



JÉSSICA PETRINE CASTRO PEREIRA

**COMPORTAMENTO DE CONSUMIDORES DE CAFÉ E
PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS,
BIOACCESSIBILIDADE, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTINUTRICIONAL EM INFUSÕES DE CAFÉ, DE
FOLHAS DE CAFÉ E DE FOLHAS DE AMOREIRA**

Lavras - MG

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

JÉSSICA PETRINE CASTRO PEREIRA

**COMPORTAMENTO DE CONSUMIDORES DE CAFÉ E PERFIL DE COMPOSTOS
FENÓLICOS, BIOACESSIBILIDADE, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTINUTRICIONAL EM INFUSÕES DE CAFÉ, DE FOLHAS DE CAFÉ E DE
FOLHAS DE AMOREIRA**

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

Orientador

Prof. Dr. Carlos José Pimenta

Coorientadora

Prof. Dra. Renata Adriana Labanca

LAVRAS - MG

2024

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da
Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pela própria autora.**

Pereira, Jéssica Petrine Castro.

Comportamento de consumidores de café e perfil de compostos fenólicos, bioacessibilidade, atividade antioxidante e antinutricional em infusões de café, de folhas de café e de folhas de amoreira. / Jéssica Petrine Castro Pereira. - 2024.

89 p. : il.

Orientador(a): Carlos José Pimenta.

Coorientador(a): Renata Adriana Labanca.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Café. 2. Infusão. 3. Consumidores. I. Pimenta, Carlos José. II. Labanca, Renata Adriana. III. Título.

JÉSSICA PETRINE CASTRO PEREIRA

COMPORTAMENTO DE CONSUMIDORES DE CAFÉ E PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS, BIOACESSIBILIDADE, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTINUTRICIONAL EM INFUSÕES DE CAFÉ, DE FOLHAS DE CAFÉ E DE FOLHAS DE AMOREIRA

COFFEE CONSUMERS' BEHAVIOR AND PHENOLIC COMPOUND PROFILE, BIOACCESSIBILITY, ANTIOXIDANT ACTIVITY, AND ANTINUTRITIONAL CONTENT IN COFFEE INFUSIONS, COFFEE LEAF INFUSIONS, AND MULBERRY LEAF INFUSIONS

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

APROVADO em 26 de março de 2024.

Dr. Michel Cardoso de Angelis Pereira UFLA

Dra. Fernanda Demoliner UFLA

Dra. Larissa de Oliveira Fassio UNILAVRAS

Orientador

Prof. Dr. Carlos José Pimenta

Coorientadora

Prof. Dra. Renata Adriana Labanca

LAVRAS - MG

2024

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e à Nossa Senhora por me conceder sabedoria na escolha do melhor caminho, força, fé e coragem para acreditar no meu potencial.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela oportunidade.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao meu orientador, Carlos José Pimenta, pela orientação, paciência e dedicação.

À minha coorientadora, Renata Adriana Labanca, pela orientação, dedicação, reuniões, por não medir esforços e sempre ter algo a acrescentar.

Agradeço aos membros da banca examinadora, Fernanda, Larissa e Michel, e suplentes, Maria Cecília e Maísa, pelo aceite do convite, interesse e disponibilidade.

À minha irmã, Fernanda, que sempre esteve disposta a me ajudar, dar conselhos, principalmente com a parte estatística, ser minha melhor amiga e por me conceder o título de madrinha da Vivi. À minha afilhada, Vívian, por ser meu maior presente no doutorado, minha fonte de amor e carinho.

Aos meus amados, pais, Antônio e Carmilene, por tanto amor, carinho, paciência, confiança, ajuda e grande motivação para eu alcançar meus sonhos.

Ao meu marido, Bruno, por sua dedicação, amor, respeito, companheirismo e por sempre acreditar no meu potencial. Aos meus enteados, Benício e Davi, sobrinha Alice, e toda família do Bruno, pelo apoio, carinho e por serem minha segunda família.

À minha família querida, madrinha, tia Zezé, tios, primos, principalmente, minha prima, Dani e suas filhas, Ana Clara (minha primeira afilhada) e Lulu, agradeço por tanto amor, apoio, conversas e carinho.

As minhas queridas amigas, Maysa, Vânia e Daelen, pelos momentos de alegria, amizade, conselhos e apoio nos momentos difíceis.

A todos funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos/UFLA, professores, secretárias, técnicos, faxineiros, pelo apoio e ensinamentos. Às técnicas, Paloma e Tati, pela ajuda, apoio e amizade. À Bia, Josi e Elaine, pela parceria, ajuda na realização das análises e por transmitirem seus conhecimentos. Ao Renan, por ceder as amostras de café.

A todos que agradei acima, vocês foram imprescindíveis para a realização e conclusão desse trabalho, serei eternamente grata.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O café é uma bebida popular, apreciada por seu sabor e efeito estimulante. Apesar do amplo consumo, pouco se discute sobre como o processo de torra do café pode afetar sua composição e benefícios à saúde. A infusão de café, especialmente a filtrada, é conhecida por seu agradável aroma e sabor, oferecendo diversos compostos bioativos que podem ser benéficos à saúde humana. Além disso, existem alternativas para complementar a infusão de café visando efeitos terapêuticos, como a adição de infusões feitas a partir de folhas de café, que são ricas em compostos fenólicos, carotenoides e clorofila. Outra opção é a infusão de folhas de amoreira, que também são ricas em compostos fenólicos e antioxidantes. A amoreira é uma planta medicinal conhecida pela sua utilidade na medicina popular, com alto valor nutricional e compostos com ação terapêutica. No entanto, há poucos estudos que analisam a bioacessibilidade de compostos presentes na infusão de café em diferentes graus de torra, assim como em infusões de folhas de café e de amoreira. Assim, o presente trabalho teve como objetivo verificar o comportamento de consumidores de café, e comparar a bioacessibilidade de compostos fenólicos, utilizando um modelo de digestão *in vitro* e infusões de café, frente a diferentes tipos de torras, e em infusões de folhas de café e de folhas de amoreira. Além disso, visou-se analisar a atividade antioxidante e concentração de fatores antinutricionais nessas mesmas infusões. Um questionário online foi usado para avaliar as preferências dos consumidores. Com base nas respostas (502 participantes), a torra média foi a mais popular (64,1%), seguida pela torra escura (29,9%), enquanto apenas 6% preferiram a torra clara. O filtro de papel foi o mais utilizado (55,2%), seguido pelo filtro de pano (23,3%), e a maioria (66,9%) responderam que deixam a água atingir o ponto de ebulição. A infusão de folhas de amoreira teve o maior teor de fenólicos totais. Quanto à atividade antioxidante, as infusões de folhas de café e de amoreira superaram a de torra escura. A infusão de folhas de café apresentou maior teor de antinutricionais. Antes da digestão, as infusões de folhas de amoreira e torra média apresentaram maior concentração de trigonelina, enquanto a infusão de folhas de café apresentou mais ácidos clorogênico e gálico. Após a digestão, as infusões de folhas de café, amoreira e torra média continham mais trigonelina, ácido gálico e cafeico. As infusões com torras clara e média continham mais teobromina e ácidos clorogênico e siríngico. A torra média apresentou melhor perfil de fenólicos antes da digestão, enquanto a torra escura teve o pior após a digestão. Todas as infusões mostraram redução nos ácidos clorogênico e cafeico. Em relação à bioacessibilidade, houve variação entre as infusões, destacando-se a infusão com torra média. Com base nos dados demonstrados, sugere-se que o processamento térmico do café influencie tanto na quantidade de compostos fenólicos quanto na atividade antioxidante presentes nas infusões de café, sendo a infusão de café constituída de torra escura, a que apresentou menor teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Palavras-chave: Torra, Compostos Bioativos, Compostos Fenólicos, Saúde, Digestão.

ABSTRACT

Coffee is a popular beverage, appreciated for its flavor and stimulating effect. Despite its widespread consumption, there is little discussion about how the roasting process of coffee can affect its composition and health benefits. Coffee infusion, especially filtered, is known for its pleasant aroma and taste, offering various bioactive compounds that can be beneficial to human health. Additionally, there are alternatives to complement coffee infusion for therapeutic effects, such as adding infusions made from coffee leaves, which are rich in phenolic compounds, carotenoids, and chlorophyll. Another option is mulberry leaf infusion, which is also rich in phenolic compounds and antioxidants. Mulberry is a medicinal plant known for its usefulness in folk medicine, with high nutritional value and compounds with therapeutic action. However, there are few studies analyzing the bioaccessibility of compounds present in coffee infusion at different roasting levels, as well as in infusions of coffee and mulberry leaves. Therefore, this study aimed to assess the behavior of coffee consumers and compare the bioaccessibility of phenolic compounds using an *in vitro* digestion model and coffee infusions, across different roasting types, and in infusions of coffee and mulberry leaves. Additionally, the study aimed to analyze the antioxidant activity and concentration of antinutritional factors in these infusions. An online questionnaire was used to assess consumer preferences. Based on the responses (502 participants), medium roast was the most popular (64.1%), followed by dark roast (29.9%), while only 6% preferred light roast. Paper filters were the most commonly used (55.2%), followed by cloth filters (23.3%), and the majority (66.9%) reported letting the water reach boiling point. Mulberry leaf infusion had the highest total phenolic content. Regarding antioxidant activity, infusions of coffee and mulberry leaves surpassed dark roast. Coffee leaf infusion had a higher content of antinutritional factors. Before digestion, mulberry leaf and medium roast infusions had higher trigonelline concentration, while coffee leaf infusion had more chlorogenic and gallic acids. After digestion, coffee leaf, mulberry leaf, and medium roast infusions contained more trigonelline, gallic, and caffeic acids. Light and medium roast infusions contained more theobromine and chlorogenic and syringic acids. Medium roast showed a better phenolic profile before digestion, while dark roast had the worst after digestion. All infusions showed a reduction in chlorogenic and caffeic acids. Regarding bioaccessibility, there was variation among infusions, with medium roast infusion standing out. Based on the data, it is suggested that the thermal processing of coffee influences both the quantity of phenolic compounds and the antioxidant activity present in coffee infusions, with dark roast infusion showing lower phenolic compound content and antioxidant activity.

Keywords: Roasting, Bioactive Compounds, Phenolic Compounds, Health, Digestion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da cafeína	15
Figura 2 - Estrutura química do ácido clorogênico	17
Figura 3 - Estrutura química da trigonelina.....	17
Figura 4 - Estrutura química do cafestol e kahweol	18
Figura 5 - Grãos de café com diferentes torras.....	36
Figura 6 - Folhas de café e folhas de amoreira.....	37
Figura 7 - Infusões contendo diferentes torras	38
Figura 8 - Infusões contendo folhas de café e folhas de amoreira	39
Figura 9 - Sexo e faixa etária dos participantes do questionário	46
Figura 10 - Consumo de café em cafeterias, lanchonetes, padarias etc.....	47
Figura 11 - Preparo do próprio café e o tipo de filtro utilizado no seu preparo	47
Figura 12 - Cor do pó de café e quantidade de pó de café/xícara de água	48
Figura 13 - Temperatura da água, adição de e ingestão do café.....	49
Figura 14 - Cromatogramas das infusões com folhas de café	50
Figura 15 - Cromatogramas das infusões com folhas de amoreira.....	51
Figura 16 - Cromatogramas das infusões com torra clara	52
Figura 17 - Cromatogramas das infusões com torra média	53
Figura 18 - Cromatogramas das infusões com torra escura.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Graus de torração frente a diferentes parâmetros	21
Tabela 2 - Composição e quantidade das soluções presentes na simulação de fluido salivar (FSS), fluido gástrico (FSG) e de fluido intestinal (FSI)	39
Tabela 3 - Teor de trigonelina das infusões antes e depois da digestão <i>in vitro</i>	55
Tabela 4 - Teor de ácido gálico das infusões antes e depois da digestão <i>in vitro</i>	56
Tabela 5 - Teor de teobromina das infusões antes e depois da digestão <i>in vitro</i>	57
Tabela 6 - Teor de ácido cafeico das infusões antes e depois da digestão <i>in vitro</i>	57
Tabela 7 - Teor de ácido clorogênico das infusões antes e depois da digestão <i>in vitro</i>	58
Tabela 8 - Teor de ácido siríngico das infusões antes e depois da digestão <i>in vitro</i>	59
Tabela 9 - Bioacessibilidade das infusões após digestão <i>in vitro</i>	61
Tabela 10 - Teor de fenólicos totais das infusões.....	62
Tabela 11 - Capacidade antioxidante pelo teste de DPPH das infusões.....	63
Tabela 12 - Capacidade antioxidante pelo teste de beta-caroteno/ácido linoleico das infusões	64
Tabela 13 - Conteúdo de ácido oxálico das infusões	65
Tabela 14 - Conteúdo de taninos das infusões	65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Café	13
2.2 Constituintes Químicos do Café	14
2.2.1 Cafeína	14
2.2.2 Compostos Fenólicos	15
2.3 Ação Antioxidante do Café	18
2.4 Torração do Café	19
2.4.1 Grau de Torra	20
2.5 Preparo do Café	21
2.6 Folhas de Café	22
2.7 Folhas de Amoreira	23
2.9 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas (HPLC-DAD-ESI/MS)	25
2.10 Bioacessibilidade	25
2.11 Teor de Fenólicos Totais	26
2.12 Atividade Antioxidante	27
2.12.1 Atividade Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH	28
2.12.2 Autoxidação do Sistema Beta-caroteno/Ácido Linoleico	29
2.13 Fatores Antinutricionais	29
2.13.1 Ácido Oxálico	30
2.13.2 Taninos	30
3 OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo Geral	32
3.2 Objetivos Específicos	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Apreciação Ética	33
4.2 Questionário Sobre o Consumo e Preparo do Café	33
4.2.1 Desenvolvimento do Questionário	33
4.2.2 Participantes do Questionário	34
4.3 Obtenção e Preparo das Amostras	34
4.3.1 Amostras de Grãos de Café	34
4.3.2 Amostras de Folhas de Café	36
4.3.3 Amostras de Folhas de Amoreira	36
4.4 Delineamento Experimental	37
4.5 Preparo das Infusões Experimentais	38

4.5.1 Infusões Experimentais	38
4.5.2 Infusão das Amostras de Café em Diferentes Torras.....	38
4.5.3 Infusão das Folhas de Café e de Amoreira.....	38
4.6 Bioacessibilidade das Infusões.....	39
4.6.1 Teste de Bioacessibilidade em Digestão <i>in vitro</i>	39
4.7 Caracterização por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas (HPLC-DAD-ESI/MS).....	41
4.8 Quantificação do Teor de Fenólicos Totais	42
4.9 Ensaio Antioxidante <i>in vitro</i>	42
4.9.1 Determinação da Atividade Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH	42
4.9.2 Determinação da Atividade Antioxidante Total pelo Sistema Beta-caroteno/Ácido Linoleico.	43
4.10 Avaliação de Fatores Antinutricionais	44
4.10.1 Quantificação Espectrofotométrica de Ácido Oxálico	44
4.10.2 Avaliação do Teor de Taninos	45
4.11 Análise Estatística.....	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 Questionário Consumo e Preparo do Café.....	46
5.2 Perfil de Compostos Fenólicos.....	50
5.3 Bioacessibilidade Após Digestão <i>in vitro</i>	59
5.4 Teor de Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante das Infusões.....	61
5.5 Conteúdo de Ácido Oxálico e Taninos das Infusões.....	64
6 CONCLUSÃO.....	66
7 AGRADECIMENTOS	66
REFERÊNCIAS	67
ANEXOS	84

1 INTRODUÇÃO

O café está entre as bebidas quentes mais consumidas em todo o mundo e sua popularidade deve-se, principalmente, ao seu sabor característico e efeito estimulante (BUTT; SULTAN, 2011). É uma cultura agrícola vital, sendo produzida principalmente em países tropicais e subtropicais como Brasil, Colômbia e Vietnã (SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006). Dentro do gênero *Coffea*, as duas espécies mais importantes são *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (KLINGEL et al., 2020). A *Coffea arabica*, também conhecida como café arábica, é a espécie mais cultivada no Brasil e tem grande importância devido à sua ampla produção, posicionando o país como o maior produtor e exportador de café do mundo. A Organização Internacional do Café (2021), relatou que o consumo global de café atingiu uma taxa média de crescimento anual de 1% desde 2017.

A bebida de café, elaborada a partir de grãos torrados, tem como produto final uma infusão agradável ao olfato e paladar, no entanto, a composição dos grãos torrados são influenciados diretamente pelas características da matéria-prima e condições de processamento pós-colheita, com intuito de se obter cor, sabor e aroma desejados (WIJEWICKREME; KITTS, 1998). O perfil de torra influencia diretamente no sabor do café, o qual está relacionado com a cor do grão torrado, com controle adequado do binômio tempo e temperatura empregado, e a umidade do grão (CHOI; JUNG; KO, 2018).

O café é uma mistura química complexa, composta por compostos bioativos, cujos efeitos podem variar de acordo com sua origem, processamento, biodisponibilidade e possíveis efeitos sinérgicos e/ou antagônicos (IRIONDO-DEHOND et al., 2021). Evidências sugerem que o café, principalmente o filtrado, pode ter diversos efeitos benéficos à saúde humana, devido a esses compostos bioativos, como cafeína e compostos fenólicos, dos quais se destaca o ácido clorogênico, sendo o ácido cafeoilquínico, o mais conhecido (CANELA et al., 2009), trigonelina, e diterpenos, como cafestol e kahweol (FROST-MEYER; LOGOMARSINO, 2012).

Estudos epidemiológicos sugerem que esses compostos podem reduzir o risco de mortalidade por doenças cardiovasculares, câncer e doenças metabólicas, incluindo doenças hepáticas (BRANDT et al., 2019; POOLE et al., 2017), potente atividade antioxidante (CANELA et al., 2009), antiviral (LANGLAND et al., 2018), ação antimutagênica, quimiopreventiva, antiaterogênica, hepatoprotetora (CANELA et al., 2009), e promoção da saúde gastrointestinal (IRIONDO-DEHOND et al., 2021). Ademais, o café oferece benefícios

além da bebida tradicional, pois seus subprodutos, como folhas de café, flores, polpa, casca, pergaminho, café verde e casca de prata, tornaram-se uma fonte potencial de ingredientes para novos alimentos com alegações de propriedades funcionais (KLINGEL et al., 2020).

O Brasil é o segundo maior consumidor de café do mundo, vindo após os Estados Unidos (AGNOLETTI et al., 2019), sendo o preferido dos brasileiros, o café coado/filtrado, vendido em 68% dos estabelecimentos comerciais (ABIC, 2010). Porém, para se obter a infusão de café é necessário que esse seja torrado e moído. Desse modo, existem alternativas para complementar a infusão final do café, com intuito de produzir efeitos terapêuticos, benéficos à saúde, sendo uma delas, a utilização de infusões de folhas de café que possuem elevado teor de compostos fenólicos, carotenoides e clorofila (MONTEIRO et al., 2020).

As aplicações das folhas de café foram patenteadas como infusões ou bebidas, agentes terapêuticos, substituto do tabaco, limpador facial, material de embalagem, ração animal, fungicida orgânico, e outros, no entanto, existem poucas pesquisas relacionadas à bioatividade das folhas de café (CHEN, 2019).

Outra alternativa, seria a infusão de folhas de amoreira que são ricas em compostos fenólicos e antioxidantes. A amoreira é uma planta medicinal bastante utilizada na medicina popular. Essa espécie pertence ao gênero *Morus* e à família *Moraceae* (PADILHA et al., 2010a), possui grande valor nutricional e sabor característico a partir de seus frutos, além de conter em sua composição, vários princípios ativos com ação terapêutica, como por exemplo atividade antioxidante, antinociceptiva, hipoglicemiante, anti-inflamatória, e considerável concentração de fitoestrógenos (PETRINE et al., 2022). Os frutos, cascas, raízes e folhas, são largamente utilizados na medicina popular (LIM; CHOI, 2019). As folhas da amoreira são usadas tradicionalmente para fins terapêuticos, como tratamento de diabetes, hipercolesterolemia, menopausa e obesidade (OLIVEIRA et al., 2013).

No entanto, poucos estudos têm evidenciado a bioacessibilidade, após digestão *in vitro*, de compostos da infusão de café, frente a diferentes tipos de torra e de suas folhas, e da infusão de folhas de amoreira. Assim, a hipótese do trabalho é que a infusão de café, com torra média, apresenta melhor perfil de compostos fenólicos e atividade antioxidante, e menor concentração de fatores antinutricionais, enquanto que a infusão de folhas de amoreira apresenta melhor perfil de compostos fenólicos e atividade antioxidante, e menor concentração de fatores antinutricionais em relação as folhas de café.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo verificar o comportamento de consumidores de café, e comparar a bioacessibilidade de compostos fenólicos utilizando um

modelo de digestão *in vitro* em infusões de café, frente a diferentes tipos de torras, e em infusões de folhas de café e de folhas de amoreira. Além disso, visou-se analisar a atividade antioxidante e a concentração de fatores antinutricionais nessas mesmas infusões.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Café

O grão de café é obtido a partir do fruto do cafeeiro, um pequeno arbusto perene, do gênero *Coffea* da família Rubiaceae, utilizado na elaboração de bebidas de café, que ocupam o primeiro lugar entre as três bebidas mais consumidas no mundo, devido ao sabor rico e complexo, além de valores medicinais (SHEN et al., 2023). Seu valor comercial está relacionado principalmente ao seu sabor, que se torna estritamente dependente da composição química dos grãos de café e o tratamento térmico empregado (CAPORASO et al., 2018). Acredita-se que o café tenha se originado de uma região da Etiópia chamada Kaffa há mais de 1000 anos. Aproximadamente 600 anos depois, a primeira cafeteria foi inaugurada em Constantinopla. No início do século 17, o café se espalhou da Península Arábica para a Índia e depois para a Europa, onde foi firmemente estabelecido como uma mercadoria global (UKERS, 1935).

O Brasil é o maior produtor e exportador de café do mundo. Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), as variáveis mais pesquisadas nas lavouras cafeeiras do Brasil são clima, bienalidade da cultura, análises fitotécnicas, condições de crédito rural e perspectivas de mercado, além da produção, produtividade e área plantada (CONAB, 2023). De acordo com o Boletim do 2º levantamento de Café, divulgado no dia 19 de maio de 2023, pela Conab, a produção brasileira na safra 2023 apresentou perspectiva de crescimento de 7,5% em relação ao ciclo passado, com uma colheita estimada em 54,74 milhões de sacas beneficiadas contra 50,92 milhões de sacas em 2022 (CONAB, 2023).

A produção de café no Brasil passou por mudanças ao longo do desenvolvimento histórico e econômico do país, especialmente em relação à localização das áreas de cultivo (VOLSI et al., 2019). As duas principais espécies de café mais consumidas no mundo são *Coffea arabica* (Arábica) e *Coffea canephora* (Robusta). Essas duas espécies, que dominam o comércio de café em todo o mundo, diferem principalmente em suas condições ambientais (BERNADO et al., 2021).

A espécie *Coffea arabica* é originária de florestas tropicais africanas da Etiópia, Quênia e Sudão, e é encontrada em altitudes elevadas de 1600 a 2800 m, com temperatura

média anual entre 18 e 22°C e precipitação anual variando de 1600 a 2000 mm (DAVIS et al., 2006). No entanto, a espécie *Coffea canephora* originou-se da floresta de várzea do rio Congo, estendendo-se à África Central e Ocidental, em altitudes inferiores a 1200 m, com temperaturas médias anuais entre 24 e 26°C e precipitação anual superior a 2.000 mm (DAMATTA; COCHICHO RAMALHO, 2006).

Devido a condições ambientais distintas, métodos de cultivo, processamento e secagem variados, as espécies Arábica e Robusta apresentam diferenças significativas em seus perfis organolépticos. Por exemplo, o Arábica, frequentemente cultivado em encostas de montanha, tende a possuir um sabor mais doce, floral e frutado, o que contribui para seu preço elevado. Já o Robusta, mais resistente e cultivado em altitudes mais baixas, possui um sabor mais robusto e amargo. Essas características únicas tornam cada espécie uma experiência sensorial distinta para os apreciadores de café (ALHARBI; AZMAT; AHMED, 2018).

O café Robusta apresenta perfis sensoriais diferenciados, graças as tecnologias atuais de pós-colheita do café, e ocasionalmente com amargor forte e pronunciado, enquanto o café Arábica é uma bebida mais suave, de sabor mais frutado e acidulante (BERTRAND et al., 2003). A popularidade mundial do café, combinada com a possibilidade de que o consumo do café possa afetar positiva ou negativamente à saúde, motivou diversos estudos epidemiológicos (LOFTFIELD et al., 2016). O café, com seus compostos bioativos, parece desempenhar um papel importante na saúde hepática e na proteção contra condições crônicas (BAEK et al., 2017).

2.2 Constituintes Químicos do Café

Dentre os constituintes químicos do café há presença de compostos fenólicos e seus derivados, como ácidos clorogênicos, trigonelina, álcoois diterpenoides (como cafestol e kahweol), alcaloides como cafeína, carboidratos, lipídeos, compostos voláteis e heterocíclicos (BREZOVÁ; ŠLEBODOVÁ; STAŠKO, 2009).

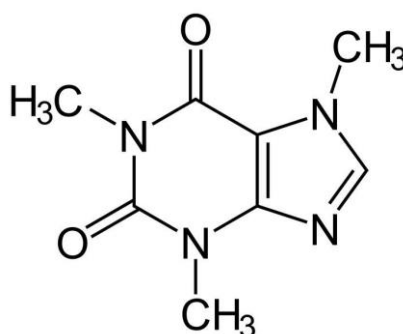
2.2.1 Cafeína

A cafeína (1,3,7 trimetilxantina) é um alcaloide natural extraído do café, infusão e cacau (SCHEPICI et al., 2020). É um psicoestimulante muito utilizado nos países ocidentais (ULLRICH et al., 2015), onde sua molécula psicoativa é a mais estudada na história, possuindo vários sinônimos, como teína, mateína e guaranina, embora quimicamente seja a mesma molécula, sendo a metilxantina parcialmente responsável pelas características amargas

do café (XU et al., 2015). O conteúdo de cafeína no café pode ser afetado por fatores genéticos e ambientais, por exemplo, *C. canephora* possui o dobro de cafeína quando comparado ao *C. arabica* (1,5-2,5g e 0,9-1,3g/100g de matéria seca em sementes verdes, respectivamente) (FARAH, 2012). O principal alcaloide contido nos grãos de café é a cafeína, a qual representa cerca de 1 a 2% (base seca), porém apresenta elevada variação entre as cultivares, além disso é inodora e apresenta sabor amargo bastante característico, contribuindo com o sabor e aroma característico da bebida café (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; MONTEIRO; TRUGO, 2005).

O conteúdo de cafeína em uma porção também é altamente variável, dependendo do tipo de torração (que pode variar entre leve, médio ou escuro), método de fabricação de café e extração (extração regular ou excessiva), com valores que podem variar de 50 a mais de 300mg por 200ml (LUDWIG et al., 2014). Foi relatado que a cafeína induz a hiperatividade do sistema nervoso simpático, acelerando o consumo de energia e a perda de gordura corporal (WESTERTERP-PLANTENGA et al., 2006). A cafeína é conhecida por seus benefícios à saúde, devido aos seus efeitos estrogênicos, neuroprotetores (XU et al., 2006) e quimiopreventivos do câncer (ROSENDAHL et al., 2015).

Figura 1 - Estrutura química da cafeína



Fonte: Malta (2003).

2.2.2 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos compreendem um grupo de substâncias, presentes em plantas, e encontrados em uma variedade de alimentos, como frutas, vegetais, cereais e leguminosas, e em bebidas de origem vegetal, como vinho, infusões e café (CHEYNIER, 2005; MANACH et al., 2004). Esses compostos são metabólitos secundários de plantas, geralmente, envolvidos na defesa contra radiação ultravioleta ou agressão de patógenos (FARAH; DONANGELO, 2006).

Os compostos fenólicos do café contribuem de maneira relevante para o sabor e aroma

da bebida (PIMENTA, 2020). Os taninos condensados são os principais compostos fenólicos presentes na polpa do café, já nas sementes, predominam ácidos hidroxicinâmicos e quínico, conhecidos como ácido clorogênico. Outros compostos fenólicos, como taninos, lignanas e antocianinas, também estão presentes nas sementes de café, embora em quantidades menores (MURTHY; MADHAVA NAIDU, 2012).

O ácido clorogênico é considerado o composto fenólico de maior quantidade no café, sendo que nas sementes de café verde está em torno de 14%. O ácido clorogênico possui influência marcante na determinação da qualidade do café e desempenha papel importante na formação do sabor do café, sendo responsável pela adstringência dos frutos (CLIFFORD; WIGHT, 1976; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; FARAH, A. *et al.*, 2006; MONTEIRO; FARAH, 2012).

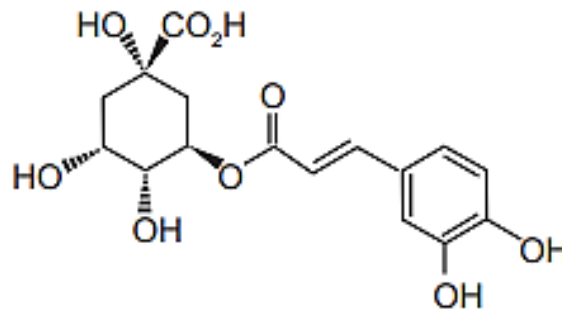
Assim, os ácidos clorogênicos e seus isômeros formados constituem um conjunto de cinco grupos de compostos fenólicos, principalmente pela esterificação do ácido quínico, com um dos seguintes derivados do ácido cinâmico, sendo eles: ácido cafeico, ácido ferúlico ou ácido *p*-cumárico. Estes grupos são: ácidos cafeoilquínicos, ácidos dicafeoilquínicos, ácidos feruloilquínicos, ácidos *p*-cumaroilquínicos e os ácidos cafeoilferuloilquínicos (MONTEIRO; TRUGO, 2005).

2.2.2.1 Ácido Clorogênico

O ácido clorogênico é um composto fenólico da família do ácido hidroxicinâmico., sua estrutura química consiste em uma porção de ácido cafeico e uma porção de ácido quínico, sendo o mais conhecido e estudado o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA) ((NASO et al., 2014; WANG et al., 2016). O ácido clorogênico mais abundante nos grãos de café verde é o 5-CQA, responsável por 76% a 84% do total de ácidos clorogênicos, ou aproximadamente 10 g/100 g de café em grão (PERRONE et al., 2010). Os produtos da degradação térmica dos ácidos clorogênicos, assim como a cafeína, que dificilmente é afetada pelas altas temperaturas durante a torra, são responsáveis pelo sabor amargo característico da bebida (FULLER; RAO, 2017).

O consumo diário de ácido clorogênico na dieta por meio da ingestão de uma xícara de café demonstrou grande potencial terapêutico contra muitas doenças e distúrbios, incluindo inflamação, câncer e distúrbios neurodegenerativos, sendo assim, sugere-se que uma xícara diária de café possa ter um grande poder nutracêutico na busca por uma vida mais saudável (MURAI; MATSUDA, 2023).

Figura 2 - Estrutura química do ácido clorogênico

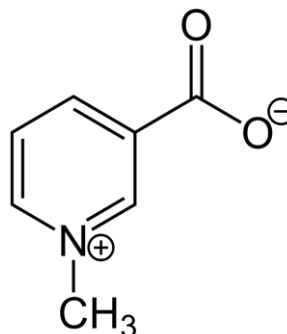


Fonte: Malta (2003).

2.2.2.2 Trigonelina

A trigonelina é um alcaloide cuja síntese é realizada pela metilação enzimática do ácido nicotínico, e sua importância no café está principalmente relacionada à sua degradação durante o processo de torra, dando origem a diversos compostos voláteis, principalmente pirrol e piridinas (CAPORASO et al., 2018). A trigonelina contribui para o sabor e aroma do café, e durante o processo de torra ocorre a formação de dois derivados principais da trigonelina, o N-metilpiridínio (NMP) e o ácido nicotínico, sendo este último uma vitamina do complexo B, solúvel em água, também conhecida como niacina ou vitamina B3. A niacina é altamente biodisponível no café em relação a outras fontes alimentares (STADLER et al., 2002). A trigonelina está presente em quantidades semelhantes ou menores que as da cafeína (DO CARVALHO et al., 2011; PERRONE; DONANGELO; FARAH, 2008; RODRIGUES; SALVA; BRAGAGNOLO, 2015). Em humanos, as concentrações plasmáticas de trigonelina variam dependendo do tipo e da quantidade de café consumido (BRESCIANI et al., 2020). Quanto aos seus efeitos biológicos, a trigonelina e seus derivados têm sido relacionados às atividades antidiabética, neuroprotetora e antiproliferativa (PERRONE; DONANGELO; FARAH, 2008).

Figura 3 - Estrutura química da trigonelina



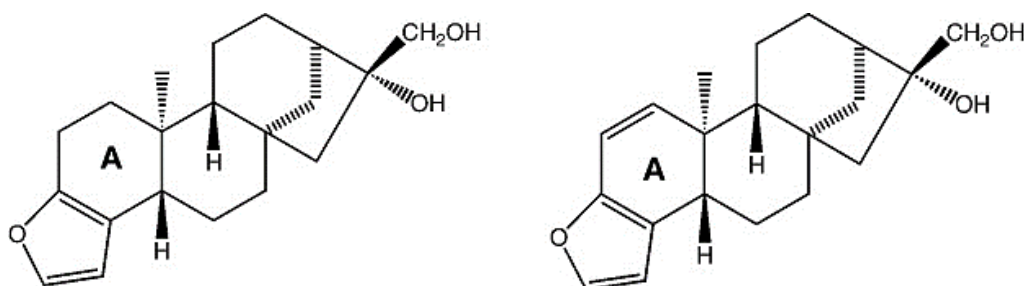
Fonte: Malta (2003).

2.2.2.3 Cafestol e Kahweol

Cafestol e kahweol são diterpenos naturais, extraídos de grãos de café, que se apresentam principalmente como ésteres gordurosos em café não filtrado, como o café turco (VAN CRUCHTEN et al., 2010). A diferença entre os dois compostos é que o kahweol possui uma ligação dupla extra (HALVORSEN et al., 1998). O cafestol e o kahweol estão presentes em cafés robusta e arábica, sendo que, o cafestol apresenta-se, em maior concentração na espécie arábica (NOVAES et al., 2019).

Estes compostos têm sido associados a uma variedade de mediadores inflamatórios reduzindo à inflamação, além disso, esses dois diterpenos do café possuem função de inibir a proliferação de células tumorais e angiogênese (REN et al., 2019).

Figura 4 - Estrutura química do cafestol e kahweol



Fonte: Malta (2003).

2.3 Ação Antioxidante do Café

Devido a presença de grandes quantidades de constituintes bioativos não enzimáticos, como polifenóis, especialmente, ácido clorogênico, ácido cafeico, alcaloides (cafeína e trigonelina) e diterpenos (cafestol e kahweol), o café possui notável capacidade antioxidante (SOCAŁA et al., 2021).

Além disso, o processo de torração dos grãos de café verde promove uma série de alterações na composição química do grão, devido às reações que ocorrem, como a Reação de Maillard, a qual leva à formação de pigmentos característicos que influenciam o sabor e aroma. As melanoidinas também são geradas a partir do escurecimento não enzimático e incorporam ácidos clorogênicos em sua estrutura, exibindo atividade antioxidante (FARAH, 2012; IRIONDO-DEHOND et al., 2021).

A capacidade antioxidante dos componentes hidrofílicos do café, como cafeína, ácido clorogênico e melanoidinas, contra diferentes radicais livres, foram investigadas usando diferentes ensaios químicos (LIANG; KITTS, 2015). O ácido cafeico é sintetizado por muitas espécies de plantas, além da espécie *Coffea* sp., e exerce potentes propriedades antioxidantes,

com eficaz eliminação de radicais livres (HABTEMARIAM, 2017).

Foi demonstrado que o ácido clorogênico possui ação neuroprotetora, pois reduziu a formação de óxido nítrico em neurônios encefálicos expostos ao nitroprussiato de sódio, sugerindo que seu efeito protetor frente à neurotoxicidade induzida por óxido nítrico pode ser devido à sua potente atividade antioxidante (TARAM; WINTER; LINSEMAN, 2016).

Portanto, a capacidade antioxidante do café não é devido apenas aos componentes originalmente presentes no grão verde, mas também pelos compostos gerados durante as condições do processo de torração (LIANG; KITTS, 2015; PRIFTIS et al., 2015).

2.4 Torração do Café

A torração é uma das etapas mais críticas no preparo do café, pois durante a torra, os grãos de café passam por reações pirolíticas que levam à formação de novos compostos químicos responsáveis pelos seus atributos sensoriais, acompanhados por mudanças físicas cruciais. O tipo de torrador e a temperatura de torra são muito importantes para a geração de componentes que promovem aroma e sabor (BOLEK, 2022).

Durante a torração do café, os grãos são expostos a temperaturas elevadas com intuito de obter cor, sabor e aroma desejados para a infusão final do café. Contudo, o controle cuidadoso dessa etapa é primordial, uma vez que está diretamente relacionado com as reações de escurecimento não enzimáticas que produzirá o aroma e sabor final do café (WIJEWICKREME; KITTS, 1998).

O processo de torração tem como objetivo realizar tanto mudanças físicas no grão, como na forma, tamanho, e cor, quanto alterações químicas, nos compostos orgânicos do grão cru (PIMENTA, 2020). A torra é uma das etapas mais importantes quando se deseja obter café de alta qualidade, e além do mais, a quantidade adequada de calor transferida para o grão é essencial para um tratamento térmico eficiente (HERNÁNDEZ et al., 2007).

Segundo Baggenstoss et al. (2007), durante o processo de torração, os grãos de café desenvolvem propriedades sensoriais específicas em termos de sabor, aroma e cor (BAGGENSTOSS et al., 2007), as quais são atribuídas aos compostos voláteis e não voláteis presentes na bebida. Durante a torração, reações químicas importantes acontecem no grão, como reação de caramelização, e reação de Maillard, as quais originam variados produtos relacionados com a transformação do sabor e do aroma da bebida (CARVALHO et al., 2016).

Os compostos fenólicos são parcialmente isomerizados, hidrolisados ou degradados em compostos voláteis de baixa massa molecular. Durante a torra do café, partes destes

constituintes fenólicos são incorporadas às melanoidinas ou polimerizadas, formando misturas complexas (CAPORASO et al., 2018; STENNERT; MAIER, 1994). Bolka e Emire (2020) demonstraram redução significativa no conteúdo de trigonelina e ácidos clorogênicos totais dos grãos de café quando esses foram submetidos à torração escura, evidenciando menores valores comparados aos outros tipos de torra (BOLKA; EMIRE, 2020).

Os ácidos clorogênicos reagem durante a torra, produzindo compostos ácidos, lactonas e outros derivados fenólicos que contribuem para o aroma, sabor, acidez final e adstringência do café (LÓPEZ-GALILEA; DE PEÑA; CID, 2007). A cafeína possui maior resistência térmica quando comparada aos ácidos clorogênico e cafeico, além do mais, quanto maior a temperatura maior taxa de degradação do ácido clorogênico (MEHAYA; MOHAMMAD, 2020).

2.4.1 Grau de Torra

Os graus de torra são avaliados qualitativamente quanto à cor e classificados como torra clara, média ou escura, como mostrado na tabela 1. A qualidade do processo preserva os óleos aromáticos da planta, e a temperatura padrão para a torração dos grãos varia entre 180 a 240°C (BAUER et al., 2018; CARVALHO et al., 2016).

Na torração clara, os atributos, acidez, corpo e doçura ficam moderados, e ocorre diminuição do amargor, sendo utilizada em cafés finos e delicados. Na torração média, o café tem um balanceamento entre suas quatro principais características, como aroma, amargor, corpo, acidez, gerando um sabor rústico e aveludado à bebida. Nessa torra, as cores do grão variam de marrom a marrom avermelhado, seu corpo fica acentuado e ocorre equilíbrio da acidez (PIMENTA, 2020; SCAA, 2004).

Quando se tem um tempo de torração maior, variando de doze a treze minutos, os grãos de café se tornam mais escuros, gerando redução na acidez e corpo da bebida, o aroma fica acentuado, e a doçura é substituída pelo amargor intenso. No entanto, quando os grãos são torrados por um tempo maior variando até quinze minutos, a cor fica muito escura, dando origem a um café muito forte, sendo considerado torra escura (PIMENTA, 2020; SCAA, 2004).

Tabela 1- Graus de torração frente a diferentes parâmetros

	Torra Clara	Torra Média	Torra Escura
Acidez	Moderado	Redução	Redução
Corpo	Moderado	Acentuado	Redução
Doçura	Moderado	Moderado	Redução
Amargor	Diminuição	Moderado	Aumento
Coloração	Ligeiramente Amarronzado a Bege	Marrom a Marrom Avermelhado	Marrom Escuro
Sabor	Suave	Rústico e Aveludado	Amargo
Tempo de Torração	8 a 9 minutos	10 a 11 minutos	12 a 13 minutos
Temperatura de Torração	160 a 170°C	220 a 223°C	220 a 230°C
Agtron	75 a 95	55 a 65	25 a 45

Fonte: Adaptado de MELO (2004); SCA (2020)

2.5 Preparo do Café

Ao elaborar uma bebida de café emprega-se normalmente o café torrado e moído, sendo que a torração e moagem interferem diretamente nas características da infusão, além do mais, utiliza-se o método de extração de escolha, que leva a diferentes níveis de qualidade, de acordo com o gosto e hábito do consumidor (ENDESHAW; BELAY, 2020). A preparação do café envolve uma extração sólido-líquido, onde ocorre absorção de água pelo café torrado e moído, solubilização do café moído em água quente, e separação do extrato aquoso e do pó de café (IRIONDO-DEHOND et al., 2021).

A infusão e a decocção são as duas extrações aquosas mais importantes. No método de infusão, partes mais frágeis da planta, como folhas ou flores, são colocadas em água quente por alguns minutos, permitindo que os sabores e aromas sejam extraídos, resultando em bebidas leves e refrescantes (RABELO et al., 2018). Na decocção, partes mais duras da planta, como cascas ou raízes, são fervidas em água por um período prolongado, em geral, a temperatura de extração e o tempo de contato tendem a ser maiores, extraindo substâncias diferentes, resultando em bebidas mais concentradas e de sabor mais forte (NISETEO et al., 2012).

As bebidas de café podem ser preparadas com diferentes métodos, sendo principalmente utilizados os métodos de: decocção (café fervido, café turco, café coador e café a vácuo), infusões (café filtrado e Napoletana) e pressão (Plugger, expresso) (CORDOBA et al., 2020).

Sendo assim, no processo de filtragem, o pó é acondicionado em um filtro, de papel ou de pano, com adição de água próxima ao ponto de ebulição. No método de percolação coloca-se o pó de café, no centro de um equipamento de nome moka que, posicionado na chama do

fogão, faz a água, que está na parte inferior, entrar em ebulição, entrando em contato com o pó de café que irá pressionar o café líquido para um recipiente, esta é a forma mais utilizada de consumo de café na Europa. No processo de prensagem, em um recipiente de vidro, coloca-se o pó de café misturado com água próxima ao ponto de ebulição, e em seguida introduz-se um filtro, que é pressionado por um êmbolo, separando o pó de café. Já o café expresso, tem-se os grãos de café moído na hora e acondicionado em um filtro, que sofre uma pressão de água à 90°C, durante 30 segundos em média, gerando uma bebida cremosa e aromática (ABIC, 2010).

O método de filtragem é o mais utilizado no Brasil, Alemanha e Japão, que consiste na infusão manual por gravidade do café moído, à temperatura de 80°C a 90°C, seguido da filtração em filtros de pano ou papel (SILVA; MORELI; JOAQUIN, 2015). Na bebida de café, além da quantidade de pó, influenciam também o tipo de produto (torrado ou instantâneo, descafeinado ou regular, em pó ou solúvel) e o processo utilizado no seu preparo, podendo ser coado, fervido, expresso, entre outros (SREBERNICH et al., 2009).

2.6 Folhas de Café

A infusão de folhas de café é uma bebida tradicional em alguns países produtores de café, como Brasil, México, Guatemala, Colômbia, Honduras, Vietnã, Indonésia, Índia, Etiópia e Uganda, e essa bebida foi autorizada em 2020 pela União Europeia de acordo com o seu regulamento sobre novos alimentos. É preparado como infusão de folhas secas de *Coffea* spp. em água quente (TRITSCH et al., 2022).

As folhas de café possuem disposição oposta, no mesmo plano nos ramos. A lâmina foliar é ondulada e delgada, com forma entre elíptica e lanceolada. Possuem camadas de células externas epidérmicas que são revestidas por ceras cuticulares (cutina, cera, polissacarídeos) que ajudam a reduzir as perdas de água e proteger o tecido foliar (ALVES; LIVRAMENTO, 2003).

As folhas da planta do café são ricas em compostos fenólicos como ácidos cafeico, clorogênico, p-cumárico, ferúlico e sinápico, bem como rutina, quercetina, kaempferol e isoquercitrina, compostos estes identificados na folha do café Árabe (*C. arabica*) e de Bengala (*Coffea benghalensis* B. Heyne ex Schult.) (PATAY et al., 2016). Além disso, elevadas quantidades de ésteres de ácido feruloilquínico (FQA) foram descritas pela primeira vez nos frutos, grãos verdes e folhas do café (*C. pseudozanguebariae* Bridson) (BERTRAND et al., 2003), e ainda uma C-glucosilxantona, mangiferina, foi isolada das folhas

(TALAMOND et al., 2008).

O composto bioativo mais abundante nas folhas de café é a cafeína, com concentração de aproximadamente 24,5 g/kg de folhas secas (MAZZAFERA, 1999). Devido ao seu alto teor de cafeína, as folhas velhas do café podem prejudicar o solo e os microrganismos benéficos que vivem no solo e nas raízes do café, portanto, a coleta de folhas de café para outros fins não só promove a utilização deste recurso, mas também reduz os impactos ambientais dos resíduos de folhas de café (LEE et al., 2023).

No estudo de Acidri e colaboradores (2020) que investigaram a composição fitoquímica dos órgãos do cafeeiro e sua capacidade antioxidante comparada aos grãos de café verde e torrado, foi demonstrado que dentre os órgãos, as folhas de café, possuíam valores superiores aos grãos torrados em relação ao conteúdo de fitoquímicos, fenólicos totais e capacidade antioxidante total. Além do mais, as folhas de café contém carotenoides e pigmentos como clorofilas com ações benéficas à saúde humana (ACIDRI et al., 2020). Essa descoberta ressalta o potencial das folhas de café como uma fonte valiosa de compostos bioativos e antioxidantes, além de contribuir para sustentabilidade ao aproveitar todo o potencial da planta do café.

Estudos evidenciaram, os benefícios à saúde promovidos pela infusão de folhas de café, provindo dos frutos de *Coffea arabica* e *Coffea canefora*, devido ao elevado teor de fenólicos, como mangiferina e ésteres de ácido hidroxicinâmico, apoiados pelo estudo de Campa e colaboradores (2012), embora a influência desses compostos necessitem de mais estudos (CAMPA et al., 2012). A aplicação etnofarmacológica das folhas de café deve-se principalmente a presença de vários fitoquímicos bioativos como flavonoides, terpenos, taninos, xantonoides, ácidos fenólicos, flavonoides, fitoesterol, aminoácidos e carotenoides, que contribuem para as atividades antioxidante, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, antibacteriana e antifúngica (CAMPA; PETITVALLET, 2018; JYOTSHNA; KHARE; SHANKER, 2016). No entanto, é importante ressaltar que a influência específica desses compostos ainda requer mais estudos detalhados.

2.7 Folhas de Amoreira

Outra planta medicinal bastante utilizada na medicina popular é a *Morus nigra* que produz o fruto amora. Essa espécie pertence ao gênero *Morus* e à família *Moraceae*. É conhecida popularmente como amoreira-preta, com origem no continente Asiático, e é perfeitamente cultivável no clima brasileiro (PADILHA et al., 2010a).

O gênero *Morus* é conhecido por conter vários de compostos fenólicos, incluindo flavonoides isoprenilados, cumarinas, cromonas, xantonas e fitoalexinas (BUDIMAN; SULASTRI; QORIAH, 2018). Esta planta possui grande valor nutricional e sabor característico de seus frutos, além conter em sua composição, vários princípios ativos com ação terapêutica, como por exemplo atividade antioxidante, antinociceptiva, hipoglicemiante, anti-inflamatória, entre outras. Os frutos, cascas, raízes e folhas, são largamente utilizados na medicina popular (HUSSAIN et al., 2017).

As folhas de amoreira são amplamente utilizadas na etnomedicina e como alimentos funcionais, sendo usadas como infusões, bebidas, macarrão, etc., além do mais, essa utilização pode variar em diferentes contextos culturais e geográficos (CHAN; LYE; WONG, 2016; HAO et al., 2018). As folhas de amoreira são eficazes em atenuar a hipertensão, na prevenção de infecções, inflamações faríngeas, melhora dos sintomas da menopausa (POLUMACKANYCZ; WESOLOWSKI; VIAPIANA, 2021).

Ácidos cafeico, clorogênico e gálico, e flavonoides como quercetina e rutina, foram encontrados em extratos de folhas de *Morus nigra* (DE FREITAS et al., 2016). Nas últimas décadas, o consumo de infusões de folhas de amoreira aumentou devido aos seus efeitos hipoglicemiantes, antidepressivos, antioxidantes e hepatoprotetores (CUI et al., 2019).

Naderi e colaboradores demonstraram que o extrato dos frutos de *Morus nigra* possui ação protetora contra o dano peroxidativo de biomembranas e biomoléculas (NADERI et al., 2004). Dois novos flavonoides prenilados foram isolados das cascas do caule dessa espécie, sendo eles, momigrol E e momigrol F (WANG; GONG; CHEN, 2009), bem como ácido betulínico, â-sitosterol e germanicol (PADILHA et al., 2010b).

Estudos de cromatografia gasosa demonstraram que o extrato metanólico de folhas de *Morus nigra* apresentou características semelhantes à isoflavona, e que estas moléculas possuíam características semelhantes ao 17 β -estradiol (BOLZAN, 2008). Outros estudos sugerem uma possível existência de componente semelhante ao estradiol, podendo conter estrona nas folhas da amoreira ou outro componente que estimularia à produção endógena desse hormônio (VANONI, 2006). Essas pesquisas preliminares oferecem uma base interessante para investigações futuras sobre o potencial terapêutico das folhas de *Morus nigra* em relação à saúde hormonal.

Essas substâncias podem ser qualificadas e quantificadas por meio da técnica de Cromatografia líquida de alta eficiência.

2.9 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas (HPLC-DAD-ESI/MS)

A cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HPLC-DAD-ESI/MS) é uma técnica de separação que possibilita a distinção de misturas complexas com alto grau de resolução e o acompanhamento dos espectros de UV das substâncias, tanto para fins qualitativos e quantitativos (TONHI et al., 2002). A técnica de HPLC foi utilizada para análise de cafeína, no início da década de 70, no qual Murgia e colaboradores (1973) utilizaram cromatografia de troca iônica para fazer a separação de cafeína de outros compostos orgânicos contidos no café (DE MARIA; MOREIRA, 2007; MURGIA; RICHARDS; WALTON, 1973). Com a introdução de coluna de fase reversa, houve um avanço na análise de compostos de baixa massa molar por HPLC (DE MARIA; MOREIRA, 2007).

A técnica de HPLC é uma ferramenta muito importante para identificar polifenóis de diferentes fontes biológicas e estruturas de compostos fenólicos, sendo muito utilizada para determinar compostos como cafeína, ácidos clorogênicos, entre outros (DE MARIA; MOREIRA, 2007). O interesse em determinar valores de componentes do café incide na variação de diferentes métodos de torração, moagem, compostos presentes, a espécie de café estudada e técnica de preparo da bebida, por exemplo, café expresso, filtrado, mocha, cápsula, dentre outros (MOEENFARD; ROCHA; ALVES, 2014). Além da importância da identificação de diferentes compostos presentes em determinadas soluções, a análise de sua biodisponibilidade também se faz de fundamental interesse para a caracterização de diferentes soluções.

2.10 Bioacessibilidade

A bioacessibilidade é a proporção de um componente alimentar específico, liberado da sua matriz alimentar, no trato-gastrointestinal (TGI), que se torna disponível para absorção, sendo influenciado pela composição dos produtos digeridos na matriz alimentar, sinergismo e antagonismo dos diferentes componentes, propriedades físico-químicas como pH, temperatura e textura da matriz alimentar (COZZOLINO, 2021; WOJTUNIK-KULESZA et al., 2020).

Os métodos de digestão simulada muitas vezes incluem as fases oral, gástrica, intestinal (intestino delgado) e, ocasionalmente, a fermentação no intestino grosso, com intuito de mimetizar as condições fisiológicas *in vivo*, levando em consideração a presença de enzimas digestivas e suas concentrações, pH, tempo de digestão, entre outros fatores

(MINEKUS et al., 2014).

Em condições *in vivo*, os polifenóis da dieta são metabolizados, a partir da ação da microbiota, e absorvidos pela mucosa intestinal, após digestão gastrointestinal (CAMPOS-VEGA et al., 2015). A natureza dos fitoquímicos extraíveis, sua estabilidade e atividade antioxidante também dependem de muitos fatores, como a matriz alimentar, pH, temperatura, presença de inibidores ou potencializadores de absorção, presença de enzimas, hospedeiro e outros fatores relacionados (TAGLIAZUCCHI et al., 2010). No entanto, a capacidade do processo digestivo em liberar fenólicos da matriz alimentar, ou seja, a sua bioacessibilidade, pode ser a primeira etapa para determinar a absorção desses compostos.

O uso de modelos de digestão *in vitro* podem auxiliar em informações úteis sobre a bioacessibilidade de compostos fenólicos em cafés (*Coffea arabica* L.), a fim de explorar seu potencial como ingrediente funcional (CAMPOS-VEGA et al., 2015). Além do mais, alguns antioxidantes podem ser quantificados diretamente após a digestão utilizando técnicas analíticas, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ou espectrometria de massas. Isso permite determinar a quantidade desses antioxidantes que se tornam disponíveis após a digestão (RYAN; PRESCOTT, 2010).

2.11 Teor de Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos ou polifenóis, são definidos quimicamente como substâncias que apresentam um anel aromático unido a um ou mais grupos hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais que os confere o poder antioxidante. Pode encontrar no reino vegetal cerca de cinco mil fenóis, sendo os mais prevalentes os flavonoides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácido benzoico, cinâmico e seus derivados), cumarinas, fenóis simples, taninos, ligninas e tocoferóis (GÓMEZ-MAQUEO; ESCOBEDO-AVELLANEDA; WELTI-CHANES, 2020). A partir do metabolismo secundário das plantas, tem-se a formação dos compostos fenólicos, sendo essenciais para crescimento e reprodução das mesmas (GÓMEZ-MAQUEO et al., 2018).

Os compostos fenólicos, presente nas plantas, tem sido alvo de muitos estudos, por apresentarem elevada capacidade antioxidante, atividades farmacológicas e também por inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos (HOLLMAN; KATAN, 1999; SEKIYAMA et al., 2005). Em alimentos, os fenólicos podem contribuir para o amargor, adstringência, cor, *flavor*, odor e estabilidade oxidativa (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

A extração e a purificação de antioxidantes a partir de fontes naturais têm se tornado essencial para a utilização dessas substâncias na preparação de alimentos funcionais, e como aditivos para produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentícios, com o objetivo de substituir os antioxidantes sintéticos, uma vez que, aumentam a vida útil de muitos produtos em 15 a 200%. Tal efeito decorre de suas propriedades, que retardam reações de oxidação em alimentos, e há perspectivas de que antioxidantes provindos de alimentos possam ser usados futuramente no tratamento de doenças cuja gênese envolva processos oxidativos (XU et al., 2017).

2.12 Atividade Antioxidante

O termo oxidação de uma substância refere-se à conversão de uma substância química em um derivado com menor número de elétrons. Oxidação, portanto, é a perda de um ou mais elétrons para outra substância e o procedimento inverso pode ser considerado como redução (DAVIES, 1995). A transferência de elétrons é um dos processos químicos mais fundamentais para a sobrevivência das células. O efeito colateral dessa dependência é a produção de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem levar ao dano oxidativo (FANG; YANG; WU, 2002).

Radicais livres são átomos ou moléculas produzidos continuamente durante os processos metabólicos e atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, desempenhando funções relevantes ao metabolismo (DI MEO; VENDITTI, 2020). Assim, para combater os radicais livres, existem os antioxidantes, que são capazes de estabilizá-los. O organismo dispõe de antioxidantes endógenos que produzem substâncias capazes de regenerar ou prevenir danos oxidativos. Além destes, substâncias com habilidade de sequestrar radicais livres podem ser obtidas de fontes externas, como alimentos e bebidas (XU et al., 2017).

Pesquisas sobre radicais livres e o desenvolvimento de metodologias inovadoras para a avaliação da atividade antioxidante têm experimentado um aumento significativo (XU et al., 2017). As metodologias iniciais foram projetadas para avaliar a eficácia dos antioxidantes na prevenção da formação de produtos de oxidação, baseando-se assim na medição da oxidação lipídica (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). Até o momento, uma multiplicidade de ensaios químicos, integrados com tecnologias de detecção automatizadas e altamente sensíveis, têm sido empregados para avaliar a atividade antioxidante. Estes incluem a avaliação da atividade de eliminação contra vários tipos de radicais livres ou Espécies

Reativas de Oxigênio (ROS), poder de redução, capacidade de quelar metais, entre outros (SHAHIDI; ZHONG, 2015).

Diversos testes estão disponíveis para medição direta da transferência de átomos de hidrogênio ou de elétrons dos antioxidantes para os radicais livres. Dos testes baseados na transferência de um átomo de hidrogênio, são descritos: teste da capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC), teste da capacidade antioxidante do radical hidroxila (HORAC), teste de parâmetro antioxidante de captura do radical peroxila total (TRAP), e teste da capacidade total de eliminação de oxirradical (TOSC).

No entanto, os testes baseados na transferência de um elétron incluem: teste do poder antioxidante redutor cúprico (CUPRAC), teste do poder antioxidante redutor férrico (FRAP) e o teste de Folin-Ciocalteu. Os testes mistos baseados na transferência de um átomo de hidrogênio e de um elétron, incluem o teste do ácido 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolina6-sulfônico) (ABTS) e o teste 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) (MUNTEANU; APETREI, 2021).

Os antioxidantes naturais incluem compostos como vitaminas, carotenoides e compostos fenólicos. Os tipos mais abundantes de antioxidantes contidos em frutas e vegetais incluem vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos, enquanto tocoferóis e tocotrienóis estão presentes em concentrações relativamente baixas em frutas e vegetais em comparação com nozes e grãos (BAIANO; DEL NOBILE, 2016; KALT, 2005). As plantas medicinais são outra fonte significativa de uma variedade de antioxidantes naturais (LI et al., 2013).

2.12.1 Atividade Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH

Um dos métodos mais utilizados para verificar atividade antioxidante consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila - DPPH, de coloração púrpura que absorve luz à 515nm (ROGINSKY; LISSI, 2005). O método baseia-se na transferência de elétrons, por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar ($R\bullet$), o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo ser monitorada pelo decréscimo da absorbância (abs).

A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; SÁNCHEZ-MORENO; LARRAURI; SAURA-CALIXTO, 1998).

2.12.2 Autoxidação do Sistema Beta-caroteno/Ácido Linoleico

O sistema beta-caroteno/ácido linoleico foi desenvolvido por Marco (1968), modificado por Miller (1971), o qual consiste na utilização do ácido linoleico, o monopalmitato de polioxietileno sorbitan (Tween 40) e o beta-caroteno. O ácido linoleico em presença de oxigênio forma o radical peroxil ($\text{LOO}\cdot$), este radical reage com o beta-caroteno, resultando na perda da coloração da solução, com isso, a cor varia de amarelo intenso para amarelo claro. A adição de uma amostra que contenha antioxidantes pode reagir competitivamente com o radical peroxil, contribuindo para retardar a queda de absorbância do beta-caroteno. Portanto, os antioxidantes presentes nas amostras podem ser facilmente monitorados pelo branqueamento da cor da solução (JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007).

Este método é amplamente empregado, principalmente por não necessitar de altas temperaturas, o que permite a determinação do poder antioxidante de compostos termosensíveis e a avaliação qualitativa de extratos vegetais. No entanto, este ensaio apresenta algumas desvantagens, como dificuldade de interpretação dos dados devido à interação do beta-caroteno com oxigênio e a reprodutibilidade dos valores de absorbância (AMIN; NORAZAIDAH; HAINIDA, 2006). Este método tem sido frequentemente utilizado com intuito de investigar a atividade antioxidante de extratos vegetais em modelos de atividade antioxidante, com o objetivo de avaliar o grau de inibição da oxidação (ALVES et al., 2010).

2.13 Fatores Antinutricionais

Espécies vegetais possuem diferentes composições químicas, que produzem uma variedade de compostos orgânicos classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são encontrados em todas as espécies de plantas, embora em concentrações variadas, e desempenham papéis cruciais nas suas funções vitais. Por outro lado, os metabólitos secundários estão presentes apenas em certas espécies, normalmente em concentrações mais baixas, e desempenham funções secundárias, como proteção, pigmentação e regulação do crescimento (FILHO et al., 2023).

Os metabólitos secundários podem reduzir o valor nutricional das espécies vegetais, pois muitas vezes derivam de nutrientes essenciais às plantas, levando à redução da disponibilidade, ingestão e/ou absorção de nutrientes (SOUZA et al., 2019). Alguns exemplos de compostos orgânicos antinutricionais incluem taninos, ácido oxálico, saponinas, inibidores de protease, ácido fítico (HIGASHIJIMA et al., 2019). Além disso, os metabolitos

secundários exercem efeitos farmacológicos e toxicológicos dependentes da dose, que podem ser benéficos (em doses eficazes), prejudiciais (em doses tóxicas) ou mesmo letais para os seres humanos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

2.13.1 Ácido Oxálico

O ácido oxálico é sintetizado naturalmente por bactérias, fungos e espécies de plantas (PALMIERI et al., 2019). As espécies vegetais convertem o ácido oxálico em oxalato de cálcio (CaOx) através de um processo denominado biomineralização (HE et al., 2014). Esta conversão ocorre pela incorporação de cálcio do substrato vegetal contendo ácido oxálico, e pode acontecer através de oxidação de glicolato e glioxilato pela glicolato oxidase, fotorrespiração tecidual e oxidação de oxaloacetato e isocitrato pela isocitratoliase (DEWHIRST et al., 2017).

Esta conversão ocorre em numerosas espécies de plantas, com a capacidade de formar quelatos com cálcio oriundo da dieta alimentar, formando assim um complexo não disponível para a absorção e assimilação. Esse complexo é precipitado como sal insolúvel, podendo ser acumulado nos glomérulos renais, contribuindo para o desenvolvimento de cálculos renais (JUDPRASONG et al., 2006).

Na pesquisa conduzida por Naik e colaboradores (2014), foram explorados diversos métodos comparativos para a quantificação do ácido oxálico. Contudo, os métodos que se destacaram pela eficácia foram a espectrofotometria e a oxidação do ácido oxálico pelo permanganato de potássio (KMnO₄), pois estes métodos apresentaram resultados superiores (NAIK et al., 2014), com base nesses achados, por serem métodos amplamente utilizados, optou-se por este método para a realização das análises.

2.13.2 Taninos

Os taninos são uma classe de compostos polifenólicos de alto peso molecular (500-3000 Daltons) onipresentes em alimentos vegetais comumente consumidos, sendo responsáveis pelo sabor adstringente de muitas frutas e bebidas (DE JESUS et al., 2012). Eles podem ser classificados em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (também conhecidos como catequinas, flavanois ou proantocianidinas). Taninos hidrolisáveis, incluindo galotaninos e elagitaninos, são encontrados seletivamente na dieta. Os taninos condensados, ou proantocianidinas, por outro lado, são os polifenóis, derivados de plantas, mais abundantes na dieta e incluem catequina, epicatequina (EC), epigallocatequina (EGC),

epicatequina-3-galato e (-)-epigallocatequina-3-galato (EGCG) (KIM; PAI; HAN, 2011).

Os taninos, principalmente proantocianidinas ou catequinas, são um dos metabólitos secundários das plantas mais abundantes, encontrados em grãos de cacau, chás, vinhos, frutas, sucos, nozes, sementes, legumes e grãos de cereais (SMERIGLIO et al., 2017).

Os taninos possuem efeitos antioxidantes, embora tenha sido relatado sua capacidade de atuar como quelantes, o qual inibe a absorção de minerais dietéticos, como ferro, cobre e zinco (KARAMAĆ, 2009). Seus efeitos “antinutricionais” podem contribuir para a anemia por deficiência de ferro, principalmente em países em desenvolvimento e de baixa renda que dependem de alimentos ricos em taninos (PETRY et al., 2010).

A partir dos dados apresentados acima, com intuito de se obter uma infusão de café é necessário que este seja torrado e moído, além disso, existem alternativas para complementá-la, como fonte de compostos farmacologicamente ativos, com objetivo de produzir efeitos benéficos à saúde, sendo uma delas, a utilização de infusões de folhas de café que possuem elevado teor de compostos fenólicos. Outra alternativa, seria a infusão de folhas de amoreira que são ricas em compostos fenólicos, antioxidantes e considerável concentração de fitoestrógenos. No entanto, poucos estudos tem evidenciado a bioacessibilidade, após digestão *in vitro*, de compostos da infusão de café, frente a diferentes tipos de torra, e de infusões de folhas de café ou de infusões de folhas de amoreira.

Assim, a hipótese do trabalho é de que a infusão de café, com torra média, apresenta melhor perfil de compostos fenólicos e atividade antioxidante, e menor concentração de fatores antinutricionais, enquanto a infusão de folhas de amoreira apresenta melhor perfil de compostos fenólicos e atividade antioxidante, e menor concentração de fatores antinutricionais em relação as folhas de café.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Verificar o comportamento de consumidores de café, e comparar a bioacessibilidade de compostos fenólicos utilizando um modelo de digestão *in vitro* em infusões de café, frente a diferentes tipos de torras, e em infusões de folhas de café e de folhas de amoreira. Além disso, visou-se analisar a atividade antioxidante e a concentração de fatores antinutricionais nessas mesmas infusões.

3.2 Objetivos Específicos

- Identificar os métodos de preparo e consumo de café mais comuns entre os consumidores por meio da aplicação de um questionário on-line.
- Analisar o perfil de compostos fenólicos em infusões de café com torra clara, média e escura, antes e após a digestão *in vitro* pelo método de HPLC-DAD-ESI/MS.
- Estudar o perfil de compostos fenólicos em infusões de folhas de café e de amoreira, antes e após a digestão *in vitro* pelo método de HPLC-DAD-ESI/MS.
- Avaliar a bioacessibilidade de compostos fenólicos em infusões de café com diferentes tipos de torras, e em infusões de folhas de café e de amoreira, após a digestão *in vitro*.
- Quantificar o conteúdo total de fenólicos nas infusões usando o teste de Folin-Ciocalteu.
- Examinar a capacidade das infusões de sequestrar radicais livres através do ensaio de DPPH e Beta-caroteno/ácido linoleico.
- Determinar o conteúdo de ácido oxálico e taninos nas infusões de café com diferentes tipos de torras, e nas infusões de folhas de café e de amoreira.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Apreciação Ética

Este projeto foi aprovado (08/11/2021) pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Pró-reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Lavras (UFLA), CAAE: 52354021.0.0000.5148 (Anexo 1).

4.2 Questionário Sobre o Consumo e Preparo do Café

O questionário on-line foi confeccionado por meio da plataforma Google Forms (Alphabet, Mountain View, CA, EUA) e aplicado no intervalo dos meses de Fevereiro a Dezembro de 2023, com intuito de coletar informações sobre o consumo e preparo do café dos participantes, para auxiliar na introdução de uma bebida à base de café, com alegação de propriedade funcional (Anexo 2).

4.2.1 Desenvolvimento do Questionário

O questionário contemplou questões como: Idade; Sexo (“Feminino”, “Masculino” ou “Prefiro não informar”); Faixa etária (“18 a 28 anos”, “29 a 39 anos”, “40 a 50 anos”, “51 a 61 anos”, “62 a 72 anos”, “73 anos ou mais”); Regionalização (“Cidade/Estado”); Consumo de café em cafeterias, lanchonetes, padarias etc. (“Sim”, “Não” ou “Outros”); Preparo do próprio café (“Sim” ou “Não”); Filtro Utilizado (“Papel”, “Lavável e reutilizável (polipropileno)”, “Pano”, “Aço Inox”, “Organza” ou “Outros”); Cor do pó de café (relacionado ao tipo de torra) (“Pó de café com torra clara”, “Pó de café com torra média” ou “Pó de café com torra escura”); Quantidade de pó de café/xícara de água (“1 medida (1 colher de sopa rasa)/xícara de água”, “1 medida (1 colher de sopa cheia)/xícara de água”, “2 medidas (2 colheres de sopa rasa)/xícara de água”, “2 medidas (2 colheres de sopa cheia)/xícara de água”, “3 medidas (3 colheres de sopa rasa) ou mais/xícara de água”, “3 medidas (3 colheres de sopa cheia) ou mais/xícara de água” ou “Outro”); Temperatura da Água (“Ebulição (formação de bolhas na superfície)” ou “Sem ebulição (sem formação de bolhas)”); Adição de (“Açúcar”, “Adoçante”, “Sem adição” ou “Outro”); Ingestão do café (“Puro”, “Leite”, “Chá” e “Outros”); Quantidade consumida de xícara(s) de café por dia; Frequência de consumo de café (“Todos os dias”, “1 vez/semana”, “2 a 3 vezes/semana”, “4 a 6 vezes/semana”) (Anexo 2).

4.2.2 Participantes do Questionário

Na pesquisa foram incluídos homens e mulheres maiores de 18 anos, que consomem regularmente e preparam o próprio café, e excluídos aqueles que não responderam o questionário em sua totalidade.

Foram utilizadas técnicas de amostragem de bola de neve, com foco no recrutamento geral dos participantes (WANG *et al.*, 2020). O convite para participação na referida pesquisa foi realizado por redes sociais como WhatsApp[®], Facebook[®] e Instagram[®], e também via e-mail. Todos os participantes tiveram acesso ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 3), informado on-line, via PDF. Os indivíduos que discordaram em participar, não tiveram acesso às perguntas da pesquisa.

4.3 Obtenção e Preparo das Amostras

4.3.1 Amostras de Grãos de Café

Foram utilizados grãos de café da espécie *Coffea arabica*, cultivar MGS Paraíso 2, lançada pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). Essa cultivar é resultante da hibridação artificial de um cafeeiro da cultivar Catuaí Amarelo IAC 30 com acesso de Híbrido de Timor UFV 445 – 46. O cruzamento foi realizado na Universidade Federal de Viçosa (UFV) em 1980 com processo final de seleção nos municípios de Monte Carmelo e Patrocínio, estado de Minas Gerais. Apresenta porte baixo, com frutos maduros de coloração amarela, sementes graúdas, maturação intermediária, elevada qualidade produtiva e espaçamento de 0,5 m a 1,0 m entre plantas. Além disso, apresenta resistência à ferrugem do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* (BOTELHO *et al.*, 2016).

4.3.1.1 Processamento dos Grãos de Café

A colheita dos grãos de café foi realizada em lavoura localizada na Fazenda São João Batista, município de Lavras, estado de Minas Gerais, no mês de Agosto de 2022. Os frutos selecionados apresentavam no momento da colheita maturação ideal para o processo fermentativo, com média de 25° BRIX (teor de sólidos solúveis). No total, foi utilizado volume de 450 L de café em maturação ótima.

Posteriormente à colheita, os frutos foram levados ao lavador para retirada dos que apresentaram menor densidade, visto que no processamento são utilizados apenas os de densidades superiores. A etapa seguinte consistiu no repasse e seleção de frutos, ocorrendo retirada de frutos verdes remanescentes e selecionando apenas aqueles com maturação ideal.

O processo de secagem foi realizado em peneiras, seguindo a técnica da dobra de camadas: os frutos do cafeeiro são espalhados “fruto a fruto” nos 3 primeiros dias, e posteriormente, foram realizadas as dobras sucessivas de camadas até o ponto de conduzi-los em camadas de 25% da área de cada peneira. Os revolvimentos ocorreram a partir da segunda dobra, momento no qual os frutos ocupavam 50% da área das peneiras. Quando os cafés atingiram a meia seca, foram cobertos com pano e lona às 15 h e retirados às 9 h do dia seguinte.

Quando os grãos de café atingiram 16% de umidade, durante a secagem, foi realizado o primeiro período de descanso. Os frutos de café foram retirados das peneiras de secagem, embalados em sacos de papel kraft e colocados em sacos plásticos. O descanso ocorreu por um período de 27 dias, com os frutos armazenados em um ambiente fechado. Já os grãos que continham 11% de umidade, foi necessário o segundo descanso por um período de 30 dias.

4.3.1.2 Torração e Moagem dos Grãos de Café

Para a etapa de torração dos grãos de café, as amostras foram preparadas de acordo com as diretrizes fornecidas pela Associação de Cafés Especiais onde 100 g de grãos de café de cada amostra foram torrados em uma torrefadora de laboratório (LINGLE, 2011). A torra foi encerrada quando as amostras de café atingiram o nível de torra desejado, determinado visualmente usando um sistema de classificação de cores empregando discos padronizados.

O sistema de classificação de cores SCA/Agtron Roast Color Classification System atribui valores numéricos a diferentes tonalidades de torra do café, com base na medição da cor dos grãos de café moído (SCA, 2020). Para os grãos moídos, a cor de referência número 65 é considerada uma torra média clara, enquanto a cor de referência número 55 é considerada uma torra média e a cor de referência número 45 é considerada uma torra média escura.

A temperatura e o tempo de torra foram monitorados por termômetro e cronômetro, respectivamente, com tempo de torra variando para torra clara (182°C por 10 minutos e 12 segundos) (Figura 5a), torra média (197°C por 11 minutos e 20 segundos) (Figura 5b) e torra escura (206°C por 12 minutos e 17 segundos) (Figura 5c). As amostras foram pesadas até obtenção de uma relação pré-determinada de $8,25 \pm 0,25$ g por 150ml de água.

Após os grãos de café serem torrados, eles foram moídos em moinho elétrico, BUNN Coffee Mill, Estados Unidos, até atingir a configuração 5 ("percolador"), produzindo um tamanho de partícula de $1200 \pm 44\mu\text{m}$ (FROST; RISTENPART; GUINARD, 2019).

Posteriormente, foram peneirados com peneira de granulometria fina (20 mesh), empacotados em embalagens de polietileno, selados e armazenados em freezer, até a realização das análises (ABRAHÃO et al., 2008).

Figura 5 - Grãos de café com diferentes torras



Legenda: a) grãos de café com torra clara, b) grãos de café com torra média, c) grãos de café com torra escura. Fonte: Da autora (2024).

4.3.2 Amostras de Folhas de Café

4.3.2.1 Colheita das Folhas de Café

As folhas de café foram coletadas em plantas da cultivar MGS Paraíso 2, em lavoura localizada na Fazenda São João Batista, município de Lavras, estado de Minas Gerais, no mês de Agosto de 2022. Seguindo o protocolo de Trani e colaboradores (1983) para a coleta das folhas, foi coletado o terceiro par de folhas a partir do ápice do ramo frutífero, localizado na altura média da planta, no período da manhã, antes da floração, com pecíolos e caules livres de pragas (DIAS et al., 2011; TRANI; HIROCE; BATAGLIA, 1983).

4.3.3 Amostras de Folhas de Amoreira

4.3.3.1 Colheita das Folhas de Amoreira

As folhas de amoreira preta, espécie *Morus nigra* L., jovens, totalmente expandidas, com pecíolo e caules, livres de pragas e doenças, ao qual foi coletado o terceiro par de folhas a partir do ápice do ramo frutífero, localizado na altura média da planta de uma mesma árvore (TRANI; HIROCE; BATAGLIA, 1983), foram coletadas no período da manhã, em área residencial, no município de Lavras, estado de Minas Gerais, no mês de Agosto de 2022.

As amostras de folhas, tanto de café quanto de amoreira, foram coletadas e armazenadas em recipientes plásticos opacos para minimizar a exposição à luz. Posteriormente, foram transportadas para o laboratório para análise subsequente. Importante ressaltar que as folhas não foram submetidas a nenhum processo de lavagem, no entanto, foi realizada uma triagem cuidadosa para remover quaisquer impurezas presentes. Este

procedimento assegura a integridade das amostras para a análise subsequente.

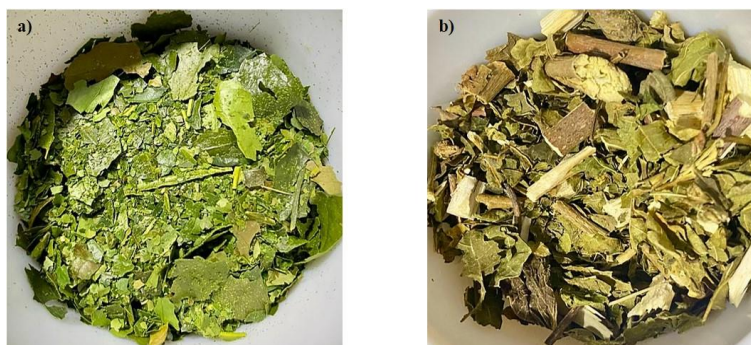
4.3.4 Secagem das Folhas de Café e das Folhas de Amoreira

As folhas de café e de amoreira passaram por um processo de triagem para eliminação de impurezas e não foram lavadas. Em seguida foram submetidas ao método de secagem, e pesadas até atingir massa constante.

O procedimento adotado para a secagem das folhas envolveu o uso de um forno micro-ondas (FMO), conforme estabelecido pelo protocolo de Lacerda et al. (2009). As folhas foram pesadas e aproximadamente 200g foram submetidas a um processo de secagem em três etapas distintas, totalizando 6 minutos: o primeiro ciclo durou 3 minutos, o segundo 2 minutos e o último 1 minuto, até que a massa das folhas se estabilizasse. Entre cada ciclo, a amostra foi cuidadosamente removida do recipiente com o auxílio de uma espátula para prevenir a aderência à superfície do recipiente e evitar a combustão (LACERDA; FREITAS; SILVA, 2009).

Ao final do processo de secagem, as amostras foram trituradas por 3 segundos, em liquidificador, marca Walita, visando obter pequenas frações, logo após, as amostras foram peneiradas com peneira de granulometria fina (20 mesh), empacotadas em embalagens de polietileno, seladas e armazenadas em freezer, até a realização das análises (ABRAHÃO et al., 2008) (Figura 6).

Figura 6 - Folhas de café e folhas de amoreira



Legenda: a) folhas de café secas e trituradas, b) folhas de amoreira secas e trituradas. Fonte: Da autora (2024).

4.4 Delineamento Experimental

O delineamento utilizado foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com três repetições, sendo a parcela experimental composta por 10g de cada componente diluída em 150ml de água, essas quantidades foram adequadas para os objetivos da pesquisa, sendo controlada a precisão das medições (PIMENTEL-GOMES, 2022).

4.5 Preparo das Infusões Experimentais

4.5.1 Infusões Experimentais

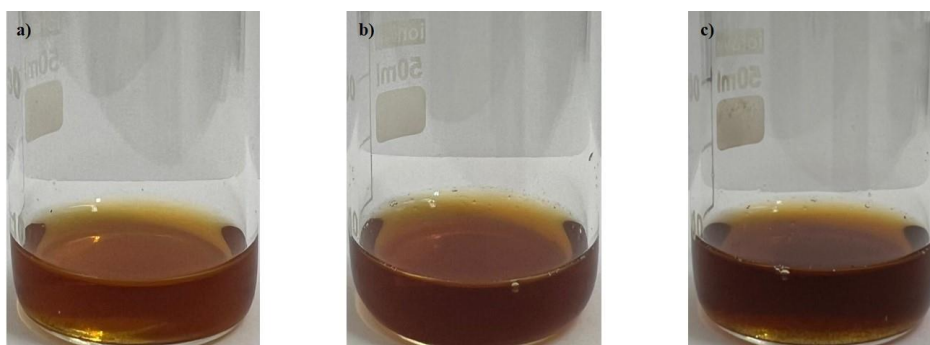
As infusões experimentais realizadas foram:

- Infusão 1: café torrado moído (torra clara);
- Infusão 2: café torrado moído (torra média);
- Infusão 3: café torrado moído (torra escura);
- Infusão 4: folha de café seca e triturada em FMO;
- Infusão 5: folha de amoreira seca e triturada em FMO.

4.5.2 Infusão das Amostras de Café em Diferentes Torras

Para o preparo das infusões de café, estas foram realizadas de acordo com as maiores porcentagens de respostas obtidas no questionário on-line aplicado “Consumo e Preparo do Café”. O modo de preparo da solução consistiu em pesar 10 gramas da amostra de café torrado e moído, referente a uma colher de sopa cheia, depois aquecer 150ml de água potável por 1 minuto e 30 segundos até atingir 100°C (ebulição com bolhas na superfície), assim o pó de café foi colocado no interior do papel filtro (tamanho 102) e posteriormente adicionou-se água aquecida para filtração (4 minutos). Após a filtração, a solução foi colocada em frasco âmbar e acondicionada sob refrigeração (Figura 7).

Figura 7 - Infusões contendo diferentes torras



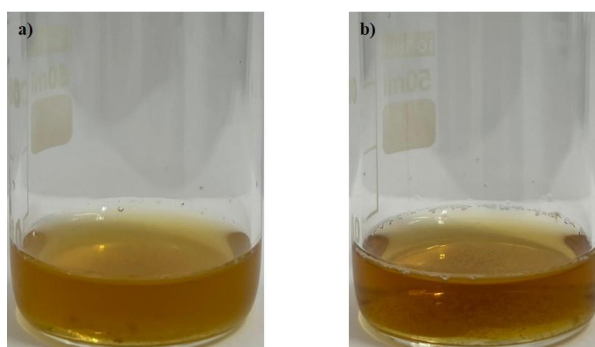
Legenda: a) infusão contendo torra clara, b) infusão contendo torra média, c) infusão contendo torra escura. Fonte: Da autora (2024).

4.5.3 Infusão das Folhas de Café e de Amoreira

Para o preparo das infusões das folhas de café e de amoreira, foram pesadas 10 gramas das folhas secas e trituradas (DEPAULA et al., 2023) para 150ml de água potável quente. O método consistiu em aquecer a água por 1 minuto e 30 segundos, até atingir a ebulição (100°C), logo após verteu-se a água aquecida sobre as folhas secas num recipiente de vidro,

deixando em repouso, durante 10 minutos, agitando no início, meio (6 minutos) e fim (10 minutos) (CARVALHO, 2019; DE BARROS et al., 2022). Posteriormente, a solução foi filtrada em papel filtro (tamanho 102) durante 4 minutos, depois colocada em frasco âmbar e acondicionada sob refrigeração (Figura 8).

Figura 8 - Infusões contendo folhas de café e folhas de amoreira



Legenda: a) infusão contendo folhas de café, b) infusão contendo folhas de amoreira. Fonte: Da autora (2024).

4.6 Bioacessibilidade das Infusões

4.6.1 Teste de Bioacessibilidade em Digestão *in vitro*

Para o processo de digestão *in vitro* das infusões e para a análise de bioacessibilidade foi utilizado o protocolo estabelecido por Minekus et al. (2014) (MINEKUS et al., 2014).

Foram preparadas soluções de simulação de fluido salivar (FSS), fluido gástrico (FSG) e intestinal (FSI) de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2 - Composição e quantidade das soluções presentes na simulação de fluido salivar (FSS), fluido gástrico (FSG) e de fluido intestinal (FSI)

Soluções	FSS	FSG	FSI
KCl	1.1260g	0.514g	0.507g
KH₂PO₄	0.7560g	0.122g	0.109g
NaHCO₃	1.1420g	2.1g	7.14g
NaCl	-	2.761g	2.246g
MgCl₂(H₂O)₆	0.0300g	0.020g	0.067g
CH₃NO₃	0.0190g	0.075g	-
CaCl₂(H₂O)₂	0.2200g	0.022g	0.088g
1M HCl		15.6ml	-
Volume Final	1000ml	1000ml	1000ml
pH	6.5±0.1	3±0.1	7.0±0.1

Fonte: Minekus et al. (2014).

Os experimentos foram conduzidos utilizando tubos Falcon novos de 50ml. Cada infusão foi submetida, individualmente, ao processo completo de digestão *in vitro* em tubos Falcon distintos. Para o cálculo da bioacessibilidade, um tubo Falcon adicional foi incluído no

experimento. Este tubo continha todos os reagentes necessários para a digestão *in vitro*, mas não incluía nenhuma amostra. Este tubo adicional, referido como “branco”, serve como controle para garantir a precisão dos resultados.

Inicialmente, uma solução foi preparada com 1,118g de alfa-amilase (11U/mg, α -Amylase Porcine Pancreas, Sigma-Aldrich, Milão, Itália), dissolvida em 50ml de FSS. Posteriormente, uma segunda solução foi preparada com 0,38g de pepsina (602 U/mg, Pepsin Porcine Gastric Mucosa, Sigma-Aldrich, Milão, Itália), dissolvida em 50ml de FSG. Ambas as soluções foram armazenadas em gelo até o momento de uso. Os tubos Falcon, envoltos em papel alumínio, foram pesados vazios utilizando uma balança analítica (Balança Analítica M214AIH).

As infusões foram distribuídas nos tubos Falcon, que foram numerados de acordo com o protocolo experimental previamente estabelecido. Os tubos foram então pesados novamente utilizando uma balança analítica.

Na fase oral do processo, adicionou-se 5ml da solução de alfa-amilase a cada tubo. Os tubos foram agitados por 30 segundos e, em seguida, colocados em um agitador (Maxq 400, Thermo Scientific, EUA) a 37°C, com uma velocidade de agitação de 250 rpm, durante 2 minutos. Na fase de digestão gástrica, adicionou-se 5ml da solução de pepsina a cada tubo. Os tubos foram agitados por 30 segundos e o pH foi ajustado para $3,0 \pm 0,1$ utilizando HCl (1 M). Em seguida, os tubos foram incubados no agitador a 37°C, com uma velocidade de agitação de 250 rpm, durante 2 horas. Após 1 hora de incubação, o pH foi verificado e ajustado para $3,0 \pm 0,1$, se necessário.

Durante o período de incubação, foram preparadas soluções de bile e pancreatina. A solução biliar foi preparada dissolvendo 1,61 g de extrato de bile (1,4 μ mol/mg; Bile Extract Porcine from Sigma) em 50 ml de FSI e agitando-a até o momento do uso. A solução de pancreatina foi preparada dissolvendo 6,25 g de pancreatina (3,6 U/mg; Pancreatin Porcine from Sigma) em 55 ml de FSI. Esta solução foi então agitada por 10 minutos, centrifugada a 3500 rpm por 5 minutos a 4°C, e o sobrenadante foi coletado e transferido para um novo tubo. Após um período de incubação de 2 horas, iniciou-se a fase de digestão intestinal.

A fase de digestão intestinal, foram adicionados 5ml da solução biliar (45 μ mol/ml) e 5ml da solução de pancreatina (450 U/ml) aos tubos. O pH foi então medido e ajustado para $7,0 \pm 0,1$ utilizando NaOH (1 M). Os tubos foram incubados em um agitador a 37°C, com uma velocidade de agitação de 250 rpm, durante 2 horas. Após a incubação, os tubos foram pesados novamente utilizando uma balança analítica. Finalmente, a solução foi centrifugada a

3500 rpm por 45 minutos a 4°C, e o sobrenadante foi coletado e transferido para um novo tubo Falcon de 15ml.

O cálculo da bioacessibilidade das infusões foi realizado utilizando dosagens obtidas a partir da digesta. Além disso, os pesos iniciais e finais dos tubos de teste foram obtidos conforme a equação a seguir:

$$\text{Bioacessibilidade} = \text{CBPT}/\text{MDPQ} \times 100$$

$$\text{CBPT} = \text{CPTFDA}/\text{PFT}$$

$$\text{CPTFDA} = \text{MD} \times \text{VF}$$

$$\text{VF} = \text{PFT} - \text{PIT}$$

Onde:

CBPT: Conteúdo Bioacessível de Polifenóis Totais

MDPQ: Dosagem dos compostos fenólicos (mg/ml)

CPTFDA: Conteúdo de Polifenóis Totais na Fração Digerida Acessível

MD: Média da dosagem (mg/ml)

VF: Volume final (ml)

PFT peso final do tubo (mg)

PIT: Peso inicial do tubo (mg)

4.7 Caracterização por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas (HPLC-DAD-ESI/MS)

O método de Cromatografia consistiu em filtrar as amostras em membrana filtrante de 0,45µm, e posteriormente uma alíquota foi colocada em frascos de 1,5ml (vial) para injeção. As análises foram realizadas no laboratório Central de Análises e Prospecção Química da Universidade Federal de Lavras, e método foi por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas (HPLC-DAD-ESI/MS), antes e depois do processo de digestão *in vitro*.

O equipamento utilizado, marca Shimadzu, composto por bomba quaternária LC-20AT, desgaseificador DGU-20A5, injetor SIL-20A, controlador CBM-20A, forno CTO-20AC, detector SPDM-20A, detector RID-10A e coletor de frações FRC-10A. A injeção seguiu os seguintes parâmetros: programa de tempo Lc: 0,01 min - 0% B, 5 min - 20% B; 25 min - 40% B; 43 min - 45% B; 50 min - 80% B; 55 min - 0% B; 65 min - PARAR; Fluxo: 1 ml/min; Temperatura do forno (°C): 35; Volume injetado: 0,02ml; PAI: 280nm; Coluna Shim-pack VP-ODS 250 x 4,6 x 0,0005 mm e pré-coluna Shim-pack GVP-ODS 10 x 4,6 x 0,0005

mm; Fase móvel A constituída de: solução de ácido acético glacial a 2% em água tipo 1. 5.10.2; Fase móvel B constituída de: solução de metanol (água: ácido acético (70:28:2 %v/v)).

Foram utilizados 15 padrões (de grau analítico) com intuito de determinar as concentrações de compostos fenólicos das infusões, antes e depois do processo de digestão *in vitro*, sendo eles: trigonelina, teobromina, catequina, resveratrol, vanilina e ácidos gálico, clorogênico, ferúlico, cafeico, o-cumárico, m-cumárico, p-cumárico, siríngico, rosmarínico e transcinâmico. Os resultados obtidos foram expressos em mg/100g.

4.8 Quantificação do Teor de Fenólicos Totais

As infusões foram submetidas ao procedimento de quantificação do conteúdo total de fenólicos. Inicialmente, 2,5g da amostra foram pesados em recipientes revestidos com papel alumínio, aos quais foram adicionados 20ml de metanol a 50%. A amostra foi então homogeneizada e deixada em repouso por 1 hora em condições de escuridão, seguida de uma centrifugação por 15 minutos a 15000rpm. O sobrenadante foi coletado e transferido para um balão volumétrico âmbar de 50ml. Em seguida, 20ml de acetona a 70% foram adicionados ao resíduo resultante da primeira extração. A amostra foi novamente homogeneizada e deixada em repouso por 1 hora em condições de escuridão, seguida de uma segunda centrifugação por 15 minutos a 15000rpm. O sobrenadante resultante foi coletado e transferido para o mesmo balão volumétrico, que foi então preenchido até 50ml com água destilada.

Para a determinação do conteúdo total de fenólicos, 0,5ml de cada solução intermediária foi adicionado aos tubos de ensaio (âmbar), protegidos da luz. Os tubos foram identificados com base na concentração de ácido gálico. Em seguida, 2,5ml da solução de Folin Ciocalteau a 10% (v/v) foi pipetado em todos os tubos. Logo após, 2ml da solução de Carbonato de sódio a 4% (p/v) foi adicionado. Os tubos foram agitados e mantidos em repouso por 2 horas, no escuro. A leitura foi realizada a 720nm. O etanol absoluto foi utilizado como branco no experimento (WATERHOUSE, 2001).

4.9 Ensaio Antioxidante *in vitro*

4.9.1 Determinação da Atividade Antioxidante Total pela Captura do Radical Livre DPPH

As infusões foram submetidas ao ensaio de determinação da atividade antioxidante total, utilizando o método de captura do radical livre DPPH, conforme o protocolo

estabelecido por Rufino et al. (2007).

Em condições de escuridão, foi construída a curva de calibração do DPPH, utilizando uma solução inicial de DPPH a 60 μM . Alíquotas de aproximadamente 4ml de cada solução de DPPH (10 μM , 20 μM , 30 μM , 40 μM , 50 μM e 60 μM) foram transferidas para cubetas de vidro para a realização das leituras espectrofotométricas a 515nm. O álcool metílico foi utilizado como branco para a calibração do espectrofotômetro. As concentrações de DPPH (em μM) foram plotadas no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y, com o objetivo de calcular a equação da reta.

Para o ensaio, uma alíquota de 0,1ml de cada infusão foi adicionada a tubos de ensaio contendo 3,9ml do radical DPPH e homogeneizada em um agitador de tubos. Uma solução controle, contendo 0,1ml de álcool metílico, acetona e água, foi misturada com 3,9ml do radical DPPH e homogeneizada. O álcool metílico foi novamente utilizado como branco para a calibração do espectrofotômetro. As leituras (a 515nm) foram monitoradas a cada minuto até a estabilização.

Após a leitura das absorbâncias, o valor de y foi substituído pela metade da absorbância inicial do controle (Abs inicial do controle / 2) na equação da curva do DPPH. Isso permitiu encontrar o consumo correspondente em μM de DPPH (valor de x), que foi então convertido para gramas de DPPH. Com base nas absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, foi construída uma curva de calibração, plotando a absorbância no eixo Y e a diluição (mg/L) no eixo X. Isso permitiu a determinação da equação da reta.

O cálculo da atividade antioxidante total (AAT) envolveu a substituição da absorbância equivalente a 50% da concentração inicial do DPPH pelo y na equação da reta ($y = -ax + b$). Isso permitiu encontrar o valor correspondente à quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH, que é conhecido como EC50 (mg/L). O valor obtido (mg/L) foi então dividido por 1.000 para converter para gramas. Finalmente, esse valor foi dividido pelo valor encontrado em gramas de DPPH para obter o resultado final da atividade antioxidante total (RUFINO et al., 2007).

4.9.2 Determinação da Atividade Antioxidante Total pelo Sistema Beta-caroteno/Ácido Linoleico.

As infusões foram submetidas ao ensaio de determinação de atividade antioxidante total pelo sistema β -caroteno/Ácido Linoleico, seguindo o protocolo de Rufino e colaboradores (2006).

Para a solução Sistema (β -caroteno/Ácido Linoleico), aproximadamente 500ml de água destilada foi submetida ao borbulhamento com oxigênio (oxigenador) por 30 minutos. Pesou-se 20mg de β -caroteno em um tubo de 2ml, protegido da luz com papel alumínio, onde foi adicionado 1ml de clorofórmio e agitado. Em um erlenmeyer foram adicionados: 40 μ l de ácido linoleico, 530 μ l de Tween 40, 50 μ l da solução β -caroteno e 1ml de clorofórmio, homogeneizou-se e o clorofórmio foi colocado para evaporar, com o auxílio do oxigenador. Após esse procedimento, foi adicionada água tratada com oxigênio para se obter uma absorvância entre 0,6nm e 0,7nm a 470nm no espectrofotômetro, a solução sistema apresentou uma coloração amarelo-alaranjada.

As infusões (0,4ml) foram colocadas em tubos de ensaio contendo 5ml da solução Sistema (β -caroteno/Ácido Linoleico), homogeneizadas e mantidas em banho-maria à 40°C. A primeira leitura (470nm) foi realizada com 2 minutos após a homogeneização e depois em intervalos de quinze minutos até completar 120 minutos.

Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição da oxidação. A redução da absorvância (Abs) do sistema sem antioxidante é considerada como 100% de oxidação (Redução Abs = Abs inicial – Abs final). O decréscimo da leitura da absorvância das amostras foi correlacionado com o sistema e estabelece a porcentagem de oxidação (% Oxidação = [(Redução Abs) amostra x 100]/ (Redução Abs), subtraindo-se a porcentagem de oxidação de cada amostra de 100 (% Proteção = 100 – (% Oxidação)) (RUFINO et al., 2006).

4.10 Avaliação de Fatores Antinutricionais

4.10.1 Quantificação Espectrofotométrica de Ácido Oxálico

A quantificação do ácido oxálico foi realizada conforme o protocolo estabelecido por Naik et al. (2014). Inicialmente, um extrato foi preparado combinando 1ml da amostra com 20ml de HCl 0,025M. Esta mistura foi submetida a um banho de fervura por 15 minutos e, em seguida, resfriada em um banho de gelo até atingir a temperatura ambiente. Este extrato foi utilizado para a quantificação do ácido oxálico.

Uma solução padrão de ácido oxálico (2000 μ g/ml) foi preparada utilizando água deionizada e armazenada à temperatura ambiente. Além disso, foram preparadas soluções de 100ml de KMnO₄ 0.003M, através de uma diluição adequada de 0.01M KMnO₄ em água destilada, e de 500ml de H₂SO₄ 2N em água destilada.

Para a quantificação do ácido oxálico, uma mistura contendo 1ml do extrato, 5ml de H₂SO₄ 1M e 2ml de KMnO₄ 0,003M foi preparada e deixada em repouso por 10 minutos à

temperatura ambiente. A absorvância foi registrada a 528nm utilizando um espectrofotômetro Shimadzu, UV 1900. O reagente branco foi preparado com água deionizada (NAIK et al., 2014).

4.10.2 Avaliação do Teor de Taninos

As infusões foram analisadas para determinar o teor de taninos, seguindo o método proposto por Mahajan et al. (2023). Inicialmente, 0,5g da amostra e 20ml de uma solução 50% etanol (proporção 50/50 de etanol e água, v/v) foram pesados e homogeneizados. Em seguida, a mistura foi submetida a um banho de ultrassom aquecido por 1 hora. Após esse período, a solução foi filtrada usando papel filtro e o filtrado foi coletado para uso posterior. A solução de Folin-Ciocalteu e a solução de carbonato de sódio (4%) foram preparadas dissolvendo-as em água deionizada. Para a preparação da solução padrão de ácido tânico (1mg/ml), 0,025g de ácido tânico foram pesados e dissolvidos em metanol puro.

Para a quantificação do teor de tanino, o extrato (1mg/ml) foi misturado com 0,5ml da solução de Folin Ciocalteu e 1,5ml da solução de carbonato de sódio a 4%, e o volume total foi ajustado para 10ml com metanol. O ácido tânico foi usado como padrão de referência para a quantificação de taninos, e a absorvância foi medida a 775nm em um espectrofotômetro UV visível. O teor total de tanino foi expresso em mg/g de equivalente de ácido tânico (MAHAJAN et al., 2023).

4.11 Análise Estatística

Os dados coletados foram submetidos ao teste de normalidade dos dados (Qui-quadrado) e homogeneidade de variância (Bartlett). Após esta verificação os procedimentos para a análise de variância foram realizados. E posteriormente as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados no software R (R Core Team, 2020). Para comparar as médias antes e depois do processo de digestão *in vitro* foi realizado o teste t, utilizando o software GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). As hipóteses testadas foram: $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$; $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$. Em que μ_1 é a média antes da digestão; e μ_2 é a média.

Referente aos resultados do teste de Bartlett e Qui-quadrado, os dados de trigonelina e ácido gálico obtidos antes do processo de digestão *in vitro* não atenderam às pressuposições da ANOVA, e por isso foram transformados pela fórmula: $[1/(x)] \times 1000$. Sendo que o x refere-se ao dado original.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo teve como intuito verificar o comportamento de consumidores de café e comparar a bioacessibilidade de compostos fenólicos utilizando um modelo de digestão *in vitro* em infusões de café, frente a diferentes tipos de torras, e em infusões de folhas de café e de folhas de amoreira. Além disso, foi possível analisar a atividade antioxidante e a concentração de fatores antinutricionais nessas mesmas infusões.

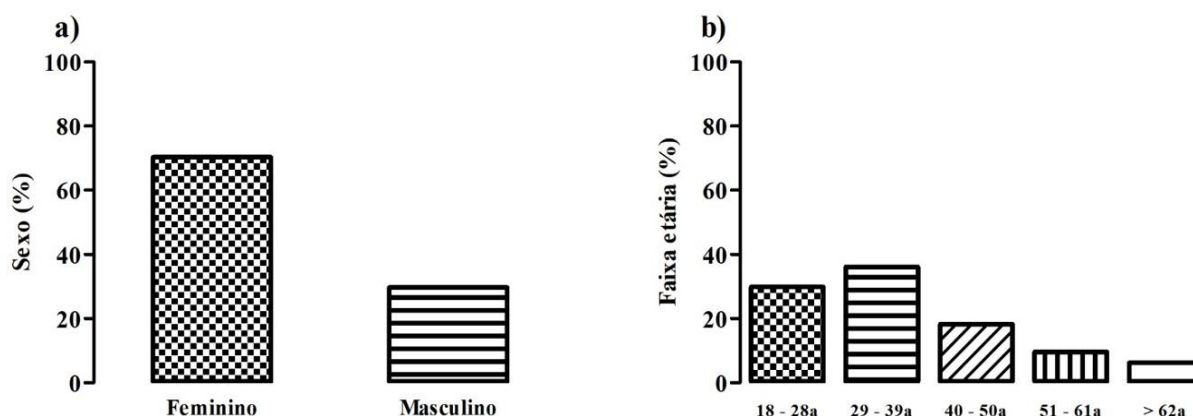
5.1 Questionário Consumo e Preparo do Café

Trabalhos indicam que diferentes métodos de preparo do café afetam sua composição química e aroma (CAPRIOLI et al., 2015; CHANG; HO, 2014). As variações de metabólitos também são influenciadas pela temperatura, como infusões quentes ou frias (RAO; FULLER; GRIM, 2020), pelo tempo de infusão ou tamanho dos sólidos moídos (CORDOBA et al., 2019; FARAG et al., 2022).

Quinhentos e dois participantes concordaram em participar do questionário sobre o consumo e preparo do café.

De acordo com a figura 9a, 70,3% dos participantes eram do sexo feminino, enquanto 29,7% eram do sexo masculino. A faixa etária com maior representação foi de 29 a 39 anos, totalizando 36,1%. Além disso, observou-se que a participação diminuiu à medida que a faixa etária aumentava, sendo a menor participação registrada em pessoas acima de 62 anos (6,2%) (Figura 9b).

Figura 9 - Sexo e faixa etária dos participantes do questionário

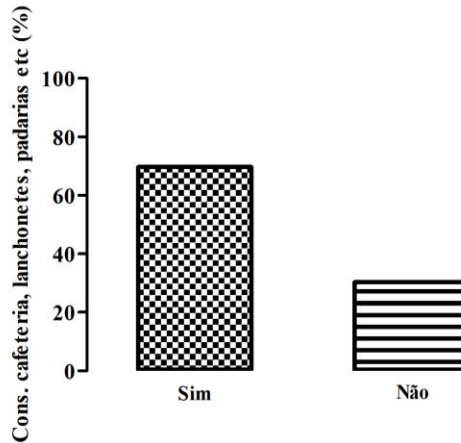


Legenda: a) % de indivíduos do sexo feminino e masculino. b) % de indivíduos na faixa etária de 18 a 28a (anos); 29 a 39a (anos); 40 a 50a (anos); 51 a 61a (anos) e > (maiores) de 62a (anos).

O café é uma bebida popular e versátil, apreciada por pessoas de diferentes idades e gêneros. A preferência por consumir café em estabelecimentos pode estar relacionada à

experiência social e à conveniência, mais da metade dos participantes do questionário aplicado no presente estudo consomem café em estabelecimentos como cafeterias, lanchonetes, padarias, entre outros (Figura 10).

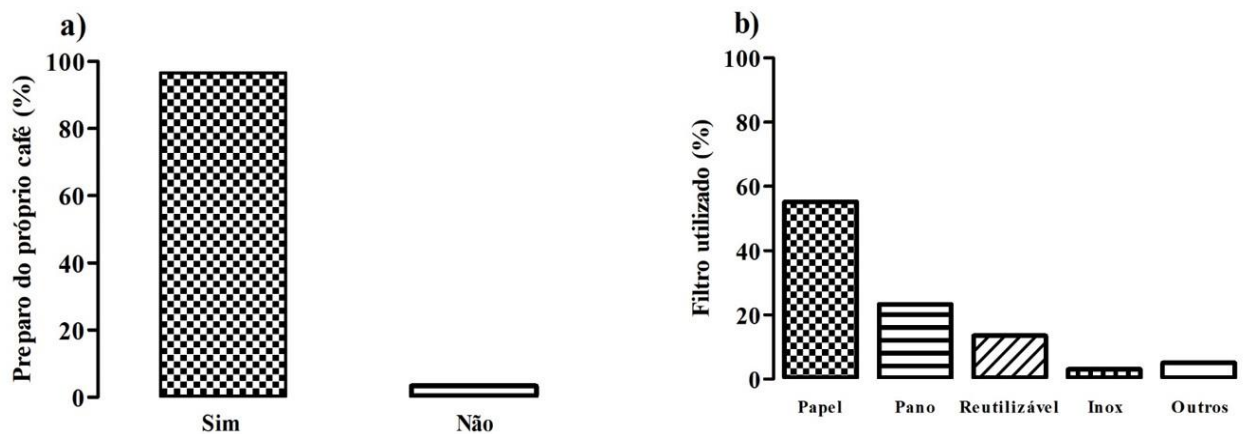
Figura 10 - Consumo de café em cafeterias, lanchonetes, padarias etc.



Legenda: % de indivíduos que consomem café em cafeterias, lanchonetes, padarias etc.

Segundo a figura 7a, 96,6% das pessoas que aceitaram participar do questionário preparam o próprio café (Figura 11a). O filtro com maior porcentagem de utilização pelos participantes foi o de papel (55,2%), seguido pelo filtro de pano (23,3%), o lavável e reutilizável (13,5%), depois 3% o de aço inox e os participantes que utilizavam de outros tipos de filtros abrangeu 5% (Figura 11b).

Figura 11 - Preparo do próprio café e o tipo de filtro utilizado no seu preparo



Legenda: a) % de indivíduos que preparam o próprio café. b) % do tipo de filtro utilizado: papel, pano, reutilizável, inox e outros.

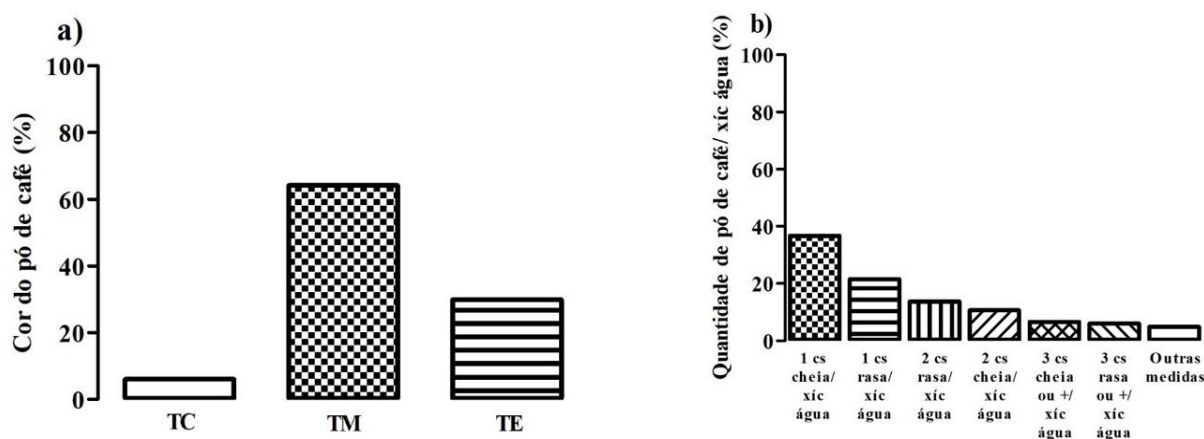
Os participantes foram questionados sobre a cor do pó de café utilizado em suas preparações, sendo relacionado ao tipo de torra que o café foi submetido, assim, 64,1% dos participantes responderam que utilizam o pó de café com torra média, possivelmente devido

ao perfil dos participantes, faixa etária de maior participação do questionário e mudança de comportamento do consumidor em busca de cafés especiais (SCA, 2023), no entanto, 29,9% disseram utilizar o pó de café com torra escura e somente 6% fazem o uso do café de torra clara, corroborando com os bons resultados conseguidos nos testes realizados nesse estudo (Figura 12a).

Kim e colaboradores (2022) demonstraram que a composição dos compostos bioativos do café depende dos métodos de torração, podendo ser verificadas concentrações diferentes de eugenol, ácido ferúlico e vanilina entre infusões quentes e frias, no entanto, podendo ser observada apenas no café de torra escura (KIM et al., 2022).

A quantidade de pó de café por xícara de água também foi perguntada no questionário, sendo a medida de maior porcentagem foi a de 1 medida (1 colher de sopa cheia/xícara de água) prevalecendo 36,7%; depois a de 1 medida (1 colher de sopa rasa/xícara de água) com 21,5% das respostas; 2 medidas (2 colheres de sopa rasa/xícara de água) com 13,7% das respostas; 2 medidas (2 colheres de sopa cheia/xícara de água) com 10,6% das respostas; 3 medidas (3 colheres de sopa cheia ou mais/xícara de água) abrangendo 6,6% das respostas; 3 medidas (3 colheres de sopa rasa ou mais/xícara de água) abrangendo 6,0% das respostas e outras medidas foram 4,9% (Figura 12b).

Figura 12 - Cor do pó de café e quantidade de pó de café/xícara de água



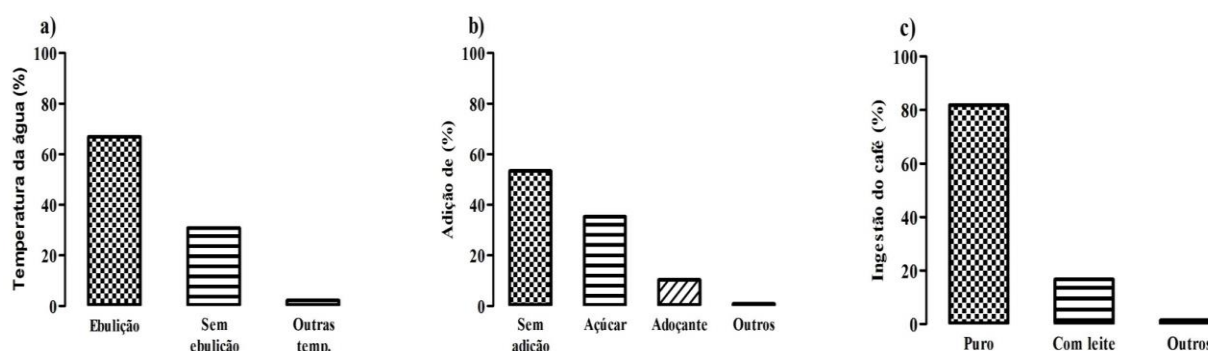
Legenda: a) % de indivíduos que utilizam o pó de café de torra clara (TC), torra média (TM) e torra escura (TE). b) % de indivíduos que utilizam: 1 cs cheia/xíc de água (1 colher de sopa cheia/xícara de água); 1 cs rasa/xíc de água (1 colher de sopa rasa/xícara de água); 2 cs rasa/xíc de água (2 colheres de sopa rasa/xícara de água); 2 cs cheia/xíc de água (2 colheres de sopa cheia/xícara de água); 3 cs cheia ou +/xíc de água (3 colheres de sopa cheia ou mais/xícara de água); 3 cs rasa ou +/xíc de água (3 colheres de sopa rasa ou mais/xícara de água); outras medidas.

A temperatura da água utilizada no preparo de infusões (método quente) é outro parâmetro a ser levado em consideração, logo, a atividade antioxidante das infusões

preparadas com água em temperatura superior à 90°C foi maior (MUZYKIEWICZ-SZYMAŃSKA et al., 2021). No presente estudo, a temperatura da água utilizada no preparo do café foi questionada aos participantes se eles deixavam a água atingir o ponto de ebulição (com formação de bolhas na superfície) ou não, como resultado, 66,9% das pessoas responderam que deixavam a água atingir o ponto de ebulição, 30,9% não deixavam a água atingir o ponto de ebulição e 2,2% utilizavam outras temperaturas, assim, a partir das respostas do questionário foi padronizada a temperatura de 100°C no preparo das infusões estudadas (Figura 13a).

Os participantes foram questionados se adicionavam algum ingrediente na bebida de café, com intuito de adoçar, no entanto, 53,4% consumiam a bebida sem adição, já 35,3% adicionavam açúcar, 10,4% relataram adicionar adoçante e 0,9% com outras adições (Figura 13b). Foram também perguntados se ingeriam o café com alguma bebida, 81,9% alegaram consumir o café puro, 16,7% com leite e 1,4% com outras bebidas (Figura 13c).

Figura 13 - Temperatura da água, adição de e ingestão do café



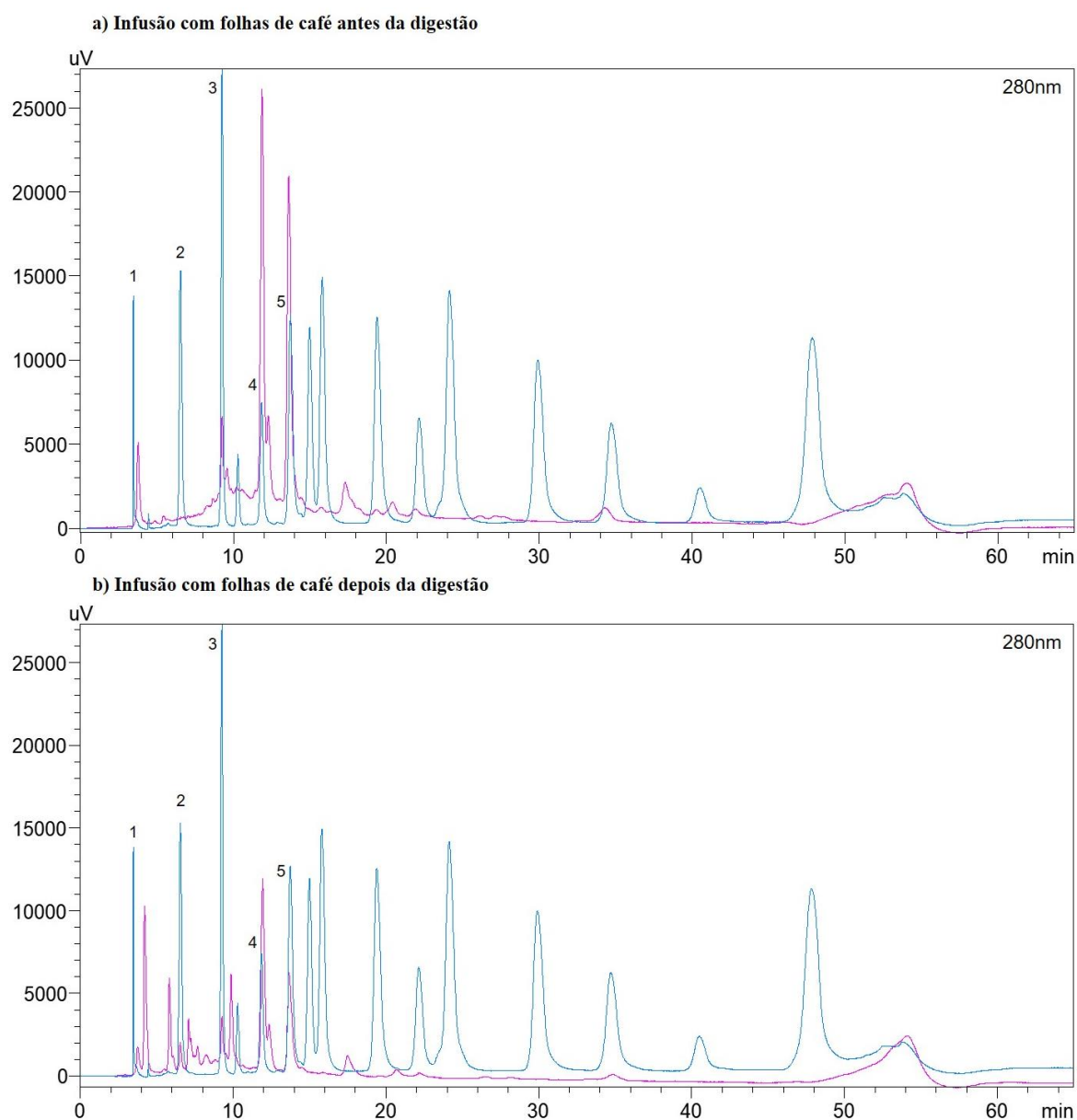
Legenda: a) % de indivíduos que utilizam a temperatura da água em ebulição; sem ebulição ou outras temperaturas para preparar o café. b) % de indivíduos que não adicionam (sem adição); que adicionam açúcar; adoçante; ou outros no preparo do café. c) % de indivíduos que ingerem o café puro; com leite; ou com outros ingredientes.

5.2 Perfil de Compostos Fenólicos

Foram utilizados 15 padrões de grau analítico: trigonelina, teobromina, catequina, resveratrol, vanilina, e ácidos: gálico, clorogênico, ferúlico, cafeico, o-cumárico, m-cumárico, p-cumárico, siríngico, rosmarínico e transcinâmico. Identificados e quantificados somente seis, sendo eles: trigonelina, teobromina, e os ácidos: gálico, clorogênico, cafeico e siríngico.

Na figura 14, observa-se os cromatogramas das infusões com folhas de café.

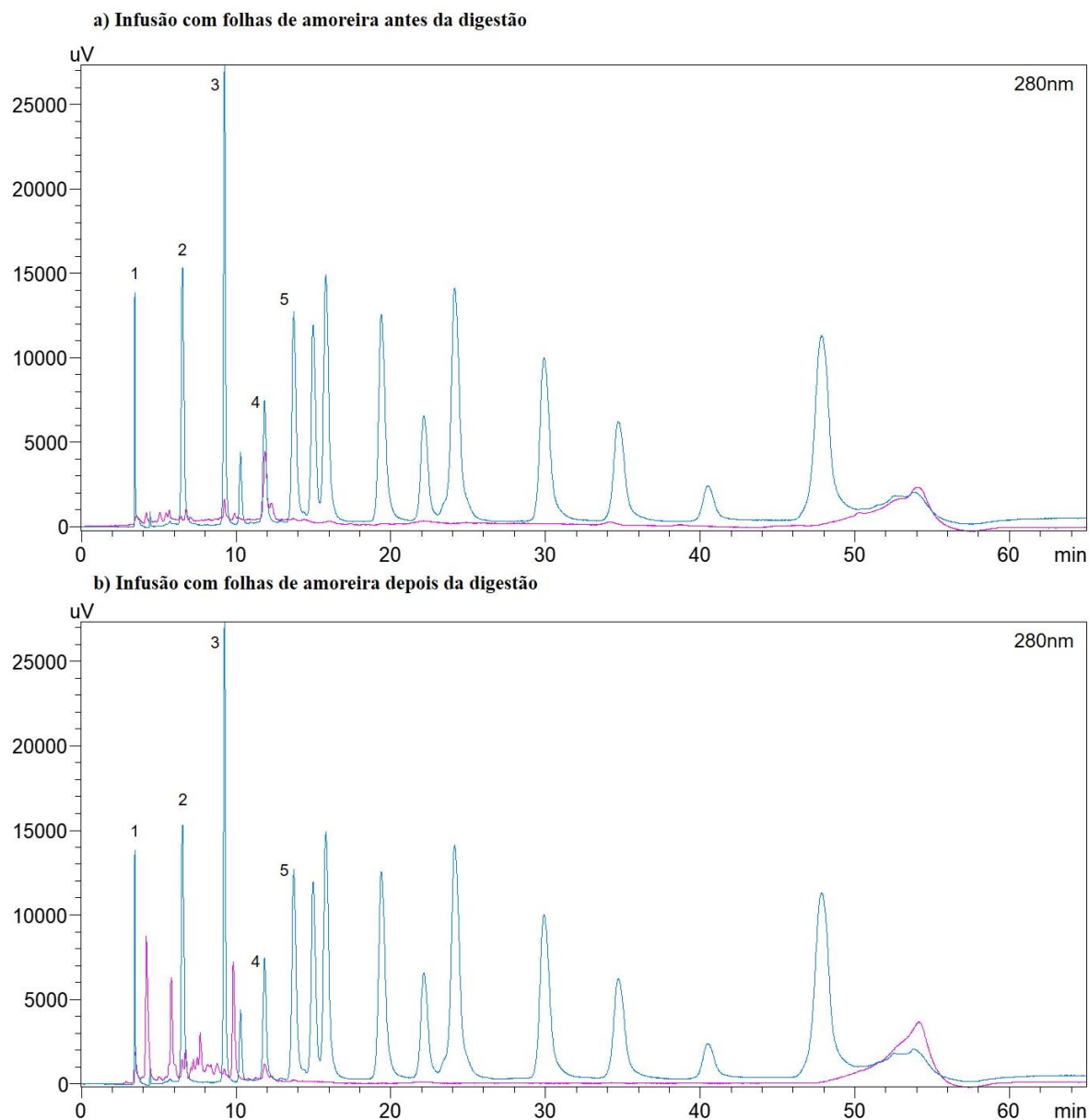
Figura 14 - Cromatogramas das infusões com folhas de café



Legenda: Cromatogramas dos compostos fenólicos identificados por HPLC-DAD-ESI-MS das infusões contendo folhas de café. a) infusão contendo folhas de café antes do processo de digestão *in vitro*. b) infusão contendo folhas de café depois do processo de digestão *in vitro*. Picos dos compostos: 1 (trigonelina); 2 (ácido gálico); 3 (teobromina); 4 (ácido clorogênico); 5 (ácido cafeico); 6 (ácido siríngico).

Segundo a figura 15, verifica-se os cromatogramas das infusões contendo folhas de amoreira.

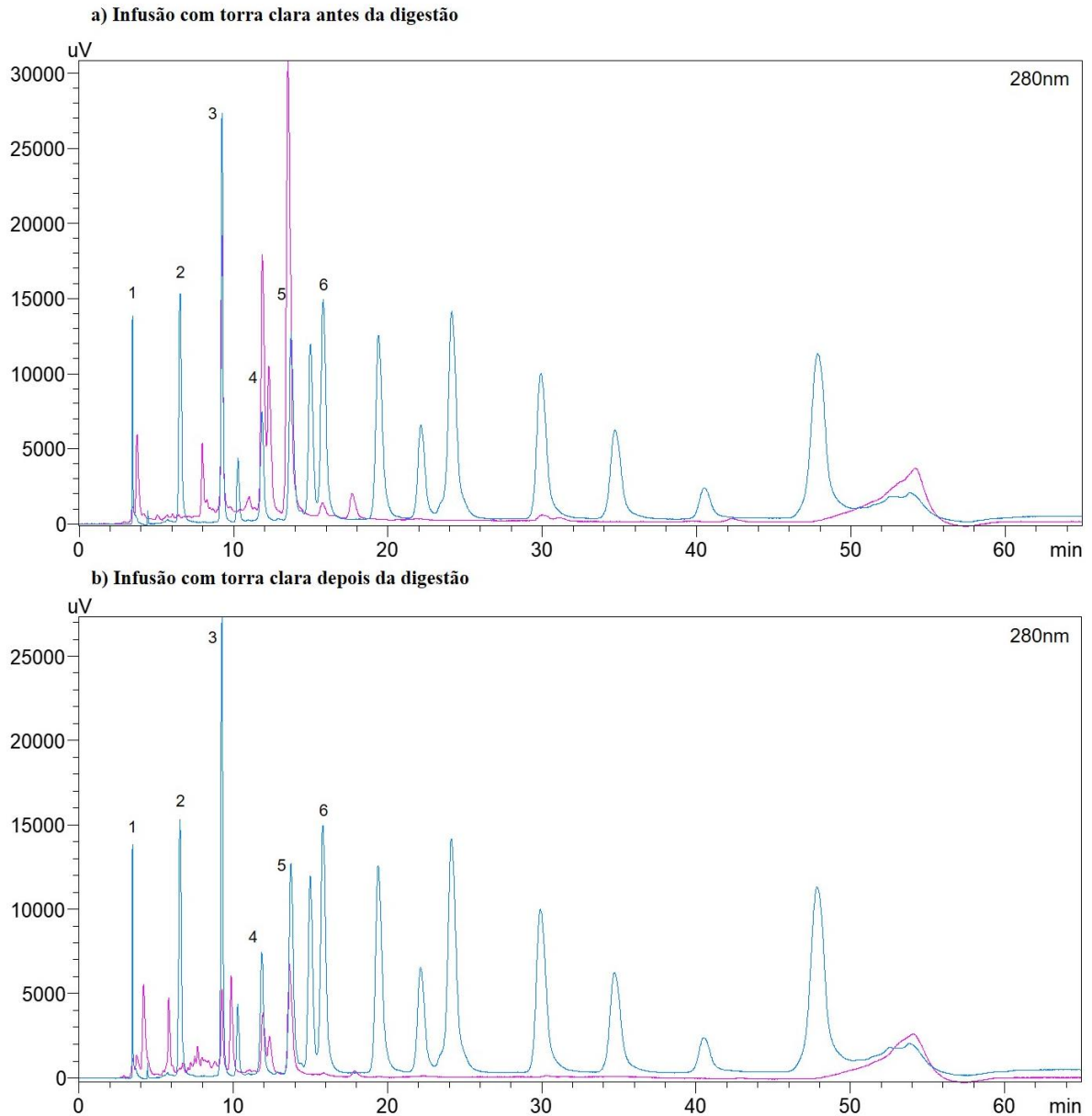
Figura 15 - Cromatogramas das infusões com folhas de amoreira



Legenda: Cromatogramas dos compostos fenólicos identificados por HPLC-DAD-ESI-MS das infusões contendo folhas de amoreira. a) infusão contendo folhas de amoreira antes do processo de *digestão in vitro*. b) infusão contendo folhas de amoreira depois do processo de *digestão in vitro*. Picos dos compostos: 1 (trigonelina); 2 (ácido gálico); 3 (teobromina); 4 (ácido clorogênico); 5 (ácido cafeico); 6 (ácido siríngico).

De acordo com a figura 16, observa-se os cromatogramas das infusões com terra clara.

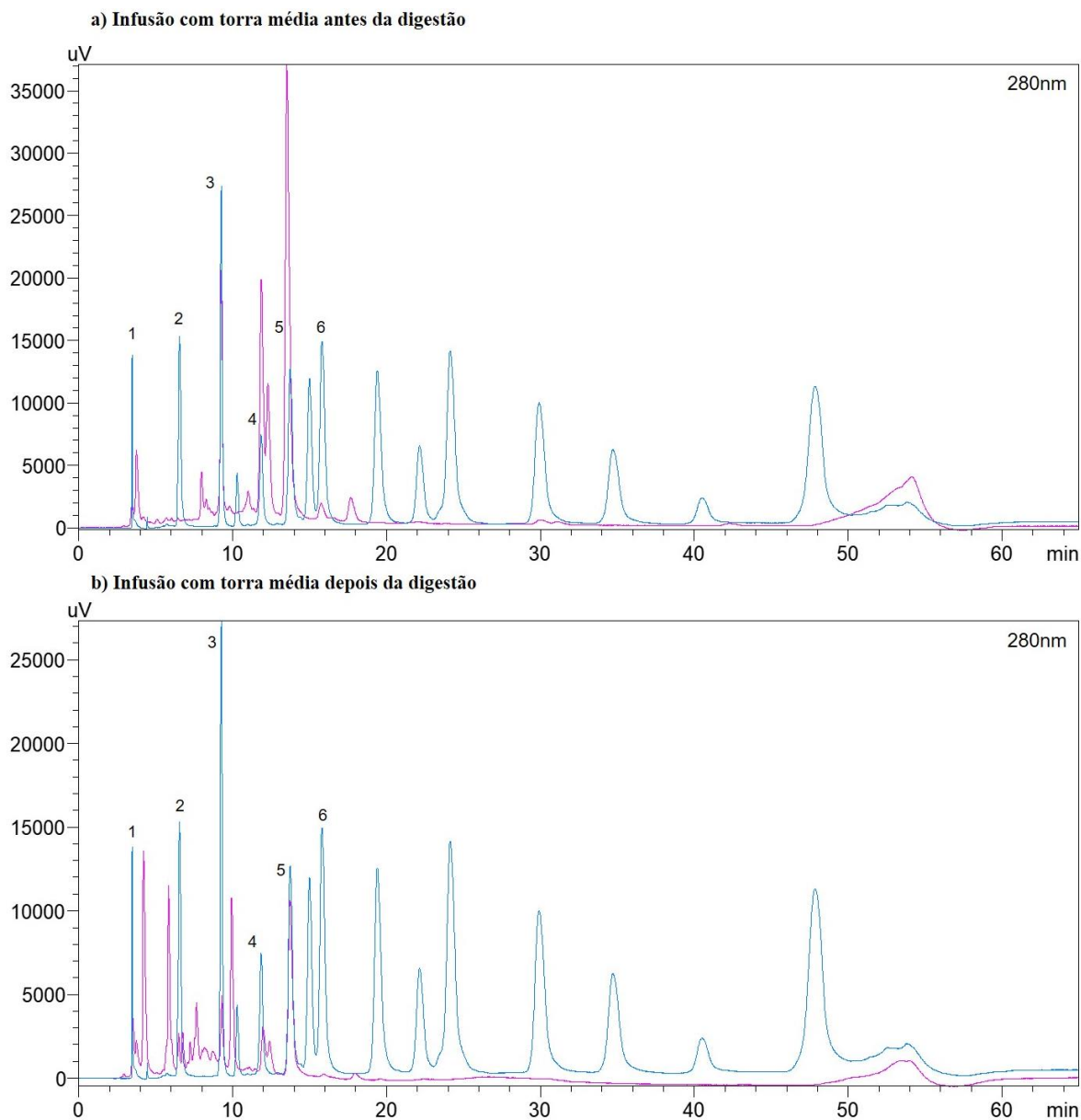
Figura 16 - Cromatogramas das infusões com terra clara



Legenda: Cromatogramas dos compostos fenólicos identificados por HPLC-DAD-ESI-MS das infusões contendo terra clara. a) infusão contendo terra clara antes do processo de *digestão in vitro*. b) infusão contendo terra clara depois do processo de *digestão in vitro*. Picos dos compostos: 1 (trigonelina); 2 (ácido gálico); 3 (teobromina); 4 (ácido clorogênico); 5 (ácido cafeico); 6 (ácido siríngico).

De acordo com a figura 17, observa-se os cromatogramas das infusões contendo torra média.

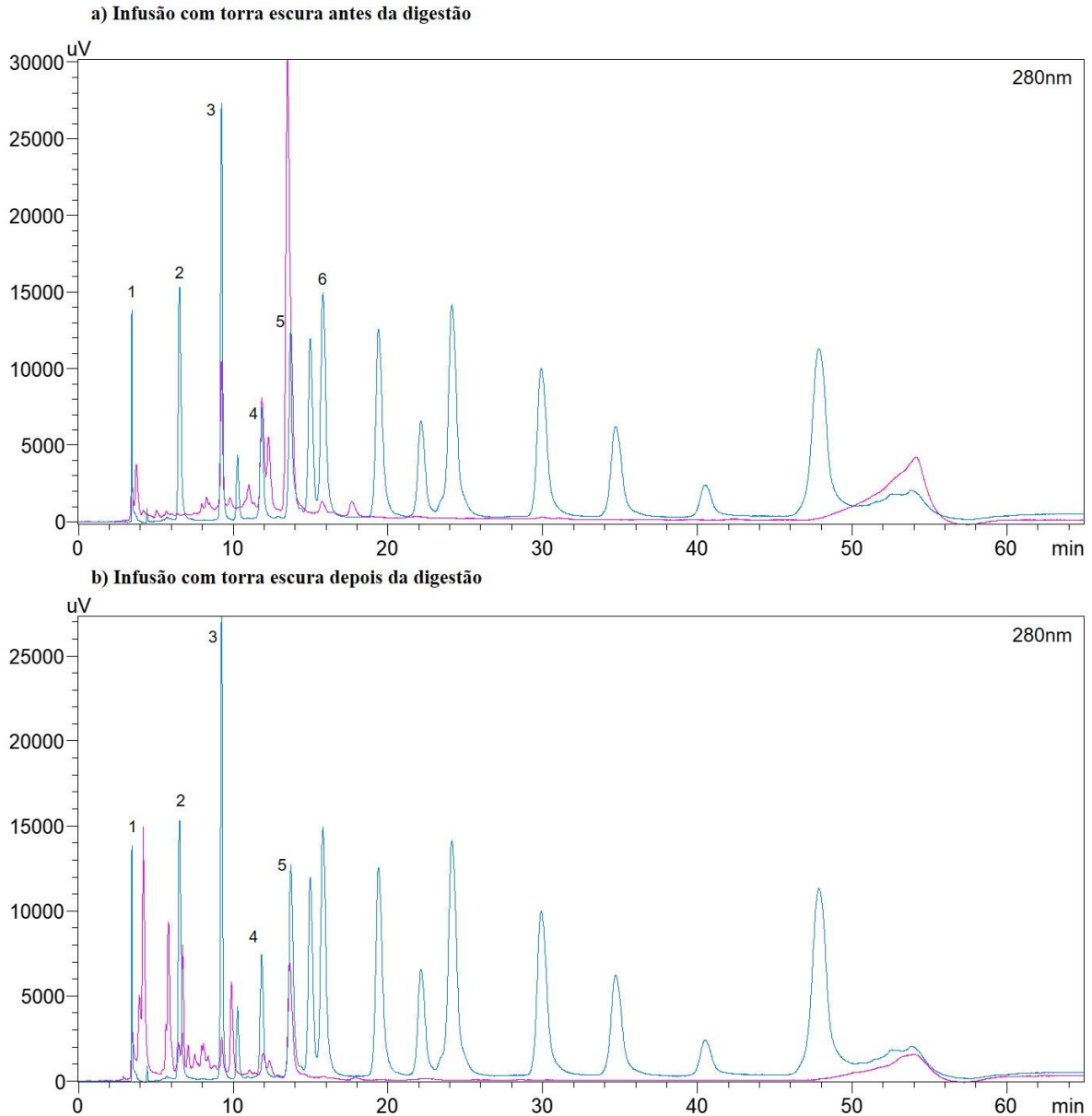
Figura 17 - Cromatogramas das infusões com torra média



Legenda: Cromatogramas dos compostos fenólicos identificados por HPLC-DAD-ESI-MS das infusões contendo torra média. a) infusão contendo torra média antes do processo de *digestão in vitro*. b) infusão contendo torra média depois do processo de *digestão in vitro*. Picos dos compostos: 1 (trigonelina); 2 (ácido gálico); 3 (teobromina); 4 (ácido clorogênico); 5 (ácido cafeico); 6 (ácido siríngico).

Segundo a figura 18, verifica-se os cromatogramas das infusões contendo torra escura.

Figura 18 - Cromatogramas das infusões com torra escura



Legenda: Cromatogramas dos compostos fenólicos identificados por HPLC-DAD-ESI-MS das infusões contendo torra escura. a) infusão contendo torra escura antes do processo de *digestão in vitro*. b) infusão contendo torra escura depois do processo de *digestão in vitro*. Picos dos compostos: 1 (trigonelina); 2 (ácido gálico); 3 (teobromina); 4 (ácido clorogênico); 5 (ácido cafeico); 6 (ácido siríngico).

A trigonelina, recentemente investigada como possível novo fitoestrógeno, foi encontrada em folhas de quatro espécies de café e demonstrou maior concentração em relação às infusões com diferentes torras, pois a trigonelina sofre degradação parcial durante a torra dos grãos. Folhas de café jovens contém uma concentração de trigonelina comparável à encontrada nos grãos de café verde, o que pode significar que a infusão de folhas de café conteria pelo menos o dobro da quantidade de trigonelina comparado à infusão de café (MONTEIRO et al., 2020), o que não foi verificado no atual estudo, onde a infusão constituída de folhas de café demonstrou menor teor de trigonelina, antes do processo de digestão *in vitro* (Tabela 3).

Segundo a tabela 3, a infusão constituída de folha de amoreira e torra média demonstraram maior teor de trigonelina antes do processo de digestão *in vitro*, enquanto as infusões com folha de café e com torra escura evidenciaram menor teor dentre as soluções analisadas. No entanto, após o processo de digestão os maiores teores foram das infusões com folha de café, folha de amoreira e torra média.

Comparando as infusões, antes e depois do processo de digestão *in vitro*, todas as infusões apresentaram aumento na concentração de trigonelina, entretanto, somente as infusões contendo folha de amoreira, torra clara e torra média tiveram aumento significativo de trigonelina, após o processo de digestão (Tabela 3).

Tabela 3 - Teor de trigonelina das infusões antes e depois da digestão *in vitro*

Trigonelina (mg/L)			
Infusões	Antes	Depois	P valor
Folha de café	6.48 ^d	271.70 ^{ab}	0.0692 ^{ns}
Folha de amoreira	21.89 ^a	247.19 ^{abc}	0.0173 [*]
Torra clara	15.56 ^{bc}	93.88 ^{bc}	0.0269 [*]
Torra média	17.74 ^{ab}	333.42 ^a	0.0243 [*]
Torra escura	11.91 ^{cd}	62.63 ^c	0.1037 ^{ns}

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, $p < 0.05$). A última coluna representa o valor de p obtido no teste t. ns: não há diferença significativa; * há diferença significativa entre as médias antes e depois da digestão, $*p < 0.05$.

A infusão de folhas de café são usadas na etnomedicina devido aos seus benefícios à saúde (CHEN, 2019). Sendo uma bebida rica em diversos compostos bioativos, por exemplo, ácido clorogênico, xantonas (MONTEIRO et al., 2020), trigonelina, adenina-7-glicosil, quercetina e mangiferina (CHEN; MU; KITTS, 2019), catequinas e cafeína (TRITSCH et al., 2022), e possui sabor menos amargo em comparação ao chá verde (*Camellia sinensis*) (CHEN, 2019).

Dados confirmam que a infusão de folhas de café tem o perfil fitoquímico para ser utilizado na indústria de alimentos como alternativa ao chá convencional, e que a escolha das espécies botânicas e o seu grau de maturidade necessitam ser cuidadosamente avaliados, dado o seu impacto na concentração de compostos bioativos (MONTEIRO et al., 2020).

De acordo com a tabela 4, a infusão com folha de café demonstrou maior concentração de ácido gálico na coluna antes do processo de digestão *in vitro*, enquanto as infusões com as três torras demonstraram menor concentração dentre as soluções analisadas. No entanto, após o processo de digestão os maiores teores foram das infusões com folha de amoreira e com torra média.

Comparando as infusões, antes e depois do processo de digestão *in vitro*, quase todas as infusões apresentaram aumento na concentração de ácido gálico, exceto a infusão com folha de café que apresentou redução na concentração. Entretanto, somente as infusões com folha de amoreira, torra clara e torra média tiveram aumento significativo de ácido gálico, após o processo de digestão (Tabela 4).

Tabela 4 - Teor de ácido gálico das infusões antes e depois da digestão *in vitro*

Ácido gálico (mg/L)			
Infusões	Antes	Depois	P valor
Folha de café	6.72 ^a	11.62 ^b	0.3714 ^{ns}
Folha de amoreira	1.58 ^b	22.44 ^a	0.0299 [*]
Torra clara	1.11 ^{bc}	9.93 ^b	0.0208 [*]
Torra média	0.97 ^{bc}	15.17 ^{ab}	0.0118 [*]
Torra escura	0.22 ^c	3.81 ^b	0.2437 ^{ns}

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, $p < 0.05$). A última coluna representa o valor de p obtido no teste t. ns: não há diferença significativa; * há diferença significativa entre as médias antes e depois da digestão, $*p < 0.05$.

A partir da tabela 5, a infusão com torra média demonstrou maior teor de teobromina na coluna antes do processo de digestão *in vitro*, enquanto a infusão com folha de amoreira demonstrou a menor concentração dentre as soluções analisadas. No entanto, após o processo de digestão os maiores teores foram das infusões com torra clara e torra média.

No estudo de Yildirim e colaboradores (2023) observou-se que a quantidade de rutina e ácido cafeico diminuiu com o aumento da temperatura de torra (YILDIRIM et al., 2023), pois tanto a rutina quanto o ácido cafeico possuem sensibilidade a elevadas temperaturas. A temperatura também promoveu diminuição dos valores de fenólicos totais, teobromina, cafeína, epicatequina e taninos condensados após a torra de amêndoas (ONELLI, 2021). Semelhante observado no presente estudo, onde as infusões contendo torra clara e torra média

tiveram maiores valores de ácido cafeico e teobromina comparada à infusão com torra escura, pois a quantidade de metabólitos sofre diminuição devido à reação que ocorre durante o processo de torra e aumento de temperatura (Tabelas 5 e 6).

Comparando as soluções, antes e depois do processo de digestão *in vitro*, todas as infusões apresentaram redução significativa de teobromina após o processo de digestão (Tabela 5).

Tabela 5 - Teor de teobromina das infusões antes e depois da digestão *in vitro*

Infusões	Teobromina (mg/L)		
	Antes	Depois	P valor
Folha de café	92.85 ^{cd}	35.63 ^{bc}	0.0059 ^{**}
Folha de amoreira	34.75 ^d	0.54 ^c	< 0.0001 ^{***}
Torra clara	392.38 ^b	84.85 ^a	0.0167 [*]
Torra média	1,166.05 ^a	64.26 ^{ab}	0.0041 ^{**}
Torra escura	234.85 ^{bc}	19.77 ^c	0.0410 [*]

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, $p < 0.05$). A última coluna representa o valor de p obtido no teste t. * há diferença significativa entre as médias antes e depois da digestão, $*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $***p < 0.001$.

De acordo com a tabela 6, a infusão contendo torra média, evidenciou maior concentração de ácido cafeico na coluna antes do processo de digestão *in vitro*, enquanto a infusão com folha de amoreira demonstrou menor teor dentre as soluções analisadas. Após o processo de digestão, a infusão que continha a torra média continuou com maior concentração.

Comparando as soluções, antes e depois do processo de digestão *in vitro*, todas as infusões apresentaram redução significativa no teor de ácido cafeico após o processo de digestão (Tabela 6).

Tabela 6 - Teor de ácido cafeico das infusões antes e depois da digestão *in vitro*

Infusões	Ácido cafeico (mg/L)		
	Antes	Depois	P valor
Folha de café	611.07 ^{ab}	158.22 ^{ab}	0.0136 [*]
Folha de amoreira	1.64 ^c	ND	0.0030 ^{**}
Torra clara	658.34 ^{ab}	116.16 ^{bc}	0.0119 [*]
Torra média	684.69 ^a	185.16 ^a	0.0007 ^{***}
Torra escura	541.22 ^b	90.37 ^c	0.0016 ^{**}

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, $p < 0.05$). A última coluna representa o valor de p obtido no teste t. * há diferença significativa entre as médias antes e depois da digestão, $*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $***p < 0.001$. ND: não detectado.

Segundo a tabela 7, a infusão constituída de folha de café, demonstrou maior teor de ácido clorogênico na coluna antes do processo de digestão *in vitro*, enquanto a infusão com

folha de amoreira e infusão de torra escura demonstraram menor concentração dentre as soluções analisadas. Comparando as infusões, antes e depois do processo de digestão *in vitro*, todas as infusões apresentaram redução significativa na concentração de ácido clorogênico após o processo de digestão (Tabela 7).

O maior nível de torração reduziu significativamente o ácido clorogênico e aumentou a cafeína em ambas as variedades de café (*Coffea arabica*), “Kona Typica” e “Catuaí Amarelo” (NERURKAR et al., 2023). Segundo Campos-Vega (2015), o teor de compostos fenólicos diminuiu significativamente, à medida que aumentou o nível de torra de média para escura (CAMPOS-VEGA et al., 2015). Isso corresponde ao maior teor de ácido clorogênico nas amostras de torra clara e média comparado aos extratos solúveis de café torrado escuro (VIGNOLI et al., 2014) (Tabela 7).

A degradação de compostos fenólicos foi observada quando as amostras foram expostas a altas temperaturas (ROSS; HOYE; FERNANDEZ-PLOTKA, 2011). O mesmo foi verificado no presente estudo, no qual a infusão contendo torra escura apresentou menor concentração de ácido clorogênico frente as outras infusões estudadas, sugerindo que quanto maior a temperatura empregada no processo de torra, menor a quantidade de compostos bioativos (Tabela 7).

Tabela 7 - Teor de ácido clorogênico das infusões antes e depois da digestão *in vitro*

Ácido clorogênico (mg/L)			
Infusões	Antes	Depois	p
Folha de café	1646.69 ^a	ND	0.0072 ^{**}
Folha de amoreira	296.23 ^c	14.50 ^b	0.0010 ^{**}
Torra clara	593.46 ^{bc}	75.18 ^a	0.0144 [*]
Torra média	891.72 ^b	56.39 ^a	0.0292 [*]
Torra escura	277.78 ^c	16.45 ^b	0.0033 ^{**}

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, $p < 0.05$). A última coluna representa o valor de p obtido no teste t. * há diferença significativa entre as médias antes e depois da digestão, $*p < 0.05$; $**p < 0.01$. ND: não detectado.

As atividades biológicas do ácido sirínico podem ser atribuídas a sua potente capacidade antioxidante, por seu núcleo fenólico com diferentes grupos funcionais (VO et al., 2020).

No estudo de Kamiloglu e colaboradores (2022), formulações de café Terebinto foram preparadas, a fim de estudar a bioacessibilidade dos polifenóis do terebinto, sendo os glicosídeos de quercetina e catequina, os principais flavonoides identificados nas formulações de terebinto, enquanto que os ácidos gálico, sirínico, protocatecuico e elágico foram

determinados como compostos não flavonoides (KAMILOGLU et al., 2022).

No presente estudo foi possível identificar nas infusões com diferentes torras, os ácidos gálico e siríntrico (Tabelas 7 e 8), antes do processo de digestão *in vitro*. Após a digestão, houve aumento na concentração de ácido siríntrico das infusões com torra clara e média, possivelmente devido à hidrólise da lignina por ácido sob aquecimento, gerando o ácido siríntrico, no entanto, não foi detectado o ácido siríntrico na infusão de torra escura (Tabela 8).

Comparando as infusões, antes e depois do processo de digestão *in vitro*, as infusões com torra clara e torra média apresentaram aumento significativo na concentração de ácido siríntrico após o processo de digestão (Tabela 8).

Tabela 8 - Teor de ácido siríntrico das infusões antes e depois da digestão *in vitro*

Ácido siríntrico (mg/L)			
Infusões	Antes	Depois	P valor
Folha de café	ND	ND	-
Folha de amoreira	ND	ND	-
Torra clara	22.01 ^a	39.39 ^a	0.0039**
Torra média	23.82 ^a	42.08 ^a	0.0020**
Torra escura	15.59 ^a	ND	-

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, $p < 0.05$). A última coluna representa o valor de p obtido no teste t. * há diferença significativa entre as médias antes e depois da digestão, ** $p < 0.01$. ND: não detectado.

5.3 Bioacessibilidade Após Digestão *in vitro*

Dentre os compostos fenólicos avaliados frente à bioacessibilidade, segundo a tabela 9, a trigonelina foi o composto que apresentou maior bioacessibilidade, sendo que os maiores percentuais de trigonelina foram das infusões contendo torra média (33,34%), folha de café (27,17%) e folha de amoreira (24,72%). Isso pode ser devido aos compostos fenólicos serem resistentes à alteração de pH e hidrólise enzimática (PINACHO et al., 2015). Além disso, os compostos fenólicos possuem baixo peso molecular o que favorece a sua estabilidade após a digestão intestinal (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014).

O ácido cafeico foi o segundo composto mais bioacessível, sendo os maiores valores observados nas infusões contendo torra média (18,52%) e folha de café (15,82%) (Tabela 9). No estudo de Wu e colaboradores (2022), o ácido cafeico foi mais bioacessível nos grãos de café com torra clara (WU et al., 2022).

Referente aos compostos teobromina e ácido clorogênico, os maiores percentuais foram provenientes das infusões contendo torra clara (8,49%; 7,52%) e torra média (6,43%; 5,64%), respectivamente (Tabela 9), no entanto, Wu e colaboradores (2022) verificaram que o ácido clorogênico foi mais bioacessível nos grãos de café com torras clara e escura (WU et

al., 2022). Em torno de 60% do ácido clorogênico em grãos de café não pode ser absorvido, pois necessita ser decomposto e liberado pelo ácido cafeico, por meio da microbiota intestinal, durante a fermentação do cólon devido à falta de esterase (CROZIER; DEL RIO; CLIFFORD, 2010).

Nardini e colaboradores (2002) observaram que o ácido clorogênico estava presente no café puro em concentrações elevadas, após hidrólise alcalina, enquanto os ácidos fenólicos livres não foram detectados. Além disso, detectaram ácido cafeico, em alta concentração, ácido ferúlico e ácido p-cumárico (NARDINI et al., 2002). Já no estudo de Soares (2018) foi observado que o ácido cafeico foi mais bioacessível nas bebidas de café com leite (169%), leite e açúcar (93%), somente açúcar (44%), comparadas à bebida de café pura (SOARES, 2018).

O ácido siríngico apresentou maior bioacessibilidade nos grãos de café com torra média e escura durante a digestão completa (WU et al., 2022), enquanto os presentes dados demonstraram que apenas a infusão com torra média apresentou maior bioacessibilidade (Tabela 9).

Alves e colaboradores (2021) ao avaliarem os fenólicos do café, verificaram que a bioacessibilidade dos fenólicos livres totais do café diminuiu ligeiramente durante a digestão simulada (87, 86 e 82% após as etapas oral, gástrica e intestinal, respectivamente). Predominantemente, os ácidos cafeico e ferúlico foram os metabólitos encontrados durante a fermentação intestinal do café (ALVES et al., 2021). Já os fenólicos ligados à melanoidina do café foram progressivamente liberados após as etapas gástrica e intestinal, provavelmente devido à hidrólise causada pelas condições ácidas do estômago e pela ação da pancreatina do fluido intestinal. As bioacessibilidades de todos os fenólicos das melanoidinas do café após as etapas gástrica e intestinal foram, em média, 11% (ALVES et al., 2021).

Em um estudo de Campos-Vega e colaboradores (2015), pode-se observar que a atividade antioxidante da bebida de café (*Coffea arabica* L.) aumentou durante a fase gástrica da digestão *in vitro*, apesar da redução significativa nos taninos condensados e flavonoides, no entanto, houve aumento de fenólicos totais. Além disso, os compostos antioxidantes do café de torra média e de escura foram afetados pela mudança de pH durante o processo de digestão *in vitro* gastrintestinal e da fermentação colônica (CAMPOS-VEGA et al., 2015).

Em relação às folhas de amoreira, até o presente momento, estudos avaliando a bioacessibilidade de compostos fenólicos contidos nelas são escassos. Com isso, as análises dos dados aqui apresentados foram comparados a dados de trabalhos que estudaram a fruta

amora.

A bioacessibilidade foi avaliada, após digestão *in vitro*, em suco de amora, o ácido clorogênico não foi detectado nos sucos, antes da digestão, porém verificou-se a presença deste, após o procedimento de digestão, além disso, a bioacessibilidade do ácido cafeico foi de 19,78%, já o ácido gálico não foi detectado após o processo de digestão (MIHAYLOVA et al., 2021). Os achados do presente estudo reforçam que a avaliação da bioacessibilidade de compostos fenólicos de infusões providas de folhas possa auxiliar na previsão dos possíveis efeitos nutracêuticos relacionados ao seu consumo.

Tabela 9 - Bioacessibilidade das infusões após digestão *in vitro*

Infusões	Bioacessibilidade (%)					
	Trigonelina	Ácido gálico	Teobromina	Ácido clorogênico	Ácido cafeico	Ácido siríngico
Folha de café	27.17 ^{ab}	1.16 ^b	3.56 ^{bc}	-	15.82 ^{ab}	-
Folha de amoreira	24.72 ^{abc}	2.46 ^a	0.05 ^c	1.45 ^b	-	-
Torra clara	9.39 ^{bc}	0.99 ^b	8.49 ^a	7.52 ^a	11.62 ^{bc}	3.93 ^a
Torra média	33.34 ^a	1.52 ^{ab}	6.43 ^{ab}	5.64 ^a	18.52 ^a	4.2 ^a
Torra escura	6.26 ^c	0.38 ^b	1.98 ^c	1.65 ^b	9.04 ^c	-

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, p<0.05).

5.4 Teor de Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante das Infusões

Ao analisar os fenólicos totais das infusões com diferentes torras pelo método de Folin-Ciocalteu observou-se que houve aumento do teor de fenólicos totais, conforme o maior grau de torração (Tabela 10), no entanto, estudos de Kurniawan e colaboradores (2017) e Sacchetti e colaboradores (2009), verificaram que as concentrações de compostos fenólicos dos extratos de café diminuiriam em resposta à temperatura de torra mais elevada (KURNIAWAN et al., 2017; SACCHETTI et al., 2009). A elevada temperatura no processo de torra pode degradar os compostos fenólicos.

Em um estudo utilizando extratos aquosos de *Coffea arabica* verificou-se elevada atividade antioxidante por meio do teste de DPPH com valor de IC50 igual a $32,28 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$, além disso, os extratos de folhas de café apresentaram valores de fenólicos totais iguais a $608,70 \pm 0,02 \text{mg EAG/g}$ (DO NASCIMENTO, 2022). No presente estudo, a infusão contendo folhas de café apresentou teores elevados de fenólicos totais (Tabela 10).

O teor de fenólicos totais foi analisado em infusões de folhas de amoreira (*Morus alba* L.) e verificou-se uma variação entre 129,93 e 390,89mg GAE/g de extrato, o processamento térmico da infusão reduziu o conteúdo de fenólicos totais quando comparado aos extratos de

folhas frescas em ambas as cultivares estudadas (PANYATIP et al., 2022). Diferente do observado no atual estudo, em que a infusão contendo folhas de amoreira apresentou maior teor de fenólicos totais (Tabela 10).

Tabela 10 - Teor de fenólicos totais das infusões

TFT (mg EAG/100mL)	
Infusões	
Folha de café	1.10 ^{bc}
Folha de amoreira	2.36 ^a
Torra clara	0.94 ^c
Torra média	0.84 ^c
Torra escura	1.23 ^b

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, $p < 0.05$).

Existem diversos relatos sobre o efeito do grau de torra ou do método de preparo do café frente à atividade antioxidante de infusões. Elevadas temperaturas utilizadas no processo de torração do café podem degradar polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos, principalmente o ácido clorogênico (KURNIAWAN et al., 2017).

De acordo com resultados obtidos no presente trabalho, a atividade antioxidante das infusões de café com diferentes torras diminuiu com o aumento do grau de torra, provavelmente devido à degradação de compostos fenólicos, como resultado do processo de torra (Tabelas 11 e 12). Ruiz e colaboradores (2007) demonstraram que compostos do café, como os ácidos cafeico e clorogênico, são responsáveis pela atividade antioxidante associada ao seu consumo (GÓMEZ-RUIZ; LEAKE; AMES, 2007). Assim, sugere-se que o aumento do grau de torra resultou em maior degradação dos compostos fenólicos, levando à diminuição da atividade antioxidante.

Demir e colaboradores (2018) determinaram a capacidade antioxidante de grãos de café Arábica com torra clara (180°C), média (205°C) e escura (210°C), produzidas pelo método de café Turco, no qual demonstrou-se que a bebida de café com torra clara teve maior capacidade antioxidante (DEMIR et al., 2018). Um maior tempo de torra e consequente coloração da torra, no caso, escura, reduziram a capacidade antioxidante, sendo indicativo de degradação térmica dos compostos bioativos, enquanto o café levemente torrado apresentou maior atividade antioxidante (JUNG et al., 2017; OPITZ et al., 2017). Como visto no presente estudo, a infusão com torra escura apresentou redução significativa da capacidade antioxidante pelo teste de DPPH (Tabela 11).

Esses resultados apontam que o processo de torra dos grãos de café para a obtenção das

infusões, exerceu influência sobre as características finais da bebida, como por exemplo, nos compostos bioativos. Assim, Dybkowska e colaboradores (2017) sugerem que, por questões nutricionais, o consumo de café com grau de torra clara ou média, é mais benéfico para a saúde humana (DYBKOWSKA et al., 2017).

Folhas de *Morus nigra* apresentaram maior teor de fenólicos totais e atividade antioxidante no teste de DPPH, quando comparadas aos seus frutos, além de um perfil cromatográfico distinto entre o extrato das folhas e o da polpa de amoreira preta (DE PÁDUA LÚCIO et al., 2018). Petrine e colaboradores (2022) demonstraram que a porcentagem de inibição do extrato de folhas de amoreira em sequestrar o radical DPPH foi de 73,44%, e apresentou atividade antioxidante pelo sistema beta-caroteno/ácido linoleico no valor de 44,77% (PETRINE et al., 2022). No atual estudo, a infusão contendo folhas de amoreira também apresentou maior capacidade antioxidante pelo teste de DPPH em relação as infusões analisadas (Tabela 11).

Shivangi e colaboradores (2021) observaram que os compostos fenólicos presentes em folhas da amoreira foram responsáveis pela maior atividade antioxidante de filme comestível constituído de extrato bruto de folha de amoreira em relação aos outros filmes estudados (SHIVANGI et al., 2021). Estas propriedades antioxidantes podem otimizar o prazo de validade de preparações alimentícias nas quais os processos de oxidação limitam o prazo de validade (ROHELA et al., 2020).

Portanto, a elevada capacidade antioxidante das folhas de amoreira é atribuída à abundância de fitoconstituintes como polifenóis, flavonoides, antocianinas, alcaloides, e apresentam ampla gama de atividades biológicas, como propriedades antimicrobianas, antioxidantes e imunorreguladoras, devido ao fato de conterem elevada concentração de compostos fenólicos (SHIN et al., 2021).

Tabela 11 - Capacidade antioxidante pelo teste de DPPH das infusões

DPPH (IC50 (mg/mL))	
Infusões	
Folha de café	52.21 ^{ab}
Folha de amoreira	57.52 ^a
Torra clara	39.69 ^c
Torra média	47.05 ^{bc}
Torra escura	30.09 ^d

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, $p < 0.05$). IC50: quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH.

A infusão com folha de café demonstrou maior atividade antioxidante pelo teste de beta-caroteno/ácido linoleico em relação as outras soluções analisadas (Tabela 12).

Tabela 12 - Capacidade antioxidante pelo teste de beta-caroteno/ácido linoleico das infusões

Beta-caroteno (mg/mL)	
Infusões	
Folha de café	91.91 ^a
Folha de amoreira	74.59 ^b
Torra clara	73.93 ^b
Torra média	78.22 ^b
Torra escura	68.32 ^b

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, $p < 0.05$).

5.5 Conteúdo de Ácido Oxálico e Taninos das Infusões

Apesar da positiva influência do consumo de infusões à saúde humana, esta contém, além de compostos de grande valor nutricional, substâncias que consumidas em grandes quantidades possam atuar como antinutrientes, como por exemplo, o ácido oxálico, que favorece à redução da utilização de alguns minerais da dieta, transformando-os em oxalatos insolúveis de baixíssima biodisponibilidade (HOLMES; ASSIMOS, 2004; JAEGER; ROBERTSON, 2004; TSAI et al., 2005). Outro exemplo, seriam os taninos que formam complexos com proteínas, tornando-as insolúveis e inativando enzimas. Além disso, se ligam a outras macromoléculas como o amido, causando redução no valor nutricional dos alimentos (CHUNG et al., 1998; GUZMÁN-MALDONADO et al., 2000).

No estudo de Rusinek (2012), os cafés instantâneos continham um teor de oxalatos maior do que infusões de cafés moídos naturais (RUSINEK, 2012). Estudos evidenciaram que infusões de cafés apresentaram menor concentração de ácido oxálico litogênico, em relação as infusões, porém não devem ser consumidos em quantidades ilimitadas (HÖNOW; HESSE, 2002; MARCASON, 2006). O processo de torra causou diminuição significativa na atividade do ácido fítico e do inibidor de tripsina dos grãos azuki, uma variedade do feijão (BOLEK, 2022).

Uma redução na atividade de inibidores de tripsina foi verificada após tratamentos térmicos em diversas sementes, incluindo sementes de *Sacha Inchi* (BUENO-BORGES et al., 2018) e de *Tamarindus indica* (OLUSEYI; TEMITAYO, 2015). Estes resultados corroboram com os dados do presente trabalho, mostrando redução significativa nas concentrações de ácido oxálico e taninos à medida que aumentou o grau de torra, principalmente na torra escura, isso pode ser atribuído à desnaturação de compostos devido à elevação de temperatura

de torra (Tabelas 13 e 14).

Gasińska e Gajewska (2007) confirmaram que mais de 80% das infusões quando consumidas em excesso, contribuíram para formação de cálculos renais em adultos na Polônia (GASIŃSKA; GAJEWSKA, 2007). Maior concentração de oxalato foi encontrada em chá preto (115.68 mg/100mL), enquanto que os menores teores foram observados nos chás vermelho (101.91 mg/100mL) e verde (87.64 mg/100mL) (RUSINEK, 2012). No presente estudo, a infusão contendo folhas de café apresentou maior concentração tanto de ácido oxálico (8,62 g/100mL) quanto de taninos (790,80 mg/100mL) comparado as outras infusões analisadas (Tabelas 13 e 14).

Com intuito de produzir uma bebida enriquecida com ácido γ -aminobutírico (GABA), cepas de *Saccharomyces cerevisiae* SC125 e de *Lactobacillus plantarum* BC114, sintetizadoras de GABA, foram utilizadas como espécies cooperativas para fermentar amoreira (*Morus alba* L.). Os dados demonstraram que, antes da cocultura, o substrato de amoreira apresentou 8,7 g/100mL de ácido oxálico, e ao final da fermentação, o teor de ácido oxálico aumentou para 9,2 g/100mL (ZHANG et al., 2020). No presente estudo, a infusão contendo folhas de amoreira apresentou menor concentração de ácido oxálico (2,09 g/100mL) comparado com as soluções estudadas (Tabela 13).

Tabela 13 - Conteúdo de ácido oxálico das infusões

Ácido Oxálico (g/100mL)	
Infusões	
Folha de café	8.62 ^a
Folha de amoreira	2.09 ^c
Torra clara	4.70 ^b
Torra média	4.96 ^b
Torra escura	1.81 ^c

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, p<0.05).

Tabela 14 - Conteúdo de taninos das infusões

Taninos (mg/100mL)	
Infusões	
Folha de café	790.80 ^a
Folha de amoreira	135.35 ^d
Torra clara	267.24 ^b
Torra média	261.70 ^b
Torra escura	226.93 ^c

Legenda: Letras diferentes (a,b,c,d), na coluna, representam diferenças estatísticas entre as infusões (teste Tukey, p<0.05).

6 CONCLUSÃO

Com base nos dados demonstrados, sugere-se que o processamento térmico do café influencie tanto na quantidade de compostos fenólicos quanto na atividade antioxidante presentes nas infusões de café, sendo a infusão de café constituída de torra escura, a que apresentou menor teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Foi observado também que após as ações das enzimas digestivas houve maiores valores de bioacessibilidade nas infusões contendo torras clara e média.

Os resultados obtidos neste estudo podem ser usados como referência para compreender as composições químicas das infusões com diferentes graus de torras e fornecer dados relevantes que apoiam o desenvolvimento e utilização de subprodutos do café como bebidas funcionais ou matéria-prima para extração de substâncias. A torração adequada pode melhorar a bioacessibilidade e manter uma concentração adequada de compostos fenólicos, que são benéficos à saúde humana.

As infusões de folhas de café e de folhas de amoreira possuem teores elevados de fenólicos totais e alta atividade antioxidante frente ao teste de DPPH e ao teste de beta-caroteno/ácido linoleico. Entretanto, a infusão contendo folhas de café contém altas concentrações de compostos antinutricionais, podendo influenciar na absorção de vários compostos importantes para o organismo.

Desse modo, sugere-se que as folhas de amoreira possuam um grande potencial na elaboração de produtos funcionais pois apresentam elevado teor de compostos fenólicos, alta atividade antioxidante, e baixa concentração de fatores antinutricionais. Com isso, abre-se caminhos para estudos com amoreira e valorização deste material vegetal na indústria de alimentos funcionais e nutracêuticos.

7 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- ABIC. **TENDÊNCIAS DE CONSUMO DE CAFÉ - VIII – 2010**. Disponível em: <http://consorcioquesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/EST_PESQTendenciasConsumo2010_Abic_Mapas.pdf>.
- ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p. 1799–1804, 2008.
- ACIDRI, R. et al. Phytochemical profile and antioxidant capacity of coffee plant organs compared to green and roasted coffee beans. **Antioxidants**, v. 9, n. 2, p. 93, 2020.
- AGNOLETTI, B. Z. et al. Discrimination of Arabica and conilon coffee from physicochemical properties allied to chemometrics. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 785–805, 2019.
- ALHARBI, W. D. M.; AZMAT, A.; AHMED, M. Comparative effect of coffee robusta and coffee arabica (Qahwa) on memory and attention. **Metabolic Brain Disease**, v. 33, n. 4, 2018.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, 2010.
- ALVES, G. et al. Bioaccessibility and Gut Metabolism of Free and Melanoidin-Bound Phenolic Compounds From Coffee and Bread. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, 2021.
- ALVES, J. D.; LIVRAMENTO, D. E. **Morfologia e fisiologia do cafeeiro**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003.
- AMIN, I.; NORAZAIDAH, Y.; HAINIDA, K. I. E. Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched Amaranthus species. **Food Chemistry**, v. 94, n. 1, 2006.
- BAEK, J. H. et al. Kahweol inhibits lipid accumulation and induces Glucose-uptake through activation of AMP-activated protein kinase (AMPK). **BMB Reports**, v. 50, n. 11, p. 566–571, 2017.
- BAGGENSTOSS, J. et al. Influence of Water Quench Cooling on Degassing and Aroma Stability of Roasted Coffee. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 6685–6691, 2007.
- BAIANO, A.; DEL NOBILE, M. A. Antioxidant Compounds from Vegetable Matrices: Biosynthesis, Occurrence, and Extraction Systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 12, p. 2053–2068, 2016.
- BAUER, D. et al. Effect of roasting levels and drying process of coffea canephora on the quality of bioactive compounds and cytotoxicity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, p. 1–19, 2018.

- BERNADO, W. DE P. et al. Biomass and leaf acclimations to ultraviolet solar radiation in juvenile plants of *Coffea arabica* and *C. Canephora*. **Plants**, v. 10, n. 640, p. 1–17, 2021.
- BERTRAND, C. et al. Chlorogenic acid content swap during fruit maturation in *Coffea pseudozanguebariae* Qualitative comparison with leaves. **Plant Science**, v. 165, n. 6, p. 1355–1361, 2003.
- BOLEK, S. Effects of roasting on bioavailability and bioactivities of *Vigna angularis* and potential of coffee-like beverage. **Journal of Food Science**, v. 87, n. 3, p. 911–918, 2022.
- BOLKA, M.; EMIRE, S. Effects of coffee roasting technologies on cup quality and bioactive compounds of specialty coffee beans. **Food Science and Nutrition**, v. 8, n. 11, p. 6120–6130, 2020.
- BOLZAN, V. C. **Efeito do extrato das folhas da *Morus nigra* sobre a citologia vaginal e níveis plasmáticos de hormônios sexuais femininos em ratas wistar**. [s.l.] Universidade Federal Ciências da Saúde de Porto Alegre, 2008.
- BOTELHO, C. E. et al. **Cultivares de café EPAMIG**. Disponível em: <http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/folder/cultivares_cafe_epamig.pdf>. Acesso em: 25 set. 2023.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BRANDT, A. et al. Consumption of decaffeinated coffee protects against the development of early non-alcoholic steatohepatitis: Role of intestinal barrier function. **Redox Biology**, v. 21, 1 fev. 2019.
- BRESCIANI, L. et al. Absorption, Pharmacokinetics, and Urinary Excretion of Pyridines After Consumption of Coffee and Cocoa-Based Products Containing Coffee in a Repeated Dose, Crossover Human Intervention Study. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 64, n. 18, p. 1–9, 2020.
- BREZOVÁ, V.; ŠLEBODOVÁ, A.; STAŠKO, A. Coffee as a source of antioxidants: An EPR study. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 859–868, 2009.
- BUDIMAN, A.; SULASTRI, A.; QORIAH, T. A. Chemical Compounds and Pharmacological Activity of *Morus Nigra* As a Potential Product of Drug: a Review. **International Research Journal Of Pharmacy**, v. 9, n. 6, p. 76–81, 2018.
- BUENO-BORGES, L. B. et al. Sacha inchi seeds from sub-tropical cultivation: effects of roasting on antinutrients, antioxidant capacity and oxidative stability. **Journal of Food**

Science and Technology, v. 55, n. 10, 2018.

BUTT, M. S.; SULTAN, M. T. Coffee and its consumption: Benefits and risks. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 4, p. 363–373, 2011.

CAMPA, C. et al. A survey of mangiferin and hydroxycinnamic acid ester accumulation in coffee (*Coffea*) leaves: biological implications and uses. **Annals of botany**, v. 110, n. 3, p. 595–613, 2012.

CAMPA, C.; PETITVALLET, A. Beneficial compounds from coffee leaves. In: [s.l.: s.n.].

CAMPOS-VEGA, R. et al. Simulated gastrointestinal digestion and in vitro colonic fermentation of spent coffee (*Coffea arabica* L.): Bioaccessibility and intestinal permeability. **Food Research International**, v. 77, p. 156–161, 2015.

CANELA, M. D. et al. Consumption of stimulant drinks and consequent ingestion of phenolic compounds and caffeine. **Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr**, v. 34, n. 1, p. 143–157, 2009.

CAPORASO, N. et al. Non-destructive analysis of sucrose, caffeine and trigonelline on single green coffee beans by hyperspectral imaging. **Food Research International**, v. 106, n. December 2017, p. 193–203, 2018.

CAPRIOLI, G. et al. The influence of different types of preparation (espresso and brew) on coffee aroma and main bioactive constituents. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 66, n. 5, 2015.

CARBONELL-CAPELLA, J. M. et al. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 2, 2014.

CARVALHO, A. M. et al. Relationship between the sensory attributes and the quality of coffee in different environments. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 38, p. 3607–3614, 2016.

CARVALHO, C. R. S. **POTENCIAL ANTIOXIDANTE E TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS DOS CHÁS DE HORTELÃ (*Mentha spicata*), CAMOMILA (*Matricaria chamomilla*) e CAPIM-CIDREIRA (*Cymbopogon citratus*)**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, 2019.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859–871, 2009.

CHAN, E. W. C.; LYE, P. Y.; WONG, S. K. **Phytochemistry, pharmacology, and clinical trials of *Morus alba*** **Chinese Journal of Natural Medicines**, 2016.

- CHANG, K. L.; HO, P. C. Gas chromatography time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF-MS)-based metabolomics for comparison of caffeinated and decaffeinated coffee and its implications for Alzheimer's disease. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, 2014.
- CHEN, X. **A review on coffee leaves: Phytochemicals, bioactivities and applications***Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019.
- CHEN, X.; MU, K.; KITTS, D. D. Characterization of phytochemical mixtures with inflammatory modulation potential from coffee leaves processed by green and black tea processing methods. **Food Chemistry**, v. 271, 2019.
- CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **The American journal of clinical nutrition**, v. 81, n. 1 Suppl, p. 223–229, 2005.
- CHOI, S.; JUNG, S.; KO, K. S. Effects of coffee extracts with different roasting degrees on antioxidant and anti-inflammatory systems in mice. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 1–13, 2018.
- CLIFFORD, M. N.; WIGHT, J. The measurement of feruloylquinic acids and caffeoylquinic acids in coffee beans. Development of the technique and its preliminary application to green coffee beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 27, n. 1, p. 73–84, 1976.
- CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5112-tecnicos-apuram-dados-para-o-3-levantamento-da-safra-de-cafe-2023>>. Acesso em: 28 set. 2023.
- CORDOBA, N. et al. Effect of grinding, extraction time and type of coffee on the physicochemical and flavour characteristics of cold brew coffee. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019.
- CORDOBA, N. et al. **Coffee extraction: A review of parameters and their influence on the physicochemical characteristics and flavour of coffee brews***Trends in Food Science and Technology*, 2020.
- COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2021.
- CROZIER, A.; DEL RIO, D.; CLIFFORD, M. N. **Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds***Molecular Aspects of Medicine*, 2010.
- CUI, H. et al. Flavonoids from morus alba L. Leaves: Optimization of extraction by response surface methodology and comprehensive evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and inhibition of α -amylase activities through analytical hierarchy process. **Molecules**, v. 24, n. 13, 2019.
- DAMATTA, F. M.; COCHICHO RAMALHO, J. D. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: A review. **Brazilian Journal of Plant**

Physiology, v. 18, n. 1, p. 55–81, 2006.

DAVIES, K. J. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. **Biochemical Society symposium**, v. 61, p. 1–31, 1995.

DAVIS, A. P. et al. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 152, n. 4, p. 465–512, 2006.

DE BARROS, M. C. et al. Evaluation of acute toxicity, 28-day repeated dose toxicity, and genotoxicity of *Moringa oleifera* leaves infusion and powder. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 296, 2022.

DE FREITAS, M. M. et al. Extracts of *Morus nigra* L Leaves Standardized in chlorogenic acid, rutin and isoquercitrin: Tyrosinase inhibition and cytotoxicity. **PLoS ONE**, v. 11, p. 1–24, 2016.

DE JESUS, N. Z. T. et al. **Tannins, peptic ulcers and related mechanisms** **International Journal of Molecular Sciences**, 2012.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Cafeína: Revisão sobre métodos de análise. **Quimica Nova**, v. 30, n. 1, p. 99–105, 2007.

DE PÁDUA LÚCIO, K. et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of black mulberry (*Morus nigra* L.) in a Model of LPS-Induced Sepsis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1–13, 2018.

DEMIR, E. et al. Electrochemical Evaluation of the Total Antioxidant Capacity of Yam Food Samples on a Polyglycine-Glassy Carbon Modified Electrode. **Current Analytical Chemistry**, v. 16, n. 2, 2018.

DEPAULA, J. et al. Volatile fingerprinting, sensory characterization, and consumer acceptance of pure and blended arabica coffee leaf teas. **Food Research International**, v. 173, n. P2, p. 113361, 2023.

DEWHIRST, R. A. et al. Novel insights into ascorbate retention and degradation during the washing and post-harvest storage of spinach and other salad leaves. **Food Chemistry**, v. 233, 2017.

DI MEO, S.; VENDITTI, P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1–32, 2020.

DIAS, J. L. C. DE S. et al. Métodos De Secagem De Amostras De Folhas De Café, Manga E Amora Na Determinação Da Matéria Seca E Nos Teores De Macronutrientes. **Nucleus**, v. 8, n. 2, p. 135–141, 2011.

DO CARVALHO, D. C. et al. Organic and Conventional *Coffea arabica* L.: A Comparative

- Study of the Chemical Composition and Physiological, Biochemical and Toxicological Effects in Wistar Rats. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 66, n. 2, p. 114–121, 2011.
- DO NASCIMENTO, G. O. **EXTRATOS DAS FOLHAS DE CAFÉ E DE SEUS PRINCIPAIS COMPOSTOS BIOATIVOS: AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE, 2022.
- DYBKOWSKA, E. et al. Assessing polyphenols content and antioxidant activity in coffee beans according to origin and the degree of roasting. **Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny**, v. 68, n. 4, 2017.
- ENDESHAW, H.; BELAY, A. Optimization of the roasting conditions to lower acrylamide content and improve the nutrient composition and antioxidant properties of *Coffea arabica*. **PLoS ONE**, v. 15, n. 8 August, p. 1–18, 2020.
- ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488–495, 2012.
- FANG, Y. Z.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, v. 18, n. 10, p. 872–879, 2002.
- FARAG, M. A. et al. **Metabolomics-Based Approach for Coffee Beverage Improvement in the Context of Processing, Brewing Methods, and Quality Attributes** Foods, 2022.
- FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, v. 98, n. 2, p. 373–380, 2006.
- FARAH, A. Coffee Constituents. **Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention**, p. 21–58, 2012.
- FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 23–36, 2006.
- FILHO, J. O. DE C. B. et al. Methodologies for determining oxalic acid in plant species consumed by humans: An integrative review. **Journal of Herbal Medicine**, v. 40, n. June, p. 100682, 2023.
- FROST-MEYER, N. J.; LOGOMARSINO, J. V. Impact of coffee components on inflammatory markers: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 4, p. 819–830, 2012.
- FROST, S. C.; RISTENPART, W. D.; GUINARD, J. X. Effect of Basket Geometry on the Sensory Quality and Consumer Acceptance of Drip Brewed Coffee. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 8, p. 2297–2312, 2019.
- FULLER, M.; RAO, N. Z. The Effect of Time, Roasting Temperature, and Grind Size on Caffeine and Chlorogenic Acid Concentrations in Cold Brew Coffee. **Scientific Reports**, v. 7,

n. 1, p. 1–9, 2017.

GASIŃSKA, A.; GAJEWSKA, D. Herbata i kawa jako główne źródło szczawianów w diecie pacjentów z kamicią szczawianową. **Roczn.**, v. 58, p. 61–67, 2007.

GÓMEZ-MAQUEO, A. et al. **Phenolic Compounds in Food**. FL, USA: CRC Press; Boca Raton, 2018.

GÓMEZ-MAQUEO, A.; ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z.; WELTI-CHANES, J. **Phenolic compounds in mesoamerican fruits—Characterization, health potential and processing with innovative technologies**. [s.l.: s.n.]. v. 21

GÓMEZ-RUIZ, J. Á.; LEAKE, D. S.; AMES, J. M. In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 17, 2007.

HABTEMARIAM, S. Protective Effects of Caffeic Acid and the Alzheimer's Brain: An Update. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 8, p. 667–674, 21 abr. 2017.

HALVORSEN, B. et al. Effect of a coffee lipid (cafestol) on cholesterol metabolism in human skin fibroblasts. **Journal of Lipid Research**, v. 39, n. 4, p. 901–912, 1998.

HAO, J. Y. et al. Effect of different planting areas on the chemical compositions and hypoglycemic and antioxidant activities of mulberry leaf extracts in southern China. **PLoS ONE**, v. 13, n. 6, 2018.

HE, H. et al. **Physiological and ecological significance of biomineralization in plants** **Trends in Plant Science**, 2014.

HERNÁNDEZ, J. A. et al. Analysis of the heat and mass transfer during coffee batch roasting. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 4, p. 1141–1148, 2007.

HIGASHIJIMA, N. S. et al. Fatores antinutricionais na alimentação humana. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 27, 2019.

HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Dietary flavonoids: Intake, health effects and bioavailability. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, n. 9–10, p. 937–942, 1999.

HOLMES, R. P.; ASSIMOS, D. G. **The impact of dietary oxalate on kidney stone formation** **Urological Research**, 2004.

HÖNOW, R.; HESSE, A. Comparison of extraction methods for the determination of soluble and total oxalate in foods by HPLC-enzyme-reactor. **Food Chemistry**, v. 78, n. 4, 2002.

HUSSAIN, F. et al. Phytopharmacological potential of different species of *Morus alba* and their bioactive phytochemicals: A review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 10, p. 950–956, 2017.

- IRIONDO-DEHOND, A. et al. **Effects of Coffee and Its Components on the Gastrointestinal Tract and the Brain – Gut Axis**. [s.l: s.n.].
- JAEGER, P.; ROBERTSON, W. G. **Role of dietary intake and intestinal absorption of oxalate in calcium stone formation***Nephron - Physiology*, 2004.
- JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, 2007.
- JUDPRASONG, K. et al. Total and soluble oxalate contents in Thai vegetables, cereal grains and legume seeds and their changes after cooking. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 4, 2006.
- JUNG, S. et al. Cellular Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Coffee Extracts with Different Roasting Levels. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 6, 2017.
- JYOTSHNA; KHARE, P.; SHANKER, K. **Mangiferin: A review of sources and interventions for biological activities***BioFactors*, 2016.
- KALT, W. R.: Concise Reviews / Hypotheses in Food Science Effects of Production and Processing Factors on Major Fruit and Vegetable Antioxidants. **Vol. 70, Nr. 1, 2005— JOURNAL OF FOOD SCIENCE R11**, v. 70, n. 1, 2005.
- KAMILOGLU, S. et al. Bioaccessibility of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) coffee polyphenols: Influence of milk, sugar and sweetener addition. **Food Chemistry**, v. 374, 2022.
- KARAMAĆ, M. Chelation of Cu(II), Zn(II), and Fe(II) by tannin constituents of selected edible nuts. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 12, 2009.
- KIM, C. H. et al. Interactive effect of post-harvest processing method, roasting degree, and brewing method on coffee metabolite profiles. **Food Chemistry**, v. 397, 2022.
- KIM, E. Y.; PAI, T. K.; HAN, O. Effect of bioactive dietary polyphenols on zinc transport across the intestinal caco-2 cell monolayers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 8, 2011.
- KLINGEL, T. et al. A Review of Coffee By-Products Including Leaf ., **Foods**, v. 9, p. 1–20, 2020.
- KURNIAWAN, M. F. et al. Metabolomic approach for understanding phenolic compounds and melanoidin roles on antioxidant activity of Indonesia robusta and arabica coffee extracts. **Food Science and Biotechnology**, v. 26, n. 6, 2017.
- LACERDA, M. J. R.; FREITAS, K. R.; SILVA, J. W. Determinação da matéria seca de forrageiras pelos métodos de microondas e convencional. **Bioscience Journal**, v. 25, n. 3, p. 185–190, 2009.

- LANGLAND, J. et al. Antiviral activity of metal chelates of caffeic acid and similar compounds towards herpes simplex, VSV-Ebola pseudotyped and vaccinia viruses. **Antiviral Research**, v. 160, n. October, p. 143–150, 2018.
- LEE, Y. G. et al. Value-Added Products from Coffee Waste: A Review. **Molecules**, v. 28, n. 8, p. 1–19, 2023.
- LI, S. et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, v. 51, p. 289–298, 2013.
- LIANG, N.; KITTS, D. D. Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions. **Nutrients**, v. 8, n. 1, p. 1–20, 2015.
- LIM, S. H.; CHOI, C. I. Pharmacological properties of morus nigra L. (Black Mulberry) as a promising nutraceutical resource. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 437, 2019.
- LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook: systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor**. 4th. ed. [s.l.] Long Beach: Specialty Coffee Association of America, 2011.
- LOFTFIELD, E. et al. Coffee drinking is widespread in the United States, but usual intake varies by key demographic and lifestyle factors. **Journal of Nutrition**, v. 146, n. 9, p. 1762–1768, 2016.
- LÓPEZ-GALILEA, I.; DE PEÑA, M. P.; CID, C. Correlation of selected constituents with the total antioxidant capacity of coffee beverages: Influence of the brewing procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6110–6117, 2007.
- LUDWIG, I. A. et al. Variations in caffeine and chlorogenic acid contents of coffees: What are we drinking? **Food and Function**, v. 5, n. 8, p. 1718–1726, 2014.
- MAHAJAN, R. et al. Antioxidant phenolic compounds from seeds of *Hordeum vulgare* Linn. Ameliorates diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Traditional Chinese Medical Sciences**, 2023.
- MANACH, C. et al. Polyphenols: Food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727–747, 2004.
- MARCASON, W. Where can I find information on the oxalate content of foods? **Journal of the American Dietetic Association**, v. 106, n. 4, 2006.
- MAZZAFERA, P. Mineral nutrition and caffeine content in coffee leaves. **Bragantia**, v. 58, n. 2, 1999.
- MEHAYA, F. M.; MOHAMMAD, A. A. Thermostability of bioactive compounds during roasting process of coffee beans. **Heliyon**, v. 6, n. 11, p. e05508, 2020.
- MIHAYLOVA, D. et al. Impact of in vitro gastrointestinal digestion on the bio accessibility

- of phytochemical compounds from eight fruit juices. **Molecules**, v. 26, n. 4, 2021.
- MINEKUS, M. et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. **Food and Function**, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014.
- MOEENFARD, M.; ROCHA, L.; ALVES, A. Quantification of caffeoylquinic acids in coffee brews by HPLC-DAD. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2014, 2014.
- MONTEIRO, Â. et al. Dietary antioxidants in coffee leaves: Impact of botanical origin and maturity on chlorogenic acids and xanthones. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, 2020.
- MONTEIRO, M. C.; FARAH, A. Chlorogenic acids in Brazilian Coffea arabica cultivars from various consecutive crops. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 611–614, 2012.
- MONTEIRO, M. C.; TRUGO, L. C. Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 637–641, 2005.
- MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, 2021.
- MURAI, T.; MATSUDA, S. The Chemopreventive Effects of Chlorogenic Acids, Phenolic Compounds in Coffee, against Inflammation, Cancer, and Neurological Diseases. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 1–14, 2023.
- MURGIA, E.; RICHARDS, P.; WALTON, H. F. . J. Chromatogr. v. 87, p. 52331, 1973.
- MURTHY, P. S.; MADHAVA NAIDU, M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition - A review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 66, p. 45–58, 2012.
- MUZYKIEWICZ-SZYMAŃSKA, A. et al. The effect of brewing process parameters on antioxidant activity and caffeine content in infusions of roasted and unroasted arabica coffee beans originated from different countries. **Molecules**, v. 26, n. 12, 2021.
- NADERI, G. A. et al. Antioxidant activity of three extracts of Morus nigra. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 365–369, 2004.
- NAIK, V. V et al. METHODOLOGY IN DETERMINATION OF OXALIC ACID IN PLANT TISSUE: A COMPARATIVE APPROACH. **Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences Journal**, v. 5, n. 2, p. 1662–1672, 2014.
- NARDINI, M. et al. Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 20, p. 5735–5741, 2002.
- NASO, L. et al. Promising antioxidant and anticancer (human breast cancer) oxidovanadium(IV) complex of chlorogenic acid. Synthesis, characterization and spectroscopic examination on the transport mechanism with bovine serum albumin. **J Inorg**

Biochem ., v. 135, p. 86–99, 2014.

NERURKAR, P. V. et al. Medium Roasting and Brewing Methods Differentially Modulate Global Metabolites, Lipids, Biogenic Amines, Minerals, and Antioxidant Capacity of Hawai'i-Grown Coffee (*Coffea arabica*). **Metabolites**, v. 13, n. 3, 2023.

NISETEO, T. et al. Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation technique and milk addition. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 1870–1877, 2012.

NOVAES, F. J. M. et al. THE OCCURRENCE OF CAFESTOL AND KAHWEOL DITERPENES IN DIFFERENT COFFEE BREWS. **Coffee Science**, v. 14, n. 2, p. 265–280, 2019.

OLIVEIRA, A. C. B. et al. Avaliação toxicológica pré-clínica do chá das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 244–249, 2013.

OLUSEYI, E. O.; TEMITAYO, O. M. Chemical and functional properties of fermented, roasted and germinated tamarind (*Tamarindus indica*) seed flours. **Nutrition and Food Science**, v. 45, n. 1, 2015.

ONELLI, R. R. V. **INFLUÊNCIA DA TORRA NA QUALIDADE DE CHOCOLATES DESENVOLVIDOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MASSA DE CACAU**. [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB, 2021.

OPITZ, S. E. W. et al. **Understanding the Effects of Roasting on Antioxidant Components of Coffee Brews by Coupling On-line ABTS Assay to High Performance Size Exclusion Chromatography**. Phytochemical Analysis. **Anais...**2017

PADILHA, M. M. et al. Estudo farmacobotânico das folhas de amoreira-preta, *Morus nigra* L., Moraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 621–626, 2010a.

PADILHA, M. M. et al. Antiinflammatory properties of *Morus nigra* leaves. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 10, p. 1496–1500, 2010b.

PALMIERI, F. et al. Oxalic acid, a molecule at the crossroads of bacterial-fungal interactions. In: **Advances in Applied Microbiology**. [s.l: s.n.]. v. 106.

PANYATIP, P. et al. and Flavonoid Contents in Mulberry (*Morus alba* L .) Leaves : **Molecules**, v. 27, n. 4979, p. 1–9, 2022.

PATAY, É. B. et al. Histological and phytochemical studies of *Coffea benghalensis* B. Heyne ex Schult., compared with *Coffea arabica* L. **Farmacía**, v. 64, n. 1, p. 125–130, 2016.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. D. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. November, 2012.

- PERRONE, D. et al. Modeling weight loss and chlorogenic acids content in coffee during roasting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 23, p. 12238–12243, 2010.
- PERRONE, D.; DONANGELO, C. M.; FARAH, A. Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography-mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 1030–1035, 2008.
- PETRINE, J. C. P. et al. Beneficial Effects of Flaxseed and/or Mulberry Extracts Supplementation in Ovariectomized Wistar Rats. **Nutrients**, v. 14, n. 15, 2022.
- PETRY, N. et al. Polyphenols and phytic acid contribute to the low iron bioavailability from common beans in young women. **Journal of Nutrition**, v. 140, n. 11, 2010.
- PIMENTA, C. J. **Qualidade de Café**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2020.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 15. ed. Piracicaba: [s.n.].
- PINACHO, R. et al. Phenolic compounds of blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and influence of in vitro digestion on their antioxidant capacity. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 49–62, 1 dez. 2015.
- POLUMACKANYCZ, M.; WESOŁOWSKI, M.; VIAPIANA, A. *Morus alba* L. and *Morus nigra* L. Leaves as a Promising Food Source of Phenolic Compounds with Antioxidant Activity. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 76, n. 4, p. 458–465, 2021.
- POOLE, R. et al. Coffee consumption and health: umbrella review of meta-analyses of multiple health outcomes. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 359, p. j5024, 2017.
- PRIFTIS, A. et al. Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods. **Molecular Medicine Reports**, v. 12, n. 5, p. 7293–7302, 1 set. 2015.
- RABELO, D. M. et al. Influência do método de extração de café no perfil químico e atividade antioxidante “in vitro” e “in vivo” nas bebidas. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 9, n. 2, p. 150, 2018.
- RAO, N. Z.; FULLER, M.; GRIM, M. D. Physicochemical characteristics of hot and cold brew coffee chemistry: The effects of roast level and brewing temperature on compound extraction. **Foods**, v. 9, n. 7, 2020.
- REN, Y. et al. Cafestol and kahweol: A review on their bioactivities and pharmacological properties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 17, 2019.
- RODRIGUES, N. P.; SALVA, T. D. J. G.; BRAGAGNOLO, N. Influence of Coffee Genotype on Bioactive Compounds and the in Vitro Capacity To Scavenge Reactive Oxygen and Nitrogen Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 19, p. 4815–

4826, 2015.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 235–254, 2005.

ROHELA, G. K. et al. **Mulberry (Morus spp.): An ideal plant for sustainable development** *Trees, Forests and People*, 2020.

ROSENDAHL, A. H. et al. **Caffeine and caffeic acid inhibit growth and modify estrogen receptor and insulin-like growth factor i receptor levels in human breast cancer.** [s.l: s.n.]. v. 21

ROSS, C. F.; HOYE, C.; FERNANDEZ-PLOTKA, V. C. Influence of Heating on the Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of Grape Seed Flour. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 6, 2011.

RUFINO, M. DO S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)** Embrapa Agroindústria Tropical, , 2006.

RUFINO, M. DO S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Embrapa Agroindústria Tropical, , 2007.

RUSINEK, E. Evaluation of soluble oxalates content in infusions of different kinds of tea and coffee available on the Polish market. **Roczniki Państwowego Zakładu Higieny**, v. 63, n. 1, 2012.

RYAN, L.; PRESCOTT, S. L. Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to an in vitro digestion. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 6, p. 1191–1197, 2010.

SACCHETTI, G. et al. Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 1, 2009.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270–276, 1998.

SCA. **SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION – SCA.** Disponível em: <<https://www.home-barista.com/roasting/what-agtron-color-would-you-consider-full-city-roast-t67937.html>>.

SCA. **2023 National Coffee Data Trends Specialty Coffee Report Now Available.**

Disponível em: <<https://sca.coffee/sca-news/2023-national-coffee-data-trends-specialty-coffee-report-now-available>>. Acesso em: 3 abr. 2024.

SCAA. **SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA**. Roasting workshop. In: ANNUAL COFERENCE E EXHIBITION. **Anais...**Atlanta: SCAA, 2004

SCHEPICI, G. et al. Caffeine: An overview of its beneficial effects in experimental models and clinical trials of parkinson's disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 13, p. 1–26, 2020.

SEKIYAMA, B. L. et al. Aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in maize-based food products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 3, p. 289–294, 2005.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757–781, 2015.

SHEN, X. et al. Comparison of chemical compositions, antioxidant activities, and acetylcholinesterase inhibitory activities between coffee flowers and leaves as potential novel foods. **Food Science and Nutrition**, v. 11, n. 2, p. 917–929, 2023.

SHIN, S. K. et al. Mulberry fruit improves memory in scopolamine-treated mice: role of cholinergic function, antioxidant system, and TrkB/Akt signaling. **Nutritional Neuroscience**, v. 24, n. 12, 2021.

SHIVANGI, S. et al. Development and characterisation of a pectin-based edible film that contains mulberry leaf extract and its bio-active components. **Food Hydrocolloids**, v. 121, n. July, p. 107046, 2021.

SILVA, L. C. DA; MORELI, A. P.; JOAQUIN, T. N. M. Café: beneficiamento e industrialização. **Café Amazônia**, p. 383–398, 2015.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Methods for the evaluation of the degree of lipid oxidation and the antioxidant activity. **Quimica Nova**, v. 22, n. 1, 1999.

SMERIGLIO, A. et al. **Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects***British Journal of Pharmacology*, 2017.

SOARES, M. J. **Avaliação do efeito da adição de ingredientes sobre os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante das cápsulas de café expresso e sua bioacessibilidade**. [s.l.] USP, 2018.

SOCALA, K. et al. Neuroprotective effects of coffee bioactive compounds: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 1–64, 2021.

SOUZA, C. G. DE et al. Fatores anti-nutricionais de importância na nutrição animal: Estratégias de diminuição dos efeitos anti-nutricionais. **Pubvet**, v. 13, n. 5, 2019.

- SPEER, K.; KÖLLING-SPEER, I. The lipid fraction of the coffee bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 201–216, 2006.
- SREBERNICH, S. M. et al. Influência do tipo de filtro no teor de cafeína de bebidas de café Effect of filter type on the caffeine contents in the coffee beverages. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 1, p. 29–33, 2009.
- STADLER, R. H. et al. Alkylpyridiniums. 1. Formation in model systems via thermal degradation of trigonelline. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 5, p. 1192–1199, 2002.
- STENNERT, A.; MAIER, H. G. Trigonelline in coffee II. Content of green, roasted and instant coffee Angela. **Z Lebensm Unters Forsch**, v. 199, p. 198–200, 1994.
- TAGLIAZUCCHI, D. et al. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2, p. 599–606, 2010.
- TALAMOND, P. et al. First report on mangiferin (C-glucosyl-xanthone) isolated from leaves of a wild coffee plant, *Coffea pseudozanguebariae* (Rubiaceae). **Acta Botanica Gallica**, v. 155, n. 4, p. 513–519, 2008.
- TARAM, F.; WINTER, A. N.; LINSEMAN, D. A. Neuroprotection comparison of chlorogenic acid and its metabolites against mechanistically distinct cell death-inducing agents in cultured cerebellar granule neurons. **Brain Research**, v. 1648, p. 69–80, 2016.
- TONHI, E. et al. Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 616–623, 2002.
- TRANI, P. E.; HIROCE, R.; BATAGLIA, O. C. A. **Análise foliar: amostragem e interpretação**. Campinas: Fundação Cargil, 1983.
- TRITSCH, N. et al. Coffee Leaf Tea. **Foods**, v. 11, n. 3, p. 1–20, 2022.
- TSAI, J. et al. Comparison of Oxalate Content in Foods and Beverages in Taiwan. **Journal of Taiwan Urology Association**, v. 16, n. 3, 2005.
- UKERS, W. **All about coffee**. New York: The Tea & Coffee Trade Journal Company, 1935.
- ULLRICH, S. et al. Feeling smart: Effects of caffeine and glucose on cognition, mood and self-judgment. **Physiology and Behavior**, v. 151, p. 629–637, 2015.
- VAN CRUCHTEN, S. T. J. et al. The role of epoxidation and electrophile-responsive element-regulated gene transcription in the potentially beneficial and harmful effects of the coffee components cafestol and kahweol. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 21, n. 8, p. 757–763, 2010.

- VANONI, A. P. N. B. **Avaliação da atividade fitoestrogênica do extrato hidroalcoólico e da infusão das folhas de Morus nigra L.** [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.
- VIGNOLI, J. A. et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International**, v. 61, p. 279–285, 2014.
- VO, Q. V. et al. Theoretical and Experimental Studies of the Antioxidant and Antinitrosant Activity of Syringic Acid. **Journal of Organic Chemistry**, v. 85, n. 23, 2020.
- WANG, C. et al. Immediate Psychological Responses and Associated Factors during the Initial Stage of the 2019 Coronavirus Disease (COVID-19) Epidemic among the General Population in China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 5, p. 1729, 6 mar. 2020.
- WANG, L.; GONG, T.; CHEN, R. Y. Two new prenylflavonoids from *Morus nigra* L. **Chinese Chemical Letters**, v. 20, n. 12, p. 1469–1471, 2009.
- WANG, L. N. et al. Synthesis, anti-HCV, antioxidant and reduction of intracellular reactive oxygen species generation of a chlorogenic acid analogue with an amide bond replacing the ester bond. **Molecules**, v. 21, n. 6, p. 1–9, 2016.
- WATERHOUSE, A. L. Determination of Total Phenolics. In: JOHN WILEY & SONS (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: [s.n.]. p. I1.1.8.
- WESTERTERP-PLANTENGA, M. et al. Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. **Physiology and Behavior**, v. 89, n. 1, p. 85–91, 2006.
- WIJEWICKREME, A. N.; KITTS, D. D. Modulation of metal-induced genotoxicity by Maillard reaction products isolated from coffee. **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, n. 7, p. 543–553, 1998.
- WOJTUNIK-KULESZA, K. et al. Influence of in vitro digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols—a non-systematic review. **Nutrients**, v. 12, n. 5, 2020.
- WU, H. et al. Bioaccessibility and bioactivities of phenolic compounds from roasted coffee beans during in vitro digestion and colonic fermentation. **Food Chemistry**, v. 386, n. March, p. 132794, 2022.
- XU, D. P. et al. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, p. 20–31, 2017.
- XU, F. et al. Does acute caffeine ingestion alter brain metabolism in young adults?

NeuroImage, v. 110, p. 39–47, 2015.

XU, K. et al. Estrogen prevents neuroprotection by caffeine in the mouse 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 2, p. 535–541, 2006.

YILDIRIM, S. et al. Use of electrochemical methods to determine the effect of brewing techniques (Espresso, Turkish and Filter coffee) and roasting levels on the antioxidant capacity of coffee beverage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 7, 2023.

ZHANG, Q. et al. Characterization of γ -aminobutyric acid (GABA)-producing *Saccharomyces cerevisiae* and coculture with *Lactobacillus plantarum* for mulberry beverage brewing. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 129, n. 4, p. 447–453, 2020.

ANEXOS**ANEXO 1**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
LAVRAS

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, BIOACESSIBILIDADE E ACEITAÇÃO SENSORIAL DE INFUSÃO DE CAFÉ ADICIONADA DE FOLHAS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) OU DE AMOREIRA (*Morus nigra*).

Pesquisador: JESSICA PETRINE CASTRO PEREIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 52354021.0.0000.5148

Instituição Proponente: Universidade Federal de Lavras

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.098.267

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
LAVRAS



Continuação do Parecer: 5.098.267

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LAVRAS, 10 de Novembro de 2021

Assinado por:
ALCINÉIA DE LEMOS SOUZA RAMOS
(Coordenador(a))

ANEXO 2

Consumo e Preparo do Café

<https://docs.google.com/forms/u/0/d/1f0JhBmsrPQLgMptcXLcSuwZA..>

Consumo e Preparo do Café

O café está entre as bebidas quentes mais consumidas em todo o mundo, e sua popularidade deve-se, principalmente, ao seu sabor característico e efeito estimulante. A bebida de café, elaborada a partir de grãos torrados, originam uma infusão final agradável ao olfato e paladar, sendo o perfil de torra dos grãos diretamente influente no sabor, aroma e benefícios para a saúde humana. Assim, é importante conhecer o tipo de preparo e consumo de café mais frequente entre os consumidores, visando auxiliar na introdução de uma nova bebida à base de café, com alegação de propriedade funcional.

Desse modo, você que é maior de 18 anos, que consome regularmente e prepara o próprio café, está sendo convidado a participar de uma pesquisa que irá abordar questões relacionadas ao consumo e preparo do café, de forma totalmente voluntária e on-line, promovida por pesquisadores do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A aplicação desse questionário está aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COEP/UFLA).

***Obrigatório**

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Link para acesso ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE):

<https://drive.google.com/file/d/1Z0Hx-9s5AUBftlGYbm7apjBdXagr4fVa/view?usp=sharing>

1. Em relação ao TCLE: *

Marcar apenas uma oval.

- Concordo e quero participar *Pular para a pergunta 2*
- Não concordo e não quero participar

Consumo e Preparo do Café

2. Sexo

Marcar apenas uma oval.

- Feminino
- Masculino
- Prefiro não informar

3. Faixa etária *

Marcar apenas uma oval.

- 18 a 28 anos
- 29 a 39 anos
- 40 a 50 anos
- 51 a 61 anos
- 62 a 72 anos
- 73 anos ou mais

4. Cidade/Estado *

5. Consumo de café em cafeterias, lanchonetes, padarias etc. *

Marcar apenas uma oval.

- Sim
- Não
- Outro: _____

6. Preparo do próprio café *

Marcar apenas uma oval.

- Sim
- Não

7. Filtro Utilizado *

Marcar apenas uma oval.

- Papel
- Lavável e reutilizável (polipropileno)
- Pano
- Aço Inox
- Organza
- Outro: _____

8. Cor do pó de café (relacionado ao tipo de torra) *

Marcar apenas uma oval.

- Pó de café com torra clara
- Pó de café com torra média
- Pó de café com torra escura

9. Quantidade de pó de café/xícara de água *

Marcar apenas uma oval.

- 1 medida (1 colher de sopa rasa)/xícara de água
- 1 medida (1 colher de sopa cheia)/xícara de água
- 2 medidas (2 colheres de sopa rasa)/xícara de água
- 2 medidas (2 colheres de sopa cheia)/xícara de água
- 3 medidas (3 colheres de sopa rasa) ou mais/xícara de água
- 3 medidas (3 colheres de sopa cheia) ou mais/xícara de água
- Outro: _____

10. Temperatura da Água *

Marcar apenas uma oval.

- Ebulição (formação de bolhas na superfície)
- Sem ebulição (sem formação de bolhas na superfície)
- Outro: _____

11. Adição de *

Marcar apenas uma oval.

- Açúcar
- Adoçante
- Sem adição
- Outro: _____

12. Ingestão do café *

Marcar apenas uma oval.

- Puro
- Com leite
- Com chá
- Outro: _____

13. Quantidade consumida de xícara(s) de café por dia *

ANEXO 3



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS-COEP

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

Prezado(a) Senhor(a), você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa de forma totalmente voluntária da Universidade Federal de Lavras. Antes de concordar, é importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento. Será garantida, durante todas as fases da pesquisa: sigilo; privacidade; e acesso aos resultados.

I - Título do trabalho experimental:

PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, BIOACESSIBILIDADE E ACEITAÇÃO SENSORIAL DE INFUSÃO DE CAFÉ ADICIONADA DE FOLHAS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) OU DE AMOREIRA (*Morus nigra*).

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Carlos José Pimenta

Cargo/Função: Professor

Pesquisador(es) participante(s): Jéssica Petrine Castro Pereira

Instituição/Departamento: Universidade Federal de Lavras/Departamento de Ciência dos Alimentos

Telefone para contato: (35) 991398207

Local da coleta de dados: plataforma Google Forms (Alphabet, Mountain View, CA, EUA)

II - OBJETIVOS

Realizar uma coleta de dados através de um método simples e rápido, via Google Forms, com a finalidade de obter informações relacionadas ao consumo e preparo do café.

III – JUSTIFICATIVA

O Brasil é o segundo maior consumidor de café do mundo, sendo o preferido dos brasileiros, o café coado. Porém, para se obter a infusão de café é necessário que este seja torrado e moído. Para isso, conhecer o hábito de consumo e preparo do café irá auxiliar no desenvolvimento de uma nova bebida à base de café, com alegação de propriedade funcional.

IV - PROCEDIMENTOS DO EXPERIMENTO

AMOSTRA - Participarão desta pesquisa homens e mulheres com idade acima de 18 anos, que consomem regularmente e preparam o próprio café.

A pesquisa será conduzida via Google Forms e será compartilhada via redes sociais, com intuito de coletar as respostas do questionário. Esses dados serão utilizados para analisar o consumo e preparo do café.

V - RISCOS ESPERADOS

Para confecção do questionário on-line a ser aplicado, este será elaborado de forma clara, objetiva, com intuito de minimizar possíveis desconfortos psicológicos ao participante, durante o seu preenchimento.

VI – BENEFÍCIOS

Os dados coletados, por meio do questionário on-line, poderão gerar informações pertinentes relacionadas ao consumo e preparo do café, com intuito de buscar a melhor forma de preparo e consumo para o desenvolvimento de uma nova bebida à base de café, com alegação de propriedade funcional.

VII – CRITÉRIOS PARA SUSPENDER OU ENCERRAR A PESQUISA

Como não há previsão de riscos significativos, a pesquisa possivelmente será encerrada ao final da aplicação do questionário.

Campus Universitário da UFLA, Caixa Postal 3037
37200-000 Lavras-MG – Brasil
E-mail: coep@nintec.ufla.br

Fone 35 3829 5182
CNPJ: 22.078.679/0001-74
Site: http://www.prp.ufla.br/site/?page_id=440



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS-COEP

VIII - CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Projeto de Pesquisa.

Lavras, 13 de Janeiro de 2022.

ATENÇÃO! Por sua participação, você: não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira; será ressarcido de despesas que eventualmente ocorrerem; será indenizado em caso de eventuais danos decorrentes da pesquisa; e terá o direito de desistir a qualquer momento, retirando o consentimento sem nenhuma penalidade e sem perder quaisquer benefícios. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos da UFLA. Endereço – Campus Universitário da UFLA, Pró-reitoria de pesquisa, COEP, caixa postal 3037. Telefone: 3829-5182.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada com o pesquisador responsável e a outra será fornecida a você.

No caso de qualquer emergência entrar em contato com o pesquisador responsável no Departamento de Ciência dos Alimentos. Telefones de contato: 035 999740320.