma de gotículas em todas as regiões da semente. Qualquer mudança na estrutura das membranas, causada por injúrias, ativa as lipases, ocasionando o aumento da quantidade de ácido graxo livre (AMORIM, 1972). Monteiro e Turgo (2005) encontraram percentagem de lipídeos de 16% para o café arábica e de 10% para o café robusta.

A cafeína possui estabilidade a torração e é um dos componentes do café que sempre recebeu maior atenção, por causa de suas propriedades fisiológicas e farmacológicas, principalmente em relação ao seu efeito na redução do sono e às

propriedades estimulantes. O teor de cafeína nas sementes do cafeeiro depende da espécie: no *C. arabica*, o conteúdo médio é de 12g/ kg; já no *C. canephora*, em torno de 22g/ kg, e o *C. bengalensis* não produz esse alcaloide (SCREENATH, 1997).

A trigonelina representa cerca de 1% do grão, e sua principal importância está nos produtos formados após a degradação térmica. Ao ser degradada, gera a niacina, uma vitamina pertencente ao grupo de vitaminas do complexo B (VIANI; HORMAN, 1974). A niacina é considerada como fator preventivo da pelagra e é precursora das coenzimas NAD e NADP, importantes em várias reações enzimáticas de oxidação (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006). Além disso, a trigonelina possui uma baixa toxicidade comparada com a cafeína, atuando principalmente no sistema nervoso central, na secreção de ácidos biliares no intestino (SALDAÑA, 1997).

A trigonelina e os ácidos clorogênicos sofrem intensa degradação térmica, durante o processamento do grão, gerando uma série de compostos voláteis, importantes para o “*flavor*” da bebida, por exemplo, derivados de piridina e do pirrol, oriundos da trigonelina e compostos fenólicos, provenientes dos ácidos clorogênicos (NOGUEIRA; TRUGO, 2003).

Os ácidos clorogênicos são um conjunto de 5 grupos principais de compostos fenólicos e seus isômeros formados, principalmente, pela esterificação do ácido quínico com um dos seguintes ácidos derivados do ácido cinâmico: o ácido cafeico, o ferúlico, ou o *p*-cumárico. Estes grupos são ácidos cafeoilquínicos, com três isômeros principais (3, 4, 5); os ácidos dicafeoilquínicos, cujos isômeros principais são 3,4; 3,5; 4,5; ácidos feruloilquínicos (3, 4, 5), ácidos *p*-cumaroilquínicos, e os ácidos cafeoilferuloilquínicos (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006).

Os principais grupos de isômeros dos ácidos clorogênicos encontrados no café são os ácidos cafeoilquínicos, os dicafeoilquínicos e os feruloilquínicos.

Com a torração, ocorre diminuição dos teores de ácido clorogênico. Mais especificamente, os ácidos clorogênicos são convertidos em compostos de aroma durante a torração e podem ser incorporados a melanoidinas (BEKEDAM et al., 2008a).

Os ácidos clorogênicos e seus isômeros são os principais componentes da fração fenólica dos grãos de café *in natura*, alcançando teores de até 14% (em peso seco). Estes compostos apresentam propriedades benéficas à saúde, não só devido à sua potente atividade antioxidante, mas também como agentes hepatoprotetores, hipoglicemiantes e antivirais (FARAH et al., 2008). Nogueira e Trugo (2003) verificaram que dentro dos ácidos clorogênicos, o ácido 5-cafeoilquínico foi o composto predominante nas amostras analisadas.

A trigonelina, os ácidos clorogênicos e a cafeína, são facilmente solubilizados em água quente e, portanto, estarão presentes na bebida do café, em teores dependentes de suas estabilidades aos processos degradativos que ocorrem durante a torração. O processo de torrefação reduz os teores de ácidos clorogênicos totais e de trigonelina e aumenta os de cafeína (NOGUEIRA, 2000).

A Tabela 1 representa a composição química do café que varia de acordo com a espécie. Os grãos crus quando submetidos aos tratamentos térmicos fornecem bebidas com características sensoriais diferenciadas devido a variações na composição química dos grãos (CLARKE et al., 2003).

Tabela 1 Teores (%) de alguns constituintes de grãos crus e torrados das espécies arábica e conilon

Constituintes	Arábica Cru	Arábica Torrado
Cafeína	0,9-1,2	1,0-1,3
Trigonelina	1,0-1,2	0,5-1,0
Cinzas	3,0-4,2	3,0-4,5
Ácidos Clorogênicos	5,5-8,0	2,5-4,5
Outros Ácidos	1,5-2,0	1,0-2,4
Sacarose	6,0-8,0	0,0
Açúcares Redutores	0,1-1,0	0,2-0,3
Polissacarídeos	44,0-55,0	24,0-39,0
Proteínas	11,0-13,0	7,8-10,4
Aminoácidos	0,5	0,0
Lipídeos	14,0-16,0	14,0-20,0
Sólidos Solúveis	23,8-27,3	26,8-30,1

Fonte: Illy e Viani (1995) e Ramalalsh e Raghavan (1999)

2.7 Café e saúde

O café é a segunda bebida mais consumida no mundo, devido não apenas ao sabor e aroma, mas também por seus efeitos estimulantes (PÉREZ-MARTINEZ et al., 2010). Numerosos estudos relacionados à segurança do café e as implicações da sua bebida na saúde têm sido realizados. A esta bebida, em função de sua composição química, têm sido atribuídas inúmeras vantagens e desvantagens para a saúde humana (ABRAHÃO, 2007).

Pesquisas apontam um efeito benéfico do café no desenvolvimento de determinadas doenças como asma, doença de Parkinson e Alzheimer. Além

disso, o café aumenta a capacidade de trabalho físico e mental, do estado de alerta e vigília e memória (ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009; DÓREA; COSTA, 2005) devido principalmente a cafeína. Este composto age também sobre o sistema muscular e possui propriedade diurética (SALDAÑA, 1997).

O consumo diário de até 6 xícaras de café pode auxiliar na prevenção do surgimento do diabetes tipo II, não devido à cafeína, mas talvez devido aos compostos fenólicos como os ácidos clorogênicos (ABIC, 2010b). Chu (2011) afirma que os fenólicos presentes no café podem melhorar algumas das principais características fisiopatológicas do diabetes tipo 2, estresse oxidativo, inflamação e hiperglicemia. Bidet et al. (2006) observaram uma inversa relação entre o consumo de café e o risco de doenças cardiovasculares e mortalidade entre pacientes com diabetes tipo 2. Os autores sugerem que os compostos com atividade antioxidante presentes na bebida do café agem sobre as diferentes etapas do metabolismo de glicose levando a um melhor controle da hiperglicemia.

Além disso, vários estudos mostram que componentes presentes no café aumentam a capacidade antioxidante no fígado, o que significa um efeito protetor do café frente ao desenvolvimento de alguns tipos de cirrose. (GOTTELAND; DE-PABLO, 2007; LIMA et al., 2010).

O papel do café nas doenças cardiovasculares é controverso (NATELLA et al., 2002; RIKSEN; RONGEN; SMITS, 2009). Urgert e Katan (1997) verificaram aumento do colesterol plasmático com a ingestão da bebida de café e atribuíram este efeito ao conteúdo dos diterpenos, cafeol e cafestol. Em um estudo realizado por Umemura et al. (2006) os autores concluíram que a ingestão de cafeína eleva a pressão sistólica e diastólica da artéria braquial.

Os polifenóis parecem contrariar muitos dos efeitos negativos da cafeína e diterpenos (BONITA et al., 2007). Natella et al. (2002) mostraram que o consumo de 200 mL de café melhora a resistência à modificação oxidativa de

lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) em humanos, e esse efeito pode ser explicado pela rápida incorporação de ácidos fenólicos nas LDL-c. Celik et al. (2010) associaram o consumo moderado de café a um menor risco de doença coronariana nas mulheres.

O consumo moderado de café filtrado é recomendado pois em pequenas doses, diminui a fadiga, sendo prejudicial se for ingerida em excesso (UMEMURA et al., 2006). Nilsson et al. (2010) afirmam que ao estudar o papel do café na saúde e na doença, deve-se considerar não apenas a quantidade de café consumido, mas também outros fatores, como o método de extração da bebida, tipo do café e teor de compostos como a cafeína.

2.8 Estresse oxidativo

Inúmeras evidências têm indicado que os radicais livres e outros oxidantes são os grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao avanço da idade, tais como: câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais (ATOUI et al., 2005).

Os radicais livres são espécies, cuja reatividade resulta da presença de um ou mais elétrons desemparelhados na estrutura atômica, capazes de existência independente em intervalos de tempo variáveis. Espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) são termos que abrangem todas as formas reativas do oxigênio e nitrogênio, incluindo radicais e não radicais que participam da iniciação e progressão das reações em cadeia envolvendo a formação de espécies radicalares (HALLIWELL, 2000).

As espécies reativas de oxigênio são formadas através de redução parcial do oxigênio até a água através de sucessivas reações. O ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) é o primeiro intermediário reativo produzido através da transferência de um

elétron para o O_2 . O ânion superóxido sofre dismutação espontânea a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e esse último sofre uma reação de quebra das ligações entre os átomos de O_2 formando o radical hidroxila ($\cdot OH$) que pode ser catalisada por metais de transição (reação de Fenton), ou pela combinação do $O_2^{\cdot -}$ com o H_2O_2 (reação de Haber-Weiss) (FERREIRA, 2005).

Além das ERO e ERN, outras espécies de radicais livres estão envolvidas no dano celular. O peroxinitrito ($ONOO^-$), derivado da rápida reação entre o ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$) e o óxido nítrico (NO^{\cdot}), ficou igualmente caracterizado por sua ação deletéria, apesar de não se tratar de um radical livre (ZHAO et al., 2008).

A reatividade destes compostos com biomoléculas é variável, sendo alguns estáveis e pouco reativos, por exemplo, o radical superóxido, $O_2^{\cdot -}$ e outros altamente reativos, apresentando velocidade de reação próxima à constante de colisão com moléculas-alvo, sendo o radical hidroxila, HO^{\cdot} , o principal exemplo (HALLIWELL, 2000).

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 a fatores exógenos como tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas e radiações (CERUTTI, 1991).

Alguns radicais têm papel importante nas reações bioquímicas/fisiológicas do corpo humano. No entanto, se houver produção excessiva de radicais de oxigênio durante os processos patofisiológicos ou devido a fatores ambientais adversos e não existirem antioxidantes disponíveis *in vivo*, podem ocorrer doenças e danos profundos em tecidos (HUANG et al., 2005). Dessa maneira, a concentração dos radicais livres pode aumentar devido a processos oxidativos ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (CERUTTI, 1991) caracterizando o estresse oxidativo.

2.9 Lipoperoxidação

Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das espécies reativas de oxigênio (ERO), porém a membrana é um dos mais atingidos em decorrência da lipoperoxidação que acarreta alterações na estrutura e na permeabilidade das membranas (MELLO FILHO; HOFFMAN; MENEGHINI, 1983).

A peroxidação lipídica por ERO pode ser dividida em três etapas: iniciação, propagação e terminação (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

Na etapa de iniciação ocorre sequestro do hidrogênio do ácido poli-insaturado da membrana que pode ser realizado pelo OH^\cdot ou pelo LO (radical alcoxila) com formação do L (radical lipídico). Na primeira equação da propagação, o L^\cdot reage com o O_2 resultando em LOO^\cdot (radical peroxila), reação esta catalisada pelo ferro. O radical peroxila então sequestra novo hidrogênio do ácido polinsaturado, formando novamente o L na segunda equação de propagação. A última etapa da lipoperoxidação ocorre quando os radicais (L^\cdot e LOO^\cdot) produzidos nas etapas anteriores propagam-se até formarem complexos mais estáveis. Radicais peroxila podem ser reorganizados através de uma reação de ciclização de endoperóxidos (precursores de malondialdeído), com a formação de malondialdeído (MDA), produto final do processo de peroxidação (JOMOVA; VALKO, 2011).

2.10 Mecanismo de defesa antioxidante

Os antioxidantes são substâncias presentes em concentrações baixas, comparadas às concentrações do substrato oxidante, que previne ou atrasa a oxidação de substratos susceptíveis. Os principais mecanismos de ação de

compostos antioxidantes incluem captadores de radicais e supressores de estados excitados; sistemas catalíticos que neutralizam ou eliminam espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), e a ligação de íons metálicos a proteínas, o que os torna indisponíveis para a produção de espécies oxidantes (HALLIWELL, 2000).

Os compostos antioxidantes podem ter origem endógena (por exemplo, superóxido dismutase), ou serem provenientes da dieta alimentar e outras fontes. Nestas últimas destacam-se os tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio e carotenoides (EL-AGAMEY et al., 2004). Os componentes celulares não são protegidos totalmente por antioxidantes endógenos. É bem estabelecido que os antioxidantes obtidos da dieta são indispensáveis para a defesa apropriada contra oxidação e, portanto, têm importante papel na manutenção da saúde (HALLIWELL, 2000).

Os antioxidantes podem atuar em diferentes níveis na proteção dos organismos. O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre. Além disso, os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos polinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Os antioxidantes obtidos da dieta são extremamente importantes na interceptação dos radicais livres. 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).

2.11 Proteção antioxidante do café

O café se destaca como uma fonte dietética de antioxidantes, tais como a cafeína, ácidos clorogênicos, ácidos hidroxicinâmicos e produtos da reação de Maillard, como melanoidinas. Assim, a capacidade antioxidante do café se deve pela presença de constituintes naturais e compostos formados com a torração (VIGNOLLI, 2011).

A cafeína consegue inibir a lipoperoxidação induzida por radicais hidroxilas (OH^\bullet), peróxidos (ROO^\bullet) e oxigênio singlete, convertendo em um potente antioxidante com capacidade similar à glutatona e superior ao ácido ascórbico (CLIFFORD; RAMIREZ-MARTINEZ, 1991). Lopez-Galilea, Peña e Cid (2008) concluíram que a cafeína possui atividade antioxidante em sistemas-modelo. Em um estudo realizado por Noschang et al. (2009), os autores observaram um aumento na atividade da superóxido dismutase e da catalase no córtex cerebral de ratos tratados com doses de cafeína.

É importante considerar a presença e os potenciais sinérgicos entre cafeína e outros componentes bioativos incluindo polifenóis (FERRUZZI, 2010) presentes naturalmente no café. Os polifenóis importantes no café são os flavonoides e ácidos fenólicos. O ácido cafeico e os derivados do ácido clorogênico são os polifenóis mais abundantes no café (WANG; HO, 2009).

Diversos estudos já demonstraram os efeitos protetores dos componentes fenólicos do café contra o estresse oxidativo (CHU et al., 2009; NATELLA et al., 2002; ZHAO et al., 2008). A capacidade antioxidante dos polifenóis é influenciada pelo número e posição dos grupos OH, assim como pelas posições de glicosilação (HALLIWELL, 2004). São capazes de captar radicais alcóxila (RO^\bullet), alquilperóxila (ROO^\bullet), superóxido (O_2^\bullet), radical hidroxila (HO^\bullet), óxido nítrico (NO^\bullet), além do oxidante peroxinitrito ($\text{ONOO}^\bullet/\text{ONOOH}$) (WANG; HO, 2009).

Apesar dos compostos fenólicos diminuírem com a torração, a atividade antioxidante da bebida é expressiva. Isso se deve a formação de melanoidinas principalmente na torração escura (ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009; BEKEDAM et al., 2008a, 2008b; LIU; KITTS, 2011). Liu e Kitss (2011) confirmaram que produtos da reação de Maillard são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante da bebida de café. Os autores afirmam que o mecanismo de ação antioxidante associado com as melanoidinas envolve a transferência de átomos de hidrogênio e transferência de elétrons.

Efeitos protetores contra o estresse oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio e consequente dano no DNA têm sido atribuídos a compostos dirpenos como o caveol e cafestol presentes no café. Em estudos de citotoxicidade e peroxidação lipídica, protegeram efetivamente culturas celulares da injúria causada pelo peróxido de hidrogênio, aumentando a viabilidade celular e diminuindo a formação de TBARS (ácido tiobarbitúrico). Além disso, células enriquecidas com caveol e cafestol também mostraram ser resistentes ao hidroperóxido tert-butil, devido ao sequestro dos radicais peroxil e a prevenção da peroxidação lipídica por esses compostos (LEE et al., 2007).

2.12 Métodos de avaliação da atividade antioxidante

Vários experimentos acerca das propriedades antioxidantes de diferentes matrizes alimentares e ingredientes isolados têm sido conduzidos empregando diferentes métodos analíticos. Os métodos analíticos para a determinação de capacidade antioxidante são numerosos e podem estar sujeitos a interferências, além de se basearem em fundamentos diversos. Dessa forma preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente para determinar a capacidade antioxidante irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (HUANG et al., 2005).

É necessário enfatizar que os ensaios realizados *in vitro* possuem limitações e dependendo da forma de comparação pode não haver similaridade com sistemas biológicos reais. Porém são controláveis, simples, possuem baixo custo comparado com ensaios biológicos. Além disso, os métodos de análises *in vitro* podem poupar a utilização de animais de experimentação, tanto em trabalhos preliminares como de estudos que venham explicar mecanismos de ação para em seguida delinear estudos mais seguros em animais.

2.12.1 Métodos de avaliação da atividade antioxidante *in vitro*

Os ensaios de capacidade antioxidante *in vitro* são importantes para verificar se há ou não correlação entre antioxidantes potentes e os níveis de estresse oxidativo (HUANG et al., 2005).

A maioria dos métodos de determinação de antioxidantes usa processos oxidativos, que envolvem a adição de um agente “starter”, como a temperatura, agitação ou uma pressão parcial de oxigênio, um metal de transição ou mesmo a exposição à luz, para acelerar o processo, e uma fonte específica de radicais livres. Esses radicais são então, oxidados sob condições padronizadas e o grau de oxidação, ou sua extensão medidas (VIGNOLLI, 2011).

De maneira geral, os métodos de avaliação da atividade antioxidante avaliam o efeito de diferentes concentrações de substâncias antioxidantes em concentrações conhecidas de radicais livres ou comparam a ação de diversos agentes oxidantes em sistemas celulares, usando sempre substâncias de referência como vitaminas C e E, BHT, quercetina, rutina, entre outros (CHU et al., 2009).

De acordo com as reações químicas envolvidas, a maior parte dos métodos empregados pode ser dividida em duas categorias: (1) baseados na reação de transferência de elétrons, e (2) baseados na reação de transferência de

átomos de hidrogênio (HUANG et al., 2005). Encontram-se igualmente referenciados alguns ensaios cinéticos, tendo por base a formação *in vitro* do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) ou do radical hidroxila (HO^{\cdot}) (MILLER et al., 1993).

Dentre os métodos *in vitro* mais usados pode-se citar aqueles que medem: a habilidade de um antioxidante de reduzir um radical livre por doação de hidrogênio ou elétron (ORAC, TRAP, ABTS e DPPH); o poder redutor; a capacidade de quelante de íons ferrosos e a capacidade de inibir a oxidação lipídica (método da oxidação acoplada do β -caroteno/ácido linoleico) (HUANG et al., 2005).

2.12.1.1 ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Este método se baseia na propriedade fluorescente das proteínas B-ficoeritrina (B-PE) e R-ficoeritrina (R-PE). Estas proteínas são usadas como indicador fluorescente e foram primeiramente isoladas de *Porphyridium cruentum* e algas vermelhas, respectivamente (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995).

O ORAC mede a diminuição da emissão de fluorescência destas substâncias adicionada ao composto estudado em presença de um composto azo, gerador de radicais. A habilidade antioxidante é calculada a partir da medida da área sob a curva de decaimento da fluorescência (“*Area Under the Fluorescence Decay Curve*” – AUC, com emissão a 565 nm) comparada ao padrão que, na maioria das vezes, é o trolox. A PE pode ser oxidada por AAPH (dicloridrato do 2,2'-azobis ou (2-metilpropanoamidina) para gerar radical peroxila (Teste ORAC RO_2^{\cdot}) ou por $Cu^{2+} \cdot H_2O_2$ para gerar radical hidroxila (Teste ORAC HO^{\cdot}) ou ainda, adicionando-se íons Cu^+ como redutores (Teste ORAC Cu^+) (HALLIWELL, 2004).

O ORAC combina o tempo de inibição e a percentagem (%) de inibição da ação do radical pelo antioxidante e usa a área sob a curva para a quantificação. O teste expressa os resultados como unidades de ORAC ou equivalentes do trolox, que corresponde à quantidade de trolox em μmol que tem a mesma atividade antioxidante para o radical peroxila. Porém, se o gerador de radicais for o Cu^{2+} , o trolox não pode ser usado como padrão, pois o mesmo pode atuar como pró-oxidante na presença de Cu^{2+} . Neste caso, a ação antioxidante será expressa em unidade antioxidante: uma unidade equivale à atividade antioxidante que causa o aumento da área sob a curva de decaimento de fluorescência de PE em 100% (HUANG et al., 2005).

2.12.1.2 TRAP (Total Reactive Antioxidant Potencial)

Esta técnica foi desenvolvida inicialmente para determinar a atividade antioxidante do plasma humano (VASCONCELOS et al., 2007). Atualmente é largamente utilizada na determinação da capacidade antioxidante de diversos compostos, inclusive matrizes alimentares.

Consiste na geração de radicais peroxila (RO_2^{\cdot}), por decomposição térmica, a uma velocidade controlada, de azoiniciadores. Os azoiniciadores são compostos químicos que carregam o grupo funcional $\text{R-N=N-R}'$, em que R e R' podem ser tanto uma arila ou alquila e que reagem rapidamente com o oxigênio originando o radical peroxila (HALLIWELL, 2004).

O dicloridrato do 2,2'-azobis-(2-metilpropanoamidina) (AAPH ou ABAP), $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_6 \cdot 2\text{HCl}$, M.M 271,20 g/mol) (HALLIWELL, 2004) é exemplo de azoiniciador hidrossolúvel. A capacidade antioxidante do composto será avaliada de acordo com a inibição de radicais peroxila.

2.12.1.3 Sequestro do radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico)

Num outro ensaio, obtém-se o radical cation $ABTS^+$, a partir do ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico (ABTS) e em presença de H_2O_2 , o qual apresenta máximos de absorção a 417, 645, 734 e 815 nm. Na presença de antioxidantes doadores de hidrogênio, pode medir-se a diminuição da formação deste radical por espectrofotometria (MILLER et al., 1993).

2.12.1.4 Cooxidação de Substratos

Quanto à medida da capacidade de inibir a oxidação lipídica, o método da oxidação acoplada do β -caroteno/ácido linoleico é bastante empregado. Este método tem sido amplamente utilizado para avaliar a atividade antioxidante, tanto de substâncias isoladas de extratos vegetais quanto de frutas e bebidas (BARREIROS; DAVID, 2006).

O ensaio baseia-se na descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoleico. A perda da coloração alaranjada característica do sistema é monitorada espectrofotometricamente de modo a quantificar o grau de inibição da oxidação pelo antioxidante (HUANG et al., 2005).

É um método simples, sensível, mas não específico (substâncias oxidantes ou redutoras interferem no ensaio). A cooxidação do beta-caroteno é normalmente efetuada num meio emulsionado, o que origina muitas vezes falta de reprodutibilidade dos valores de absorvência medidos. Existe ainda, a dificuldade de interpretação dos resultados devida à interação do beta-caroteno com o oxigênio (TANG; LIU, 2008).

Apesar dos inconvenientes referidos, o método é amplamente usado. Como não recorre a altas temperaturas, permite a determinação do poder antioxidante de compostos termo-sensíveis e a avaliação qualitativa da eficácia antioxidante de extratos vegetais. Neste caso, procede-se à separação dos respectivos constituintes por cromatografia em camada fina ou cromatografia em camada fina de alta resolução, seguida de pulverização com uma mistura de beta-caroteno/ácido linoleico, e posterior exposição à luz do dia ou à radiação UV. Após descoloração do fundo amarelo, a persistência de manchas com essa cor indica a presença de compostos com atividade antioxidante (HUANG et al., 2005).

2.12.1.5 Sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina)

O método DPPH é baseado na redução da taxa de DPPH radical estável. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R^{\bullet}), o DPPH $^{\bullet}$ é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H) Dessa maneira, o mecanismo de redução de radicais livres DPPH envolve a doação de hidrogênio.

Neste sistema tanto a estrutura planar como espacial do composto antioxidante é importante. Baseado em dados da literatura é possível inferir que a potente atividade antioxidante de extratos polares é dada pela presença de substâncias com hidroxilas (HARBORNE; WILLIAMS, 2001; MENSOR et al., 2001).

A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante (quantidade de DPPH $^{\bullet}$ consumida pelo antioxidante) ou sequestradora de radicais e/ou a porcentagem de DPPH $^{\bullet}$ remanescente no meio reacional (HUANG et al., 2005).

Este método é rápido, simples, com boa relação custo-benefício e alta reprodutibilidade (ATSUMI et al., 2008).

2.12.1.6 Poder redutor

O teste de poder redutor avalia a capacidade do antioxidante de reduzir íon ferricianeto a ferricianato, que na presença do íon férrico (proveniente do FeCl_3) forma o azul da Prússia. Quanto maior a absorbância, maior a capacidade antioxidante (SANTOS et al., 2007) devido à maior formação de ferricianato. O BHT (butil-hidróxi-tolueno) é usado como antioxidante padrão e a redução é dada usando o padrão como 100%.

2.12.1.7 Atividade quelante de ferro

Este teste baseia-se na medida da quelação do ferro disponível pelo antioxidante. Quanto maior a quantidade de ferro quelado, menor o número de íons disponíveis e menor a absorbância (SANTOS et al., 2007).

Para a determinação da atividade quelante de ferro, a ferrozina, 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 (LIMA et al., 2010).

2.12.1.8 Determinação de inibição da lipoperoxidação

Outro método descrito na literatura para avaliação da atividade antioxidante é a determinação de espécies reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS). Este teste avalia a formação de produtos finais da lipoperoxidação, como o malonaldeído (MDA), que é citotóxico e pode lesar o DNA (ESTERBAUER, 1993).

A formação de malonaldeído ocorre pela decomposição dos hidroperóxidos lipídicos e sua concentração tem sido utilizada para estimar a intensidade da peroxidação lipídica em sistemas biológicos em células e tecidos, podendo ser avaliada então através de testes *ex vivo* ou *in vivo* (BARREIROS; DAVID, 2006; BONNES; GUÉRIN, 1992).

A capacidade de inibição de produtos da peroxidação lipídica pelos compostos prediz a sua capacidade antioxidante. Quanto menor a absorbância, menor a quantidade de MDA disponível e maior a porcentagem de inibição da lipoperoxidação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima e local de execução

Para execução da pesquisa, foram utilizadas as instalações do Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas- EPAMIG, Laboratório de Fisiologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Laboratório de Produtos Vegetais e Laboratório de Grãos e Cereais do Departamento de Ciência dos Alimentos e Polo de Tecnologia em Qualidade do Café da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram utilizadas neste experimento, amostras de café (*Coffea arábica* L.) bebida Rio, provenientes de um mesmo lote da safra 2009/2010 cedidas por uma torrefadora de café localizada no Sul de Minas Gerais. A casca e a palha melosa foram cedidas por uma propriedade cafeeira. O milho foi adquirido no comércio de Lavras- Minas Gerais.

3.2 Preparo das amostras

O café, a casca, o milho e a palha melosa foram torrados em torrador da marca Rototec, modelo RT-12 com capacidade para 12Kg em temperaturas finais de 263°C (29min); 247°C (8min 45seg); 270°C (23min) e 262°C (14min) respectivamente. O ponto de torração do café foi determinado visualmente até atingir o ponto de torração semelhante ao café comercializado (torração escura). Os adulterantes foram torrados de maneira que as características finais se assemelhassem ao café torrado.

Em seguida, os grãos de café e os adulterantes torrados foram moídos (moedor elétrico Probat) em granulometria fina (70% retenção em peneira 20).

As amostras de café torradas e moídas foram adulteradas com 10%, 20%, 30%, 40% e 50% de casca do café, palha melosa e milho torrados e moídos, testados separadamente. Foram utilizados os controles negativo (0% de adulteração) e positivo (100% de adulteração).

As amostras foram embaladas a vácuo em embalagens metalizadas com capacidade de 500g. Foram feitas 3 repetições de cada amostra.

3.3 Análise de cor

A cor do café torrado e moído foi analisada usando-se um colorímetro (Chomameter-2 Reflectance, Minolta, 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 de escala desenvolvida pela *Commission Internationale de Eclairage* (CIE) L^* , a^* , b^* , c^* e h^* .

As coordenadas L^* , a^* e b^* representam a luminosidade da cor, em que $L^* = 0$ reproduz preto e $L^* = 100$ indica branco; a^* é a posição entre o vermelho e o verde e b^* entre o amarelo e azul. A partir dos valores L^* , a^* , b^* se obtém os valores de c^* (croma) e h^* (tonalidade).

3.4 Preparo da bebida

A bebida do café foi preparada de acordo com a recomendação da ABIC. Dez gramas de café em pó foram colocados 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.

3.5 Determinação de fenólicos totais

A determinação dos fenólicos totais na bebida do café foi realizada pelo método de Folin Denis, descrito pela Association of Official Agriculture Chemists - AOAC (1990). Transferiu-se 0,1 mL das bebidas dos cafés já preparadas para tubos de ensaio devidamente identificados. Posteriormente, foram adicionados 8,4 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente Folin-Denis e 1 mL de solução de carbonato de sódio a 4% (m/v), os tubos foram agitados e mantidos à temperatura ambiente por 30 min. Decorrido o tempo, a absorbância foi determinada em 760 nm (Espectrofotômetro Shimadzu, UV-1601, Japão). A concentração de fenólicos totais foi calculada utilizando-se ácido gálico como padrão.

3.6 Determinação dos teores de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico

Para determinação de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico) foram utilizados procedimentos de extração com água quente segundo Vitorino et al. (2001) com diluição de 0,5g/100mL de água destilada e análise de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando cromatógrafo de marca Shimadzu com coluna em fase reversa C-18.

O sistema é acoplado a um detector espectrofotométrico UV/ visível Shimadzu® (modelo SPD-10A) conectado por uma interface (CBM-101) a um microcomputador para processamento de dados. As condições de análise utilizadas serão fluxo de 1mL/min; fase móvel: metanol, água e ácido acético (20:80:1); temperatura ambiente; comprimento de onda 272 nm. A concentração dos compostos será determinada pela relação entre as áreas dos picos de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico da amostra e dos respectivos padrões de concentrações conhecidas.

3.7 Atividade antioxidante *in vitro*

Foram realizados os seguintes métodos:

3.7.1 Atividade sequestrante de radicais livres DPPH

A atividade sequestrante de radicais DPPH foi determinada de acordo com o método de Yen, Chang e Duh (2005). Para análise da atividade sequestrante de radicais livres DPPH (1,1- difenil-2-picrilidrazil) as amostras foram diluídas em etanol em $200 \mu\text{g},\text{mL}^{-1}$ (200ppm). Em 4 mL da amostra foi adicionado em 1 mL de DPPH ($0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$), igualmente diluído em etanol. A mistura foi acondicionada em tubo de ensaio âmbar e agitada. Após 30 minutos, foi realizada a leitura a 517nm. 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 ao controle, BHT nas mesmas diluições das amostras de café, segunda a equação:

$$\% \text{ ASRL} = \frac{\text{Ac}-\text{At}}{\text{Ac}} \times 100$$

3.7.2 Poder redutor

A avaliação do poder redutor foi realizada de acordo com Yildirim, Oktay e Bulaloúlu (2001). Alíquotas de 0,01 mL da bebida do café, na concentração final de 200 ppm, foram diluídas em 1mL de etanol absoluto e transferidas para tubo de ensaio contendo 2,5 mL de tampão fosfato 0,2 M em pH 6,6 e 2,5 mL de ferricianeto de potássio a 1% (p/v). A mistura foi incubada em banho-maria a 50°C, por 30 minutos. Alíquotas de 2,5% de ácido tricloacético a 10% (p/v) foram adicionadas ao tubo de ensaio com posterior

agitação. Aliquotas de 2,5 mL da mistura foram transferidas para outro tubo de ensaio, ao qual foram adicionados 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de FeCl₃ a 0,1% (p/v), com posterior agitação. A leitura da absorbância indicou o aumento do poder redutor. A atividade redutora das bebidas foi expressa como porcentagem de inibição em comparação ao BHT, usado como padrão.

3.7.3 Avaliação da atividade quelante de íons Fe²⁺

A atividade quelante de íons Fe²⁺ foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Tang et al. (2002), modificada por Lima et al. (2010). Uma alíquota de 1 mL das amostras foi transferida para tubos de ensaio âmbar de 25 mL. Em seguida, foram adicionados 3,7 de água deionizada; 0,1 mL de FeSO₄ (Fe²⁺) 2mM e 0,2 mL de ferrozine 5mM (reagente cromogênico). A mistura foi agitada e, após 20 minutos, foi feita a leitura a 562 nm acertando o aparelho com o branco (neste caso substitui a amostra por EDTA 2%). A redução da absorbância indica atividade quelante de Fe²⁺.

$$AQ (\%) = 100 - [(A_p - A_t) \times 100] / A_p$$

Onde, AQ é a atividade quelante, A_p é a absorbância do padrão e A_t é a absorbância das amostras.

3.7.4 Avaliação da capacidade de inibir lipoperoxidação

A lipoperoxidação foi determinada em homogeneizado de cérebro de rato, avaliando-se a formação dos produtos de oxidação que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) descrito por Buege e Aust (1978). Esses compostos são coloridos e sua concentração pode ser determinada por espectrofotometria a 535 nm (SANTOS et al., 2007).

Foram utilizados cérebros de 10 ratos machos da linhagem Wistar, pesando 250 ± 20 g, utilizados em aulas práticas no Laboratório de Fisiologia do Departamento de Medicina Veterinária, obtidos no Biotério da UFLA- MG.

O homogeneizado de cérebro foi preparado como descrito por Paula et al. (2005), com modificações. O cérebro foi coletado, pesado e homogeneizado em 3 volumes de PBS 0,1 M, pH 7,4. Após a centrifugação da amostra, a 10.000 g, por 15 min, o sobrenadante foi coletado e a concentração de proteínas das amostras foi determinada pelo método de Peterson (1977). Aliquotas de homogeneizado contendo 6 mg de proteínas foram colocadas em tubos de ensaio com as amostras de café. O café foi diluído resultando em uma concentração final de 20.000ppm. O volume das amostras foi completado para 1 mL com PBS e estas foram incubadas a 37 °C em banho-maria, por 30 min. A seguir, foram adicionados 0,5 mL de ácido clorídrico a 25% (v/v) e 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico a 1% (p/v). A mistura foi aquecida em água fervente por 15 min e resfriada em banho de gelo por 10 min. Foram acrescentados 2 mL de butanol e os tubos foram agitados vigorosamente em vórtex. Após a centrifugação a 10.000g, por 15 min as TBARS foram determinadas por Abs535. A mistura sem as amostras de café foi utilizada como controle, representando 100% de oxidação.

Os resultados foram expressos como:

$$\% \text{ IP} = \frac{\text{Ac-At}}{\text{Ac}} \times 100$$

Em que IP é inibição da peroxidação, Ac: amostra controle, At: amostras de café.

3.8 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Para todas as análises realizadas (cor, fenólicos totais, cafeína, trigonelina, ácido

clorogênico e análises *in vitro* da atividade antioxidante) foi utilizado 1 tipo de café (café torrado bebida rio), adulterado com 3 produtos distintos (casca de café, milho e palha melosa), 7 concentrações diferentes (0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% e 100%) realizadas em triplicata para cada tratamento.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) seguida de 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 de cor

As amostras foram torradas e em seguida sua cor mensurada. Os resultados médios obtidos referentes aos cafés puros, cafés fraudados e adulterantes puros para a variável cor estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 Análise de cor dos grãos de café, palha e casca torrados e moídos, de acordo com os parâmetros de cromaticidade da escala CIE L* a* b*

Tratamentos	Parâmetros de Cromaticidade				
	L*	a*	b*	c*	h _{ab} *
Casca (%)					
0	20,37 b	6,45 d	5,24 b	9,48 b	32,93 c
10	20,44 b	7,67 c	5,29 b	9,60 b	33,26 c
20	20,63 b	7,75 c	5,73 b	9,62 b	35,72 b
30	20,79 b	7,88 c	5,77 b	9,66 b	36,45 b
40	20,83 b	8,02 b	5,88 b	9,73 b	36,51 b
50	21,14 b	8,08 b	6,14 b	10,69 a	37,47 b
100	24,53 a	8,73 a	8,76 a	10,88 a	53,75 a
Milho (%)					
0	20,84 f	8,28 c	6,14 e	10,69 e	35,72 e
10	21,40 e	8,34 c	7,31 d	11,23 d	40,56 d
20	23,07 d	8,40 c	7,74 d	11,49 d	42,23 d
30	23,97 c	8,49 b	9,13 c	12,52 c	46,76 c
40	24,35 c	8,51 b	9,79 c	12,74 c	48,77 c
50	26,32 b	8,55 b	10,56 b	13,45 b	51,67 b
100	35,86 a	8,72 a	17,44 a	19,19 a	64,46 a
Palha Melosa (%)					
0	20,04 c	6,15 f	5,28 c	9,04 b	35,20 b
10	20,05 c	7,12 e	5,43 c	9,12 b	35,51 b
20	20,28 c	7,43 d	5,57 c	9,22 b	35,72 b
30	20,42 b	7,43 d	5,93 b	9,33 b	36,02 b
40	20,55 b	8,00 c	6,14 b	10,12 a	37,52 b
50	20,84 b	8,29 b	6,18 b	10,23 a	37,97 b
100	22,79 a	8,73 a	7,02 a	10,69 a	48,70 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott

A coloração é o parâmetro mais amplamente usado para descrever os níveis de torração do café que é classificado, de acordo com a luminosidade da cor (L^*), como claro, médio e escuro. Segundo Campanha et al. (2010), os valores de L^* correspondentes a cafés com torração escura variam de 13 a 21, valores estes semelhantes aos observados para o café puro e para os cafés adulterados com casca e com até 40% de palha melosa deste estudo. Souza et al. (2010), ao caracterizarem amostras comerciais de café quanto à cor, observaram valores de L^* entre 19 e 21, valores semelhantes aos encontrados para os cafés com casca e palha.

De acordo com Borges et al. (2002), a utilização de coordenadas polares (L^* , c^* , h_{ab}^*) permite uma interpretação mais adequada das variações da coloração. Nota-se que as amostras 100% possuem valores de L^* , c^* e h^* superiores aos dos cafés puros, apresentando assim, coloração mais clara. No entanto, cafés adulterados com até 50% de casca não apresentaram diferenças ($p < 0,05$) nos valores de L^* , b^* e c^* e os valores de L^* , b^* , c^* e h^* de cafés contendo até 20% de palha não foram diferentes ($p < 0,05$) podendo estas amostras ter coloração semelhante ao café puro. As concentrações elevadas de palha melosa (100%) interferiram na luminosidade (L^*), representando assim clareamento destas amostras. Por outro lado, maiores porcentagens de casca afetaram a tonalidade (h^*) do café devido aos maiores valores deste parâmetro na casca pura.

As amostras adulteradas com milho apresentaram diferenças em todos os parâmetros de cromaticidade, exceto nos valores de a^* para as amostras contendo até 30% do cereal. À medida que foi aumentada a quantidade do adulterante, houve clareamento das amostras, devido aos maiores valores de L^* da amostra 100% milho. No entanto, a coloração destes cafés podem se assemelhar com cafés com torração média ou clara. Os valores de L^* dos cafés

com milho estão dentro da faixa de 16 a 30 descrito por Campanha et al. (2010) para cafés com torração média.

Assim, nota-se que a adição de casca e palha é imperceptível, podendo apresentar diferenças com elevadas concentrações. Cafés com milho possuem coloração mais clara, porém podem se assemelhar a cafés com grau de torração mais claro.

4.2 Determinação de compostos fenólicos

Determinou-se o teor de compostos fenólicos das diferentes amostras obtidas. Os teores de compostos fenólicos totais das amostras são representados na Figura 1.

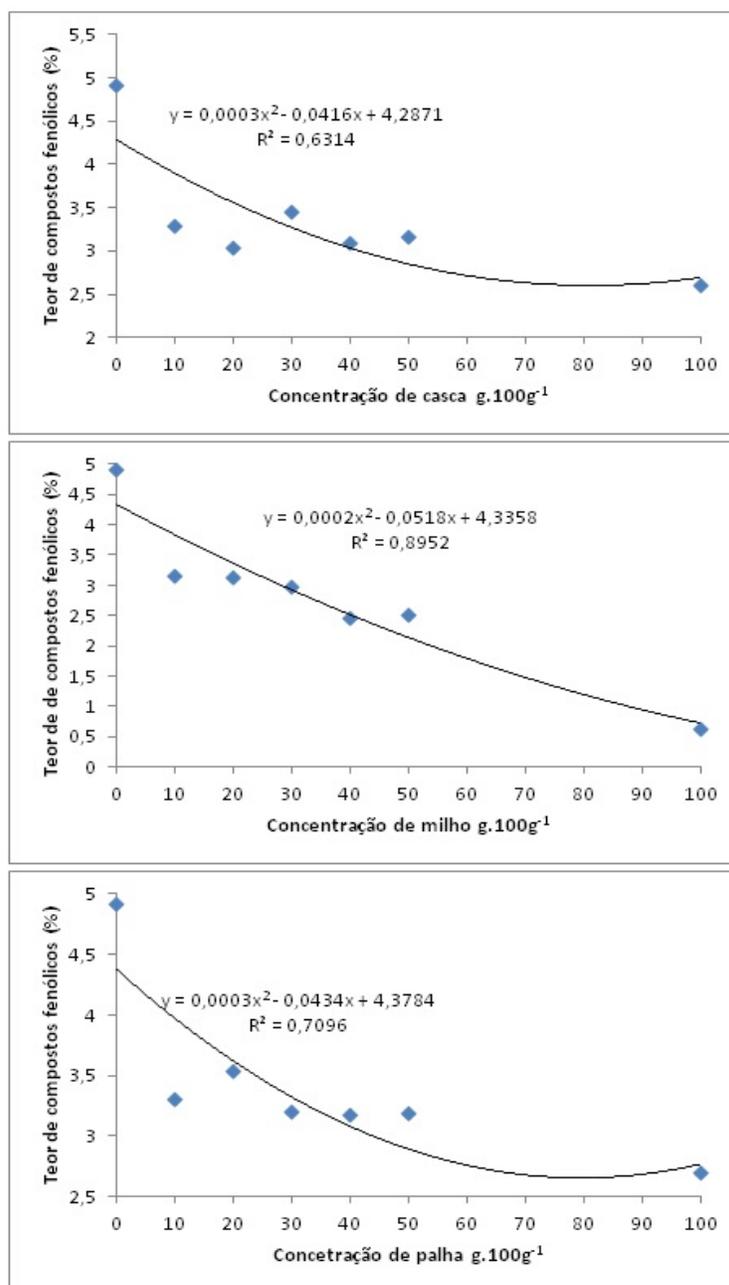


Figura 1 Teores de compostos fenólicos (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa

Observa-se pela figura 1 que a adição de adulterantes ao café afetou o conteúdo de compostos fenólicos das amostras analisadas.

Foram observados valores de 2,4g/100g e 2,7g/100g de fenólicos totais para a casca (100%) e para a palha (100%) respectivamente, valores estes inferiores aos obtidos no café puro (4,3g/100g) e superiores aos encontrados por Ribeiro Filho (1998) de 1,8g/100g para a casca de café crua. Andrade et al. (2009), ao quantificar o conteúdo de fenólicos totais no café e na palha melosa, constatou que a palha apresentou 1/3 do teor de fenólicos totais do café, resultados semelhantes aos obtidos neste estudo.

O milho puro (100%) apresentou aproximadamente 0,5g/100g de compostos fenólicos. Assim, os cafés adulterados com este produto, apresentaram teores mais baixos de fenólicos totais quando comparados com as amostras fraudadas com casca e palha. Lemos et al. (2006), avaliando os compostos fenólicos do milho cru, observaram a presença dos ácidos protocatecuico, gálico e t-cinâmico.

Entre os compostos fenólicos contidos no café estão o ácido cafeico, o ácido clorogênico e outros derivados do ácido cafeoilquinico (DAGLIA et al., 2000). Diversos estudos comprovaram os efeitos protetores dos componentes fenólicos do café contra o estresse oxidativo (CHU et al., 2009; NATELLA et al., 2007; ZHAO et al., 2008).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras que desempenham um importante papel na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo nas etapas de iniciação e propagação do processo oxidativo (SOUZA et al., 2007). Os cafés fraudados podem ter capacidade antioxidante reduzida devido à diminuição dos teores de compostos fenólicos destas amostras.

4.3 Cafeína, trigonelina e ácido clorogênico

Os teores de trigonelina, ácido clorogênico (ácido 5- cafeoilquínico) e cafeína foram calculados a partir de padrões e dos cromatogramas obtidos para cada amostra. Os tempos de retenção identificados foram os seguintes: trigonelina (~3 minutos), ácido clorogênico (~9 minutos) e cafeína (~10 minutos).

4.3.1 Cafeína

Os teores de cafeína nos cafês adulterados com casca, milho e palha estão representados na Figura 2

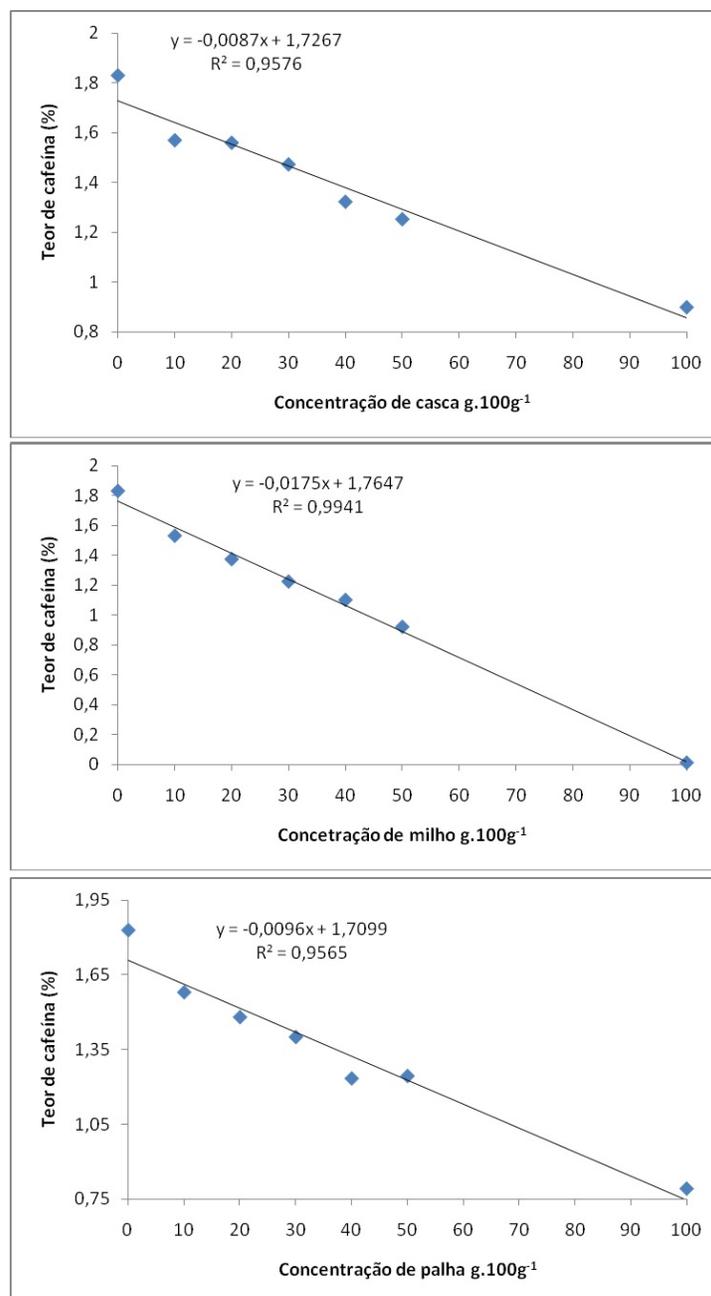


Figura 2 Teores de cafeína (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa

Os resultados representados na Figura 2 demonstram que a adição de casca, palha e milho provocaram a redução de cafeína dos cafés analisados. Nota-se que os teores de cafeína decresceram linearmente com o aumento da porcentagem de adulterantes para todas as amostras avaliadas.

Os valores de cafeína obtidos nos cafés puros foram de aproximadamente 1,8g/100g, contrariando os valores descritos na literatura que variam de 1,0 a 1,3g/100g de cafeína para café arábica torrado (ILLY; VIANI, 1995). Monteiro e Trugo (2005), ao estudarem dez amostras de café comerciais brasileiros, constataram variação de 0,8 a 1,4g/100g de cafeína, valores inferiores aos encontrados neste estudo.

Por ser um composto que possui estabilidade a torra, os teores de cafeína encontrados na casca (0,91g/100g) e na palha (0,80g/100g) estão de acordo com os obtidos por Barcelos et al. (1997a) e ambos em acordância com os valores relatados por Ribeiro Filho (1998) de 0,48 e 1,31g/100g de cafeína para a casca de café crua.

Neste estudo, não foi constatada a presença de cafeína na amostra 100% milho. Assim, os cafés adulterados com milho apresentaram teores inferiores de cafeína daqueles cafés fraudados com os outros dois adulterantes. Não há dados na literatura da presença de cafeína no milho.

A diminuição nos teores de cafeína das amostras adulteradas pode interferir na atividade antioxidante da bebida de café. A cafeína é um constituinte do café com atividade antioxidante exercida pelo mecanismo de captação de radicais hidroxil e oxigênio singlete e reação com elétrons (BREZOVA et al., 2009).

4.3.2 Trigonelina

O conteúdo de trigonelina presente em amostras de café torrado depende da espécie e do binômio tempo e temperatura de torração, utilizados no processamento dos grãos (MONTEIRO; TRUGO, 2005). As perdas de trigonelina podem variar de 50 a 100% de acordo com o grau de torração (CLIFFORD, 1975).

Os teores de trigonelina nos cafés adulterados com casca, milho e palha estão representados na Figura 3.

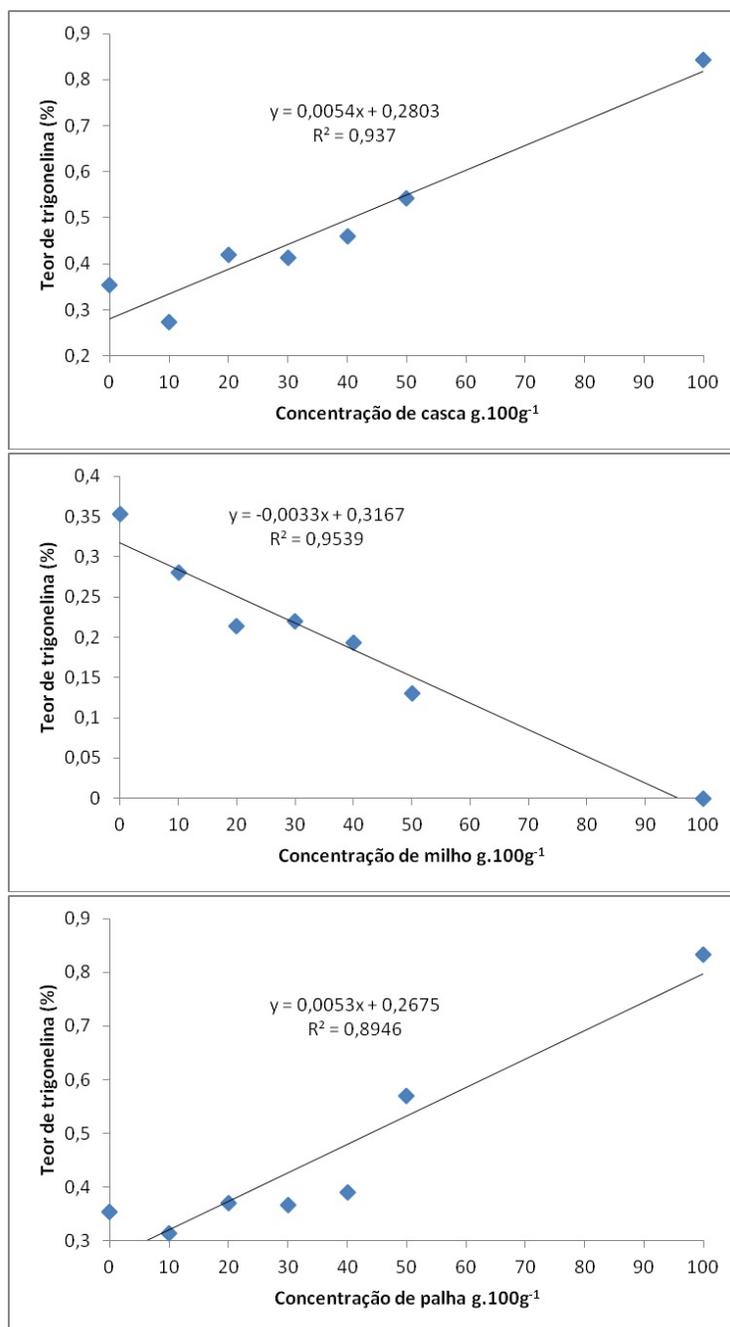


Figura 3 Teores de trigonelina (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa

No presente estudo, foi observado teores aproximados de 0,35g/100g de trigonelina para o café puro (Figura 3). Este resultado corrobora com os obtidos por Monteiro e Trugo (2005) que ao quantificarem teores de trigonelina de cafés brasileiros com torração de média a extraforte verificaram valores entre 0,2 e 0,5 g/100g. Valores inferiores (0,297 g/100g) foram relatados por Alves et al. (2010) para café arábica com torração escura.

A amostra 100% milho não possui trigonelina e conseqüentemente os teores deste composto nos cafés com milho decrescem com o aumento da concentração do adulterante. Não há dados na literatura da presença de trigonelina no milho.

Analisando a Figura 3, verifica-se um crescimento linear dos teores de trigonelina com o aumento da porcentagem de casca e palha melosa devido aos teores mais elevados de trigonelina nestes resíduos comparados ao café puro. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Andrade et al. (2009) que constataram maiores teores de trigonelina na palha melosa comparados ao café.

Durante a torração, a trigonelina é degradada gerando a niacina, uma vitamina pertencente ao grupo de vitaminas do complexo B (VIANI; HORMAN, 1974). A niacina é considerada como fator preventivo da pelagra e é percussora das coenzimas NAD e NADP, importantes em várias reações enzimáticas de oxidação (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006).

Os resultados mostram que a casca de café e a palha possuem maiores teores de trigonelina, podendo gerar maior quantidade de niacina. Porém, os valores médios de trigonelina obtidos no café cru (1,7g/100g), na casca crua (1,8g/100g) e na palha crua (1,6g/100g) foram próximos, revelando que durante a torração da casca e da palha ocorreu menor degradação de trigonelina e possivelmente menor formação de niacina quando comparado ao café.

É importante considerar que, por não existirem dados na literatura sobre a composição química da casca de café e as mudanças ocorridas com a torração

da mesma, não é possível inferir quais fatores foram responsáveis pela menor degradação da trigonelina nestes resíduos.

Souza et al. (2010) ao constatarem grande variação dos teores de trigonelina em cafés comerciais com mesmo grau de torração afirmaram que os cafés analisados poderiam conter misturas (*blends* e/ou fraudes), interferindo assim nas quantidades de compostos bioativos como a trigonelina. A hipótese de que cafés fraudados possuem variação no conteúdo de trigonelina foi confirmada neste estudo.

4.3.3 Ácido clorogênico

Os ácidos clorogênicos e seus isômeros são os principais componentes da fração fenólica dos grãos de café *in natura* (DEL CASTILLO; AMES; GORDON, 2002; FARAH et al., 2008) sendo o ácido 5 cafeoilquínico (5-ACQ) o mais abundante (NOGUEIRA; TRUGO, 2003).

Na figura 4, estão representados os teores de 5-ACQ para as diferentes amostras estudadas.

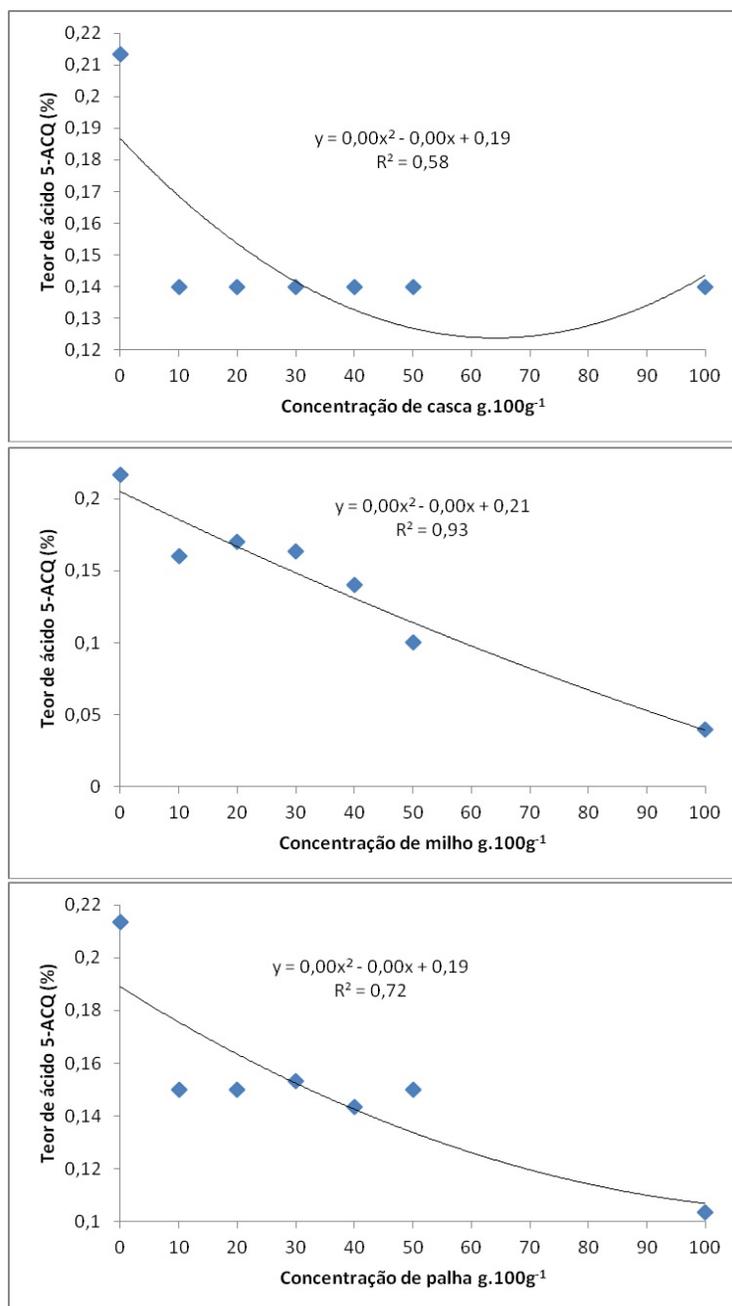


Figura 4 Teores de ácido 5-caffeoilquinico (%) das bebidas de cafês adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa

O conteúdo de 5-ACQ dos cafés também foi afetado pela adição de casca, milho e palha. Foram encontrados valores próximos de 0,21g/100g de 5-ACQ para os cafés puros, valores estes superiores aos obtidos nas demais amostras (Figura 4). Teores semelhantes (0,26g/100g) foram obtidos por Alves et al. (2010) para café arábica com torra escura.

Os menores valores de 5-ACQ foram verificados na amostra 100% milho. Não há relatos na literatura da presença de ácidos clorogênicos no milho. A casca e a palha apresentaram aproximadamente 0,14g/100g e 0,11g/100g de 5-ACQ respectivamente. Estes resultados contrariam os obtidos por Andrade et al. (2009) que não constataram a presença de 5ACQ na palha melosa.

Souza et al. (2010) afirmaram que a adição de materiais diferenciados, tais como, milho, trigo, centeio e cevada quanto à presença de café com defeitos poderiam implicar em diferença na composição do produto. Para os autores a adição de um adulterante poderia ocasionar a diminuição dos teores de compostos como 5-ACQ, assim como evidenciado neste estudo.

No entanto, apesar da influência da adição de adulterantes nos teores de 5-ACQ, não foi possível estabelecer alguma equação matemática ou um modelo para explicar os resultados obtidos nas amostras adulteradas com casca e palha melosa. Provavelmente, a torração escura influenciou de maneira mais expressiva nos baixos teores de 5-ACQ das amostras analisadas que a adição destes produtos.

Segundo Budryn et al. (2009) e Monteiro e Trugo (2005), as amostras que apresentam menores teores de ácidos clorogênicos totais são aquelas que foram submetidas a um processo de torração mais drástico. Bekedam et al. (2008a) afirmam que com a torração, ocorre diminuição dos teores de ácido clorogênico de 5-8% no grão verde de café arábica para valores abaixo de 0,2% como a torração escura, assim como observado no presente estudo.

O café é a maior fonte de ácidos clorogênicos na dieta humana. Estes compostos apresentam propriedades benéficas à saúde, devido principalmente à sua potente atividade antioxidante (FARAH et al., 2008; GARAMBONE; ROSA, 2007). Além disso, a degradação dos ácidos clorogênicos durante a torração contribui amplamente para o aroma e sabor finais da bebida (MORAIS et al., 2008). Assim, a redução de 5-ACQ de cafês adulterados com torração escura pode afetar a qualidade e poder antioxidante das bebidas das amostras analisadas.

4.4 Atividade sequestrante de radicais livres DPPH (ASRL)

Na Figura 5, estão representados os resultados da atividade sequestrante de radicais DPPH (%) para as diferentes amostras estudadas. O *butil hidroxi tolueno* (BHT) foi utilizado como padrão.

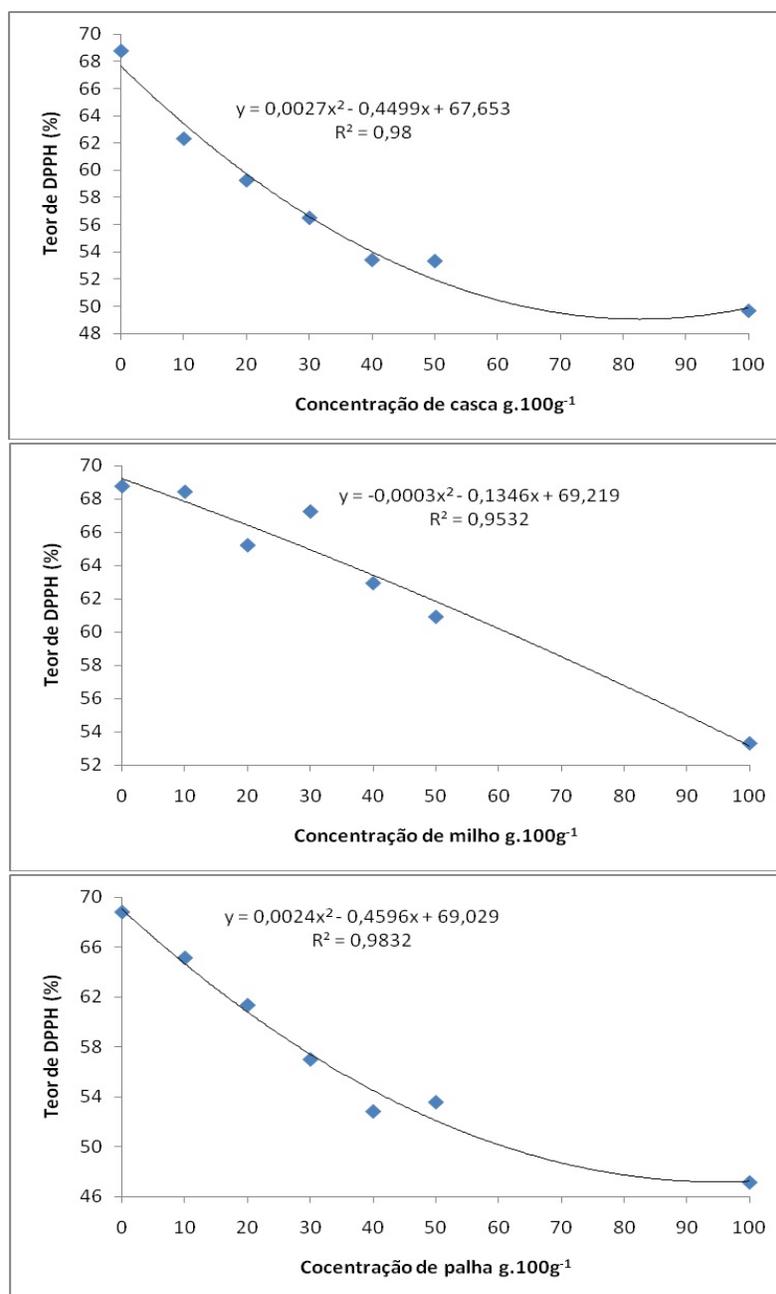


Figura 5 Atividade sequestrante de DPPH (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa

As bebidas dos cafês analisados tiveram a capacidade de sequestrar radicais livres- DPPH (ASRL) que diminuiu com o aumento da porcentagem de adulterantes como ilustra a figura 5. A redução de compostos com atividade antioxidante causada pela adição destes materiais provavelmente interferiu na ASRL.

Os cafês puros (0%) apresentaram aproximadamente 68% de atividade sequestrante de radicais livres- DPPH, valores superiores aos obtidos (59,59%) por Morais et al. (2008) para o café robusta com torração escura. O BHT, na mesma concentração (200 ppm) apresentou 72% de ASRL revelando expressiva atividade antioxidante do café puro com torração escura.

Nos estudos de Abrahão et al. (2010) e Duarte et al. (2009), em que foram avaliadas a capacidade sequestrante de DPPH de cafês com grau de torração mais claro, os valores obtidos foram mais elevados que os encontrados neste estudo. Del Castillo, Ames e Gordon (2002) afirmaram que degradação parcial de ácidos clorogênicos com a torração escura leva à redução da atividade antioxidante.

Pesquisas mostram boa correlação entre o teor de ácidos clorogênicos e atividade sequestrante de DPPH em bebidas de café (FUKUSHIMA et al., 2009). No entanto, os comportamentos dos teores de 5-ACQ (Figura 4) das amostras adulteradas com casca e palha melosa não foram semelhantes aos comportamentos das atividades sequestrante de radicais livres destas amostras, mostrando que outros compostos exercem atividade antioxidante da bebida do café.

Liu e Kitts (2011) comprovaram que a atividade antioxidante da bebida de café se deve principalmente pela presença de compostos formados com a torração (melanoidinas). Os autores afirmam que o mecanismo de ação antioxidante associado com as melanoidinas envolve a transferência de átomos de hidrogênio e transferência de elétrons.

A formação destes compostos compensaria a degradação de ácido clorogenico causada pela torração escura. Assim, a provável redução no conteúdo de melanoidinas das amostras fraudadas pode ter contribuído de maneira expressiva para a diminuição da atividade sequestrante de radicais livres das bebidas analisadas.

Além disso, a diminuição dos teores de cafeína dos cafés fraudados (Figura 2) pode estar relacionada com o comportamento da atividade sequestrante de radicais livres das amostras.

Analisando os adulterantes puros, nota-se que a casca, o milho e a palha (100%) possuem atividade sequestrante de radicais livres inferiores ao café puro o que levou a redução da ASRL dos cafés fraudados com estes materiais. Andrade et al. (2009) ao comparar a ASRL do café e da palha melosa, utilizando mesma metodologia, concluiu que a palha apresentou menor ASRL, resultado semelhante ao obtido neste estudo.

A amostra 100% milho, apesar de apresentar menores teores de compostos fenólicos, 5-ACQ e cafeína comparados com a casca e a palha apresentou atividade sequestrante de DPPH superior aos outros dois adulterantes. Isso ocasionou uma maior ASRL dos cafés contendo milho, comparados com as amostras misturados com casca e palha.

A presença de outros compostos com atividade antioxidante encontrados no milho como vitamina E e carotenoides (PAES, 2010), possivelmente ausentes na casca e na palha pode ter contribuído para a atividade sequestrante de DPPH superior deste adulterante.

Considerando que o poder antioxidante do café se deve pela presença e pelos potenciais sinérgicos entre cafeína e outros componentes bioativos incluindo compostos fenólicos presentes naturalmente no café (FERRUZZI, 2010) e melanoidinas formadas com a torração, o presente estudo mostrou que as substâncias adicionadas ao café alteram sua composição e interfere no

sinergismo entre estes compostos reduzindo a atividade sequestrante de radicais livres- DPPH e interferindo na proteção contra o estresse oxidativo.

4.5 Poder redutor

Na figura 6, está representado o poder redutor das bebidas das amostras analisadas.

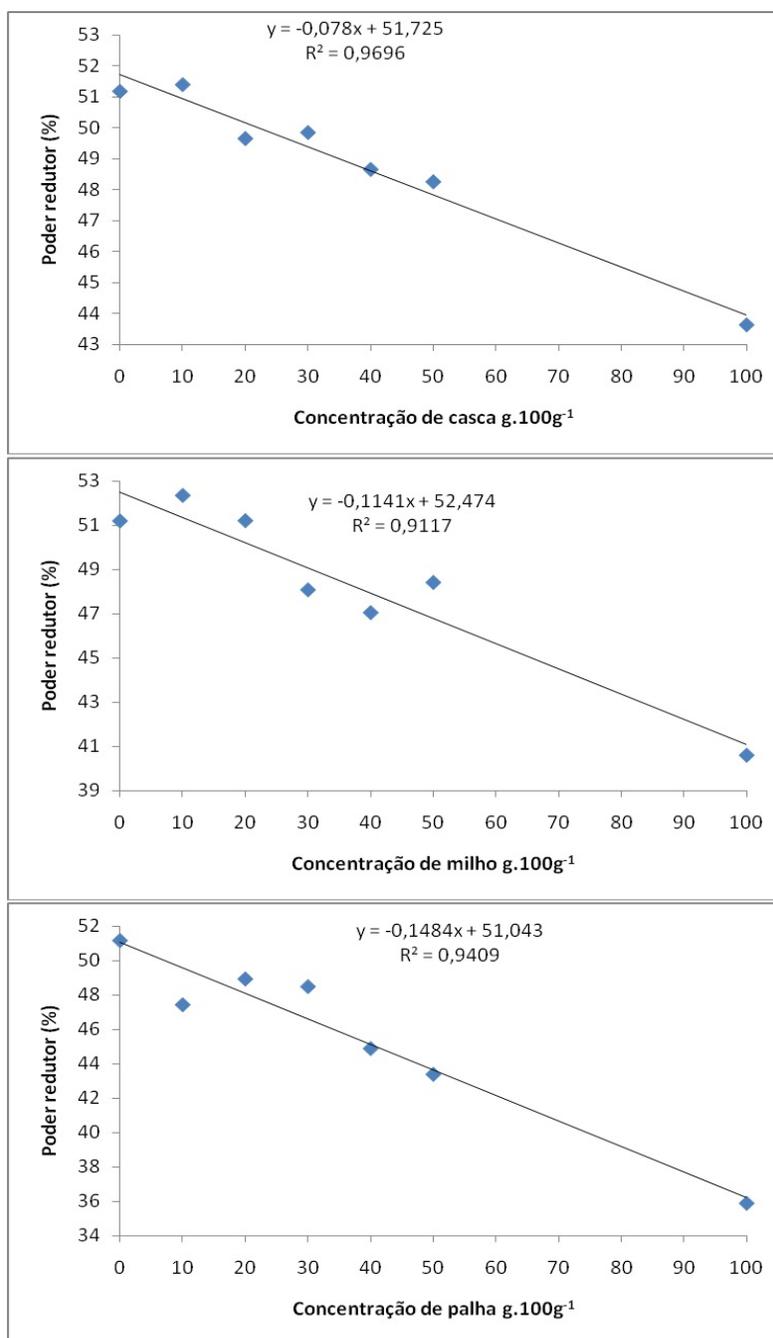


Figura 6 Poder redutor (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa

O poder redutor das bebidas de cafés foi afetado pela adição de adulterantes. Observa-se que o comportamento da capacidade redutora das amostras analisadas é decrescente com o aumento da porcentagem de casca, milho e palha (Figura 6).

Em um estudo realizado por Santos et al. (2007), os autores verificaram que a torração do café verde aumentou o poder redutor da bebida, porém, a capacidade redutora diminuiu com o aumento do grau de torração, possivelmente pela maior degradação de ácido clorogênico. Lima et al. (2010) concluíram que a descafeinação diminuiu a capacidade redutora do café devido à redução da cafeína e ácidos clorogênicos.

A partir destes resultados é possível inferir que a redução no conteúdo de cafeína e compostos fenólicos causada pela adição de adulterantes, possivelmente afetaram o poder redutor das bebidas das amostras avaliadas.

Além disso, compostos formados com a torração, como as melanoidinas parece ter a capacidade de reduzir o íon ferrocianeto e sendo assim, a provável redução destes compostos causada pela adição de casca, palha e milho também pode ter influenciado no comportamento da capacidade redutora das amostras.

4.6 Atividade quelante de ferro (AQF)

Na Figura 7 está representada a atividade quelante de ferro (%) para as diferentes amostras estudadas.

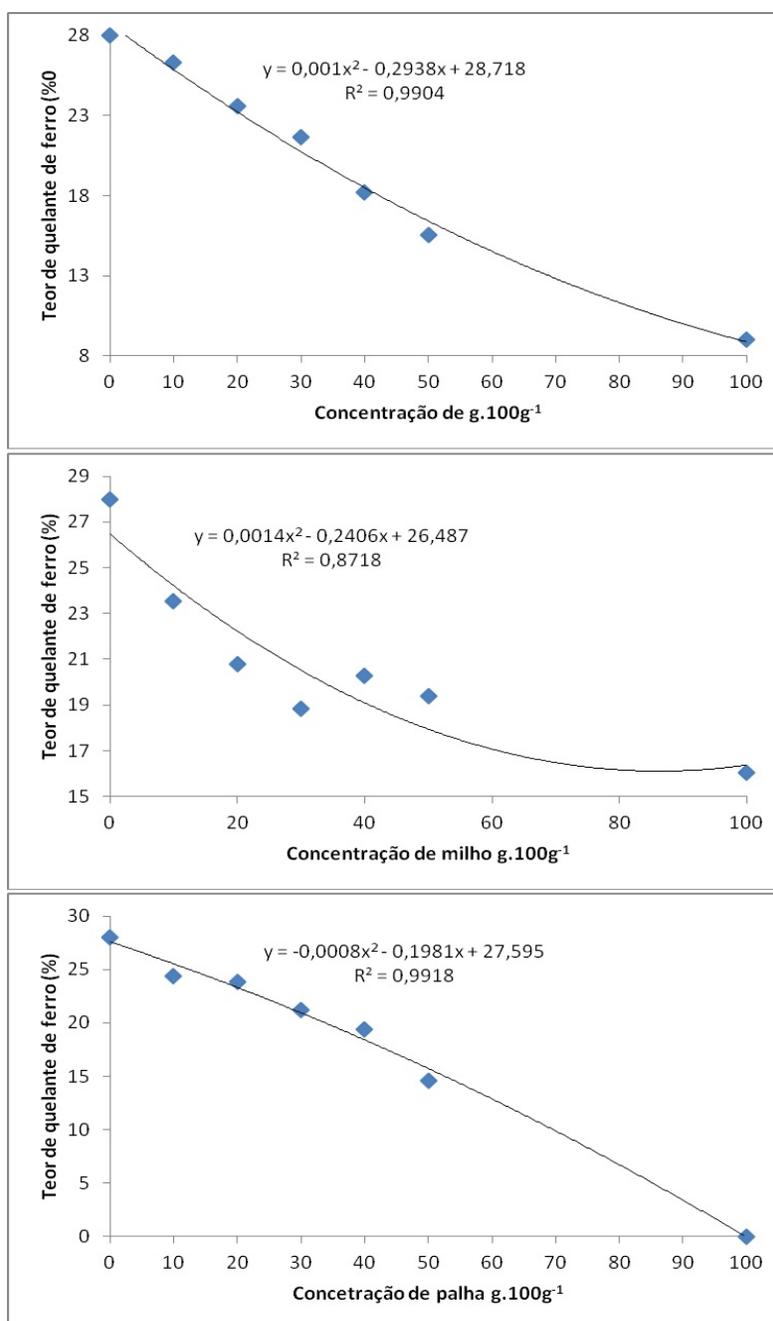


Figura 7 Atividade quelante de Fe²⁺ (%) das bebidas de cafés adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa

Assim, como nos testes anteriores, houve influência da adulteração no poder quelante de ferro das amostras. Nota-se que à medida que a concentração de adulterantes aumenta, ocorre redução da AQF (Figura 7). A partir dos resultados já discutidos neste estudo, pode-se inferir que a redução dos teores de compostos fenólicos, ácidos clorogênicos e cafeína das amostras analisadas possivelmente ocasionaram a diminuição da AQF.

Santos et al. (2007) observaram que as amostras de café verde apresentaram maior atividade quelante, provavelmente devido à presença de compostos fenólicos funcionais. Em um estudo realizado por Lima et al. (2010) os autores avaliaram o potencial antioxidante de diferentes amostras de cafés e concluíram que os processos de torração e descafeinação reduziram a atividade quelante das amostras. Os autores relacionaram a redução de ácido clorogênico e de cafeína induzidos por estes processos com a redução da atividade quelante de ferro.

Contrariando estes estudos, Bekedam et al. (2008a) relataram que as melanoidinas formadas com a torração do café possuem atividade quelante de metais. Os resultados destes estudos indicam que a redução de cafeína e compostos fenólicos e provavelmente de melanoidinas interfere na capacidade quelante de metais, assim como observado neste estudo.

Dentre os adulterantes, o milho (100%) apresentou a maior AQF apesar de apresentar os menores valores de compostos bioativos comparado com os outros dois adulterantes. Este resultado se assemelha com o obtido na análise da atividade sequestrante de radicais livres DPPH, evidenciando a atividade antioxidante do milho torrado ainda que em porcentagens reduzidas comparadas ao café.

A presença de outros compostos com atividade antioxidante no milho, como já discutido anteriormente, também pode ter contribuído para a atividade quelante de ferro superior das amostras, contendo milho comparado com os

cafés com casca e palha. Em um estudo realizado por Filgueiras et al. (2009), os autores concluíram que o ácido fítico presente no gérmen do milho possui capacidade de quelar íons ferro.

O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Dessa maneira, cafés fraudados com casca, milho e palha melosa possuem capacidade reduzida de proteção contra o estresse oxidativo quando comparados com o café puro.

4.7 Lipoperoxidação

As porcentagens de inibição de peroxidação lipídica das amostras analisadas estão representadas na Figura 8.

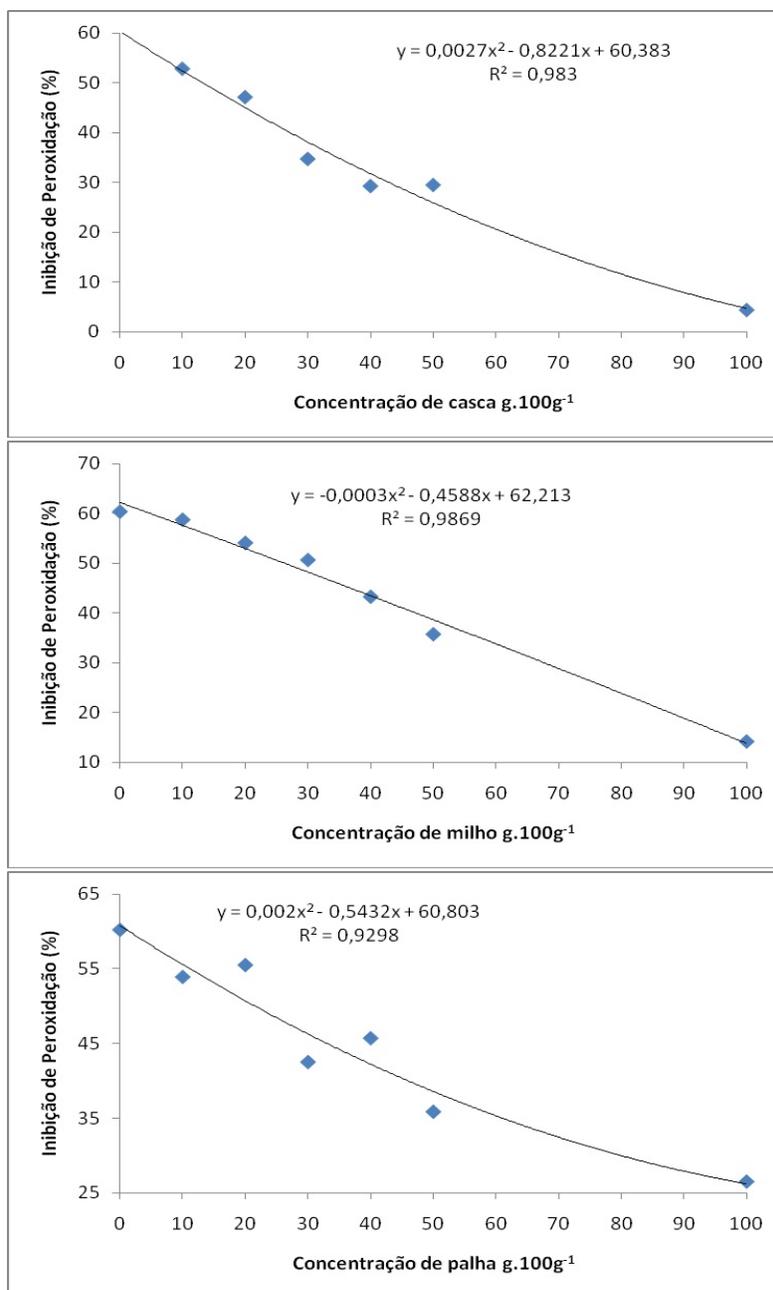


Figura 8 Inibição da lipoperoxidação (%) das bebidas de café adulterados com diferentes porcentagens de casca, milho e palha melosa

Ficou evidenciado neste estudo que as fraudes alteraram a capacidade de inibir a peroxidação lipídica do café, assim como os demais métodos avaliados. Esta alteração ocorreu possivelmente devido à redução de compostos com atividade antioxidante das amostras adulteradas como já discutido neste estudo.

Duarte et al. (2009) avaliaram a capacidade do café natural e descascado em inibir a lipoperoxidação e obtiveram os maiores valores (58,7) para o café descascado com torração média (20.000ppm). Estes valores se semelhantes aos obtidos para os cafés puros (58%) analisados neste estudo. Os autores do estudo afirmaram que o maior conteúdo de ácidos clorogênicos encontrados no café descascado foi responsável pelo maior poder de inibir a peroxidação lipídica deste café comparado com o café natural.

Em um estudo *in vitro* com células humanas, utilizando extrato da folha de *Apocynum venetum* ficou demonstrado que o ácido clorogênico presente na folha inibiu quase que totalmente a formação de substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico (TBARS) (KIM et al., 2000). Dessa maneira, é possível relacionar os teores reduzidos de ácido clorogênico das amostras de café com casca, palha e milho com a redução da capacidade de inibir MDA.

No entanto, assim como nos demais métodos avaliados, a redução dos teores de 5-ACQ das amostras não seguiu o mesmo comportamento da inibição da peroxidação lipídica, mostrando que a adição de adulterantes afetou outros compostos com poder antioxidante.

A redução do conteúdo de cafeína das amostras pode ter afetado a capacidade de inibir MDA, já que este composto possui poder de inibir a peroxidação lipídica induzida por radicais hidroxilas (OH.), peróxidos (ROO.) e oxigênio singlete (CLIFFORT; RAMIREZ-MARTINEZ, 1991). Por outro lado, Daglia et al. (2008) atribuíram às melanoidinas, formadas com a torração, o poder de inibir a peroxidação lipídica do café.

O processo de lipoperoxidação é catalisado pelo ferro e resulta na formação de malondialdeído (MDA) como produto final da reação (JOMOVA; VALKO, 2011). Sendo assim, a capacidade quelante de ferro exercida pelo café pode estar relacionada com seu poder de inibir a lipoperoxidação.

O comportamento da atividade quelante de ferro das amostras analisadas se mostrou semelhante ao comportamento de inibição da peroxidação lipídica. No entanto, deve-se considerar que a amostra 100% palha não apresentou atividade quelante de ferro e apresentou a maior inibição da peroxidação lipídica comparada com os outros adulterantes. Este resultado revela a importância da realização de mais de uma análise para que se tenha uma maior confiabilidade dos resultados. Abrahão et al. (2010) avaliando a atividade antioxidante de amostras de café com diferentes métodos analíticos afirmaram que, dependendo do meio e da reação, o mesmo composto pode apresentar um comportamento antioxidante diferente ou até mesmo pró-oxidante.

5 CONCLUSÃO

Cafés adulterados com casca, milho e palha apresentam teores reduzidos de compostos fenólicos, ácido clorogênico e cafeína. Além disso, pode-se concluir que a adição de adulterantes ao café reduz a capacidade sequestrante de radicais livres, o poder redutor, a atividade quelante de ferro e a capacidade de inibir lipoperoxidação da bebida de café reduzindo a proteção contra o estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, S. A. **Qualidade da bebida e atividade antioxidante do café *in vivo* e *in vitro***. 2007. 82 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 414-420, mar./abr. 2010.
- ALESSANDRINI, L. et al. Near infrared spectroscopy: an analytical tool to predict coffee roasting degree. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 625, n. 1, p. 95-102, Jan. 2008.
- 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.
- ALVES, R. C. et al. Antiradical activity, phenolics profile, and hydroxymethylfurfural in espresso coffee: influence of technological factors. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 24, p. 12221-12229, Dec. 2010.
- AMORIM, H. V. **Relação entre alguns compostos orgânicos do grão de café verde com a qualidade da bebida**. 1972. 136 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1972.
- ANDRADE, A. P. S. et al. Avaliação do potencial alelopático e efeitos fitoquímicos obtidos da casca de café (*Coffea arabica*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32., 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade brasileira de Química, 2009. 1 CD-ROM.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **Arquivos**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>>. Acesso em: 10 mar. 2004.
- _____. **Café e saúde**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>>. Acesso em: 10 mar. 2010a.
- _____. **Controle da pureza de café**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>>. Acesso em: 10 mar. 2010b.

_____. **Estatística**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>>. Acesso em: 10 mar. 2011.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists**. 12th ed. Washington, 1990. 1170 p.

ATOUI, A. K. et al. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, London, v. 89, n. 1, p. 27-39, Jan. 2005.

ATSUMI, T. et al. Salivary free radical-scavenging activity is affected by physical and mental activities. **Oral Diseases**, Hampshire, v. 14, n. 6, p. 490-496, Sept. 2008.

BARCELOS, A. F. et al. Aproveitamento da casca de café na alimentação de novilhos confinados: resultados do primeiro ano. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 26, n. 6, p. 1208-1214, nov./dez. 1997a.

_____. Aproveitamento da casca de café na alimentação de novilhos confinados: resultados técnicos do segundo ano. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 26, n. 6, p. 1215-1221, nov./dez. 1997b.

_____. Parâmetros bromatológicos da casca e polpa desidratada de café (*Coffea arabica* L.) armazenadas em diferentes períodos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 4, p. 780-790, jul./ago. 2002.

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

BEKEDAM, E. K. et al. Incorporation of chlorogenic acids in coffee brew melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 6, p. 2055-2063, Mar. 2008a.

_____. Low molecular weight melanoidins in coffee brew. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 11, p. 4060-4067, June 2008b.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-13, 1999.

BIDEL, S. et al. Coffee consumption and risk of total and cardiovascular mortality among patients with type 2 diabetes. **Diabetologia**, New York, v. 49, n. 11, p. 2618-2626, Nov. 2006.

BONITA, J. S. et al. Coffee and cardiovascular disease: *in vitro*, cellular, animal, and human studies. **Pharmacological Research**, London, v. 55, n. 3, p. 187-198, Mar. 2007.

BONNES, T.; GUÉRIN, T. Is malonaldeyde a valuable of peroxidation? **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 44, n. 5, p. 985-988, Sept. 1992.

BORGES, M. L. A. et al. Estudo da variação da coloração de café arábica durante a torrefação em diferentes condições de aquecimento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 5, p. 3-8, 2002. Edição especial.

BRAND, D. et al. Fermenter and kinetic modeling for upgrading the nutritional quality of coffee husk in solid-state fermentation. **Biotechnology Progress**, Dordrecht, v. 17, p. 1065-1070, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 16**, de 24 de maio de 2010. Aprova o regulamento técnico da identidade e de qualidade para o café grão torrado e grão torrado e moído. Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/media/CONS_leg_regulamentotecnicoIN16.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2010.

BREZOVA, V. et al. Coffee as a source of antioxidants: an EPR study. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 3, p. 859-868, June 2009.

BUDRYN, G. et al. Effect of different extraction methods on the recovery of chlorogenic acids, caffeine and Maillard reaction products in coffee beans. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 228, p. 913-922, Feb. 2009.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, New York, v. 52, p. 302-310, 1978.

CAMPANHA, G. et al. Discrimination of coffee species using kahweol and cafestol: effects of roasting and of defects. **Coffee Science**, Lavras, v. 5, n. 1, p. 87-96, Jan./Apr. 2010.

CELIK, T. et al. The effects of coffee intake on coronary heart disease: ongoing controversy. **International Journal of Cardiology**, Amsterdam, v. 144, n. 1, p. 118-118, Sept. 2010.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Dietetic antioxidants: controversies and perspectives. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, mar./abr. 2007.

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

CHU, Y. F. Type 2 diabetes-related bioactivities of coffee: assessment of antioxidant activity, NF-kappa B inhibition, and stimulation of glucose uptake. **Food Chemistry**, London, v. 124, n. 3, p. 914-920, Feb. 2011.

CHU, Y. F. et al. Roasted coffees high in lipophilic antioxidants and chlorogenic acid lactones are more neuroprotective than green coffees. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 20, p. 9801-9808, Oct. 2009.

CLARKE, R. J. et al. **Encyclopedia of food sciences and nutrition**. London: Academic, 2003. v. 3, 1486 p.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee: chemistry**. New York: Elsevier Applied Science, 1985. 116 p.

CLIFFORD, M. N. The composition of green and roasted coffee beans. **Process Biochemistry**, London, v. 10, p. 20-29, 1975.

CLIFFORD, M. N.; RAMIREZ-MARTINEZ, J. R. Phenols and caffeine in wet-processed coffee beans and coffee pulp. **Food Chemistry**, London, v. 40, n. 1, p. 35-42, Jan. 1991.

DAGLIA, M. et al. Isolation of high molecular weight components and contribution to the protective activity of coffee against lipid peroxidation in a rat liver microsome system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 24, p. 11653-11660, Dec. 2008.

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

DÓREA, J. G.; COSTA, T. H. M. da. Is coffee a functional food? **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 93, n. 6, p. 773-782, Dec. 2005.

DUARTE, S. M. D. et al. Peeled coffee brew effect in the antioxidant activity hematological and biochemical parameters in rats. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 703-708, out./dez. 2009.

EL-AGAMEY, A. et al. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. **Archives Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 430, n. 1, p. 37-40, 2004.

ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipidoxidation products. **America Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 57, p. 779S-785S, 1993. Supplement.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 652 p.

FARAH, A. et al. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 138, n. 12, p. 2309-2315, Dec. 2008.

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.

FERREIRA, E. A. **Avaliação do potencial antioxidante e hipotriglicéidêmico de análogos sintéticos de acetofenona**. 2005. 120 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

FERRUZZI, M. G. The influence of beverage composition on delivery of phenolic compounds from coffee and tea. **Physiology & Behavior**, Elmsford, v. 100, n. 1, p. 33-41, Apr. 2010.

FIGUEIREDO, M. et al. Parâmetros cinéticos da degradação ruminal da casca de café (*Coffea arabica*, L.) tratada com hidróxido de sódio (NAOH). **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 1, p. 9-15, abr. 2008.

FILGUEIRAS, C. T. et al. Avaliação da atividade antioxidante do ácido fítico de germe de milho. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1787-1791, jul. 2009.

FUKUSHIMA, Y. et al. Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 4, p. 1253-1259, Feb. 2009.

GARAMBONE, E.; ROSA, G. Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 2, p. 229-235, 2007.

GOODMAN, B. A.; PASCUAL, E. C.; YERETZIAN, C. Real time monitoring of free radical processes during the roasting of coffee beans using electron paramagnetic resonance spectroscopy. **Food Chemistry**, London, v. 125, p. 248-254, 2011.

GOTTELAND, M.; DE-PABLO, V. S. Algunas verdades sobre el café. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 34, n. 2, p. 105-115, 2007.

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

JHAM, G. N. et al. The use of fatty acid profile as a potential marker for Brazilian coffee (*Coffea arabica* L.) for corn adulteration. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 19, n. 8, p. 1462-1467, 2008.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. **Toxicology**, Limerick, v. 283, n. 1, p. 65-87, 2011.

HALLIWELL, B. Antioxidant paradox. **The Lancet**, London, v. 355, n. 9210, p. 1179-1180, Apr. 2000.

_____. Establishing biomarkers of oxidative stress: the measurement of hydrogen peroxide in human urine. **Current Medicinal Chemistry**, Netherlands, v. 11, n. 9, p. 1085-1092, May 2004.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 5th ed. Oxford: Clarendon, 1999.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Anthocyanins and other flavonoids. **Natural Product Reports**, London, v. 18, p. 310-333, 2001.

HUANG, D. J. et al. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, Mar. 2005.

KIM, D. W. et al. Inhibitory effects of an aqueous extract of *Apocynum venetum* leaves and its constituents on Cu²⁺-induced oxidative modification of low density lipoprotein. **Phytotherapy Research**, London, v. 14, n. 7, p. 501-504, Nov. 2000.

LEME, P. H. M. V. **Os pilares da qualidade:** o processo de implementação do programa de qualidade do café (PQP) no mercado de café torrado e moído do Brasil. 2007. 110 p. Dissertação (Mestrado em Administração) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

LEMOS, P. et al. Identificação e quantificação de carotenóides de sementes de variedades locais e crioulas de milho (*Zea mays*), desenvolvidas e cultivadas tradicionalmente por agricultores familiares de Anchieta (SC). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 58., 2006, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SBPC, 2006. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/58ra/SENIOR/RESUMOS/resumo_876.html>. Acesso em: 15 jan. 2012.

LIMA, A. R. et al. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante *in vitro* do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 20-24, jan. 2010.

LIU, Y.; KITTS, D. D. Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews. **Food Research International**, Barking, v. 44, n. 8, p. 2418-2424, Oct. 2011.

LOPEZ, F. C. Determinação quantitativa das principais substâncias utilizadas para fraudar o café torrado e moído. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 43, n. 1/2, p. 3-8, 1983.

LOPEZ-GALILEA, I.; PEÑA, M. P.; CID, C. Application of multivariate analysis to investigate potential antioxidants in conventional and torrefacto roasted coffee. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 227, n. 1, p. 141-149, Jan. 2008.

MARTIN, M. J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A. G. Discrimination between *Arabica* and *Robusta* green coffee varieties according to their chemical composition. **Talanta**, Amsterdam, v. 46, n. 6, p. 1259-1264, Aug. 1998.

MATOS, A. T.; LO MONACO, P. A.; GARCIA, G. O. **Caracterização dos resíduos sólidos e líquidos no processamento dos frutos do cafeeiro.** Disponível em: <<http://www.ufv.br/poscolheita/aguas/caracterizacao.htm>>. Acesso em: 28 mar. 2010.

MELLO FILHO, A. C.; HOFFMAN, M. E.; MENEGHINI, R. Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochemical Journal**, London, v. 218, n. 2, p. 273-275, 1983.

MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, London, v. 15, n. 1, p. 27-30, Jan. 2001.

MERCADO MINEIRO. **Pesquisa sobre a pureza de cafés comerciais.** Disponível em: <http://www.mercadomineiro.com.br/index.html>>. Acesso em: 1 nov. 2009.

MILLER, N. J. et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, London, v. 84, p. 407-412, 1993.

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.

MORAIS, S. L. M. et al. Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 198-207, 2008.

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

NILSSON, L. M. et al. Consumption of filtered and boiled coffee and the risk of incident cancer: a prospective cohort study. **Cancer Causes & Control**, Oxford, v. 21, p. 1533-1544, May 2010.

NOGUEIRA, G. C. Otimização da metodologia para determinação simultânea de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico em café utilizando HPLC com coluna de permeação em gel. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 29., 2000, Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: EMBRAPA; Minasplan, 2000. p. 646-649.

NOGUEIRA, M.; TRUGO, L. C. Chlorogenic ACID isomers, caffeine and trigonellin contents in Brazilian instant coffee. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 296-299, 2003.

NOSCHANG, C. G. et al. Interactions between chronic stress and chronic consumption of caffeine on the enzymatic antioxidant system. **Neurochemical Research**, New York, v. 34, p. 1568-1574, 2009.

OLIVEIRA, R. C. S. et al. Evaluation of the potential of SPME-GC-MS and chemometrics to detect adulteration of ground roasted coffee with roasted barley. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 22, n. 2, p. 257-261, Feb. 2008.

ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO CAFÉ. **Sobre o café**. Disponível em: <<http://www.oic.org>>. Acesso em: 11 mar. 2010.

ORMOND, J. G. P.; PAULA, S. R. L.; FERREIRA FILHO, P. Café: (re)conquista dos mercados. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 10, p. 3-56, set. 1999.

PAES, M. C. D. **Manipulação da composição química do milho**: impacto na indústria e na saúde humana. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/milho/index.htm>. Acesso em: 1 abr. 2010.

PAULA, F. B. A. et al. Protective action of a hexane crude extract of *Pterodon emarginatus* fruits against oxidative and nitrosative stress induced by acute exercise in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, Bethesda, v. 5, n. 1, p. 17-20, 2005.

PÉREZ-MARTINEZ, M. et al. Influence of brewing method and acidity regulators on the antioxidant capacity of coffee brews. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 58, n. 5, p. 2958-2965, Mar. 2010.

PETERSON, G. L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 83, n. 2, p. 346-356, Dec. 1977.

RAMALAKSHMI, K.; RAGHAVAN, B. Caffeine in coffee: its removal, why and how? **Critical Reviews in Science Nutrition**, Cleveland, v. 39, n. 3, p. 441-444, 1999.

RIBEIRO FILHO, E. **Efeito da casca de café (*Coffea arabica*) no desempenho de novilhos mestiços de holandês-zebu na fase de recria**. 1998. 56 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Ruminantes) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

RIKSEN, N. P.; RONGEN, G. A.; SMITS, P. Acute and long-term cardiovascular effects of coffee: implications for coronary heart disease. **Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 121, n. 1, p. 185-191, Jan. 2009.

RODARTE, M. P. **Análise sensorial, química e perfil de constituintes voláteis de cafés especiais**. 2008. 147 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

SAES, M. S. M.; JAYO, M. **Competitividade do sistema agroindustrial do café**. São Paulo: FIPE Agrícola e Pensa/USP, 1998. 236 p.

SALDAÑA, M. D. A. **Extração de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico dos grãos de café com CO₂ supercrítico**. 1997. 185 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

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.

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

SOUZA, R. et al. Teores de compostos bioativos em cafés torrados e moídos comerciais. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 885-890, abr. 2010.

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.

TANG, Y. Z.; LIU, Z. Q. Chemical kinetic behavior of chlorogenic acid in protecting erythrocyte and DNA against radical-induced oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 22, p. 11025-11029, Nov. 2008.

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.

TOLEDO, L. B.; BARBOSA, A. T. **Classificação e degustação de café**. Rio de Janeiro: ABIC Brasil, 1997. 20 p.

UMEMURA, T. et al. Acute administration of caffeine on vascular function in humans: as a balance of endothelium-dependent vasodilator and adenosine receptor antagonist. **Journal of Hypertension**, London, v. 24, n. 6, p. 172-172, Dec. 2006. Supplement.

URGERT, R.; KATAN, B. The cholesterol-raising factor from coffee beans. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 17, p. 305-324, Sept. 1997.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, set./out. 2007.

VEGRO, C. L. R. **O prazer e a excelência de uma xícara de café espresso: um estudo de mercado**. São Paulo: Ceres, 2002. 111 p. (Coleções Cadeias de Produção da Agricultura, 2).

VIANI, R.; HORMAN, I. Thermal behavior of trigonelline. **Journal Food of Science**, Chicago, v. 39, n. 6, p. 1216-1217, Nov./Dec. 1974.

VIGNOLLI, J. A. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: the influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**, London, v. 124, n. 3, p. 863-868, Feb. 2011.

VILELA, F. G. et al. Uso da casca de café melosa em diferentes níveis na alimentação de novilhos confinados. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 198-205, jan./fev. 2001.

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

WANG, Y.; HO, C. Polyphenolic chemistry of tea and coffee: a century of progress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 18, p. 8109-8114, Aug. 2009.

YEN, W. J.; CHANG, L. W.; DUH, P. D. Antioxidant activity of peanut seed test and its antioxidative component, ethyl protocatechuate. **Food Science and Technology**, Trivandrum, v. 38, n. 3, p. 193-200, 2005.

YILDIRIM, A.; OKTAY, M.; BULALOÚLU, V. The antioxidant activity of the leaves of *Cydonia vulgaris*. **Turkish Journal of Medical Science**, Ankara, v. 31, n. 1, p. 23-27, 2001.

ZHAO, Z. H. et al. 5-caffeoylquinic acid and caffeic acid down-regulate the oxidative stress- and TNF- α -induced secretion of interleukin-8 from caco-2 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 10, p. 3863-3868, May 2008.