



**GISELLE FIGUEIREDO DE ABREU**

**INDICADORES QUÍMICOS DO ENVELHECIMENTO DE  
CAFÉ ARÁBICA DURANTE O ARMAZENAMENTO**

**LAVRAS - MG**

**2018**

**GISELLE FIGUEIREDO DE ABREU**

**INDICADORES QUÍMICOS DO ENVELHECIMENTO DE CAFÉ ARÁBICA  
DURANTE O ARMAZENAMENTO**

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

Prof. Dr. Flávio Meira Borém

Orientador

Profa. Dra. Luisa Pereira Figueiredo

Coorientadora

**LAVRAS - MG**

**2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA,  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Abreu, Giselle Figueiredo de.

Indicadores químicos do envelhecimento de café arábica  
durante o armazenamento / Giselle Figueiredo de Abreu. - 2018.  
154 p. : il.

Orientador: Flávio Meira Borém.

Coorientadora: Luisa Pereira Figueiredo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Cafés especiais. 2. Deterioração. 3. Espectroscopia Raman.  
I. Borém, Flávio Meira. II. Figueiredo, Luisa Pereira. III. Título.

**GISELLE FIGUEIREDO DE ABREU**

**INDICADORES QUÍMICOS DO ENVELHECIMENTO DE CAFÉ ARÁBICA  
DURANTE O ARMAZENAMENTO**

**CHEMICAL INDICATORS OF ARABICA COFFEE AGING PROCESS DURING  
STORAGE**

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

APROVADA em 01 de Março de 2018.

Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira

UFJF

Prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira

UFSCAR

Prof. Dr. Teodorico de Castro Ramalho

UFLA

Dra. Vanusia Nogueira

BSCA

Prof. Dr. Flávio Meira Borém

Orientador

Profa. Dra. Luisa Pereira Figueiredo

Coorientadora

**LAVRAS - MG**

**2018**

## AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Universidade Federal de Lavras e ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, pela oportunidade de realizar o doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao meu orientador Flávio, pela orientação e por ter sido um dos grandes mestres que Deus colocou em meu caminho.

Às empresas Bourbon Specialty Coffee, Carmo Coffees pelo fornecimento da matéria-prima.

À BSCA, à Apex-Brasil, à Videplast e à Klabin pelo apoio ao projeto.

Aos professores Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira, Dra. Mariana Ramos de Almeida e Dr. Antônio Gilberto Ferreira e suas equipes por disponibilizarem recursos físicos e intelectuais para a realização do trabalho.

Aos membros da banca e à coorientadora Luisa Pereira Figueiredo.

Ao Fabricio, estudante responsável pela coleta de dados inicial do projeto.

Aos colegas do Laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas (DEG-UFLA) pelo auxílio na condução do trabalho.

À Daniela e Gabriel, bolsistas do projeto e à Ana Paula, laboratorista do Laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA.

Aos meus pais e familiares pelo amor, carinho e incentivo.

Ao João Paulo e à sua família, pelo carinho e os momentos de descontração.

## RESUMO GERAL

Durante o armazenamento dos grãos crus de café, ocorrem alterações metabólicas que afetam a qualidade sensorial do produto. Atualmente, a embalagem mais utilizada no mundo, para acondicionar o café cru, é a sacaria de juta, permeável, que proporciona maior exposição do café às condições ambientais favorecendo maior redução da qualidade. Inúmeras pesquisas já avaliaram tecnologias, para o acondicionamento do café cru e identificaram embalagens capazes de reduzir a taxa de redução da qualidade. Apesar dos avanços na área, nenhuma embalagem em uso tem a capacidade de manter a qualidade inicial do café. Ainda que em taxas mínimas, ocorre deterioração dos grãos resultando na redução da complexidade da bebida e são descritos com sabor e aroma característicos de café velho, como papel, papelão e madeira. Essa redução na qualidade tem grande impacto, no mercado de cafés especiais, visto que, dependendo da intensidade dessas características, os cafés não são mais considerados especiais. A maioria dos estudos de armazenamento de café cru utiliza técnicas analíticas específicas, para determinados grupos de compostos químicos, com o objetivo de explicar o fenômeno do envelhecimento dos grãos. Mas a dinâmica de transformações que ocorre nos grãos durante o armazenamento é complexa e não se limita a alterações em grupos químicos específicos, deixando abertas várias questões a respeito do envelhecimento do café. Acredita-se, assim, que metodologias modernas da análise de alimentos capazes de fornecer panorama completo dos compostos químicos possuem elevado potencial, para esclarecer o fenômeno e possam trazer benefícios à gestão e controle da indústria de cafés especiais. Neste contexto, o presente trabalho utilizou técnicas espectroscópicas e cromatográficas para abordar o fenômeno do envelhecimento dos grãos crus de café arábica. O estudo foi dividido em três artigos com o objetivo de determinar indicadores químicos do envelhecimento dos grãos crus de *Coffea arabica* L. antes de afetar a qualidade sensorial empregando (i) espectroscopia Raman nos grãos crus e (ii) espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  nos grãos crus e (iii) cromatografia gasosa com espectrometria de massas nos grãos torrados e moídos. Grãos crus de café natural e cereja descascado especial foram acondicionados em 3 tipos de embalagens e armazenados em armazém comercial. Foi realizada a análise sensorial e análises espectroscópicas e cromatográficas, nos períodos de 0, 3, 6, 9, 12 e 18 meses de armazenamento. O emprego da espectroscopia Raman com cartas de controle multivariadas, baseada na PCA, foi eficiente em identificar alterações químicas nos grãos crus de café cereja descascado armazenados em diferentes embalagens. A espectroscopia Raman é mais sensível que a análise sensorial a detectar alterações químicas do café cereja descascado armazenado que, posteriormente, afetará a qualidade da bebida. A abordagem metabolômica com o emprego da espectroscopia RMN foi eficiente em identificar alterações químicas relacionadas ao envelhecimento dos grãos crus de café natural e cereja descascado antes de afetar a qualidade sensorial do café. A análise de compostos voláteis dos grãos torrados foi eficiente em identificar alterações químicas nos grãos crus de café natural armazenados na embalagem de papel a partir do 3º mês de armazenamento, que, posteriormente, afetará a qualidade da bebida. As técnicas espectroscópicas e cromatográficas foram eficientes em detectar alterações relacionadas ao envelhecimento dos grãos crus de café arábica que antecedem a depreciação sensorial. O café natural especial é mais sensível às transformações químicas relacionadas ao armazenamento, quando comparado com o café cereja descascado especial. A embalagem de alta barreira oferece a mesma proteção ao café cru que o acondicionamento a vácuo e é adequada para o acondicionamento de grãos crus de café natural e cereja descascado especial por até 18 meses.

**Palavras-chave:** Cafés especiais. Deterioração. Espectroscopia Raman. RMN  $^1\text{H}$ . Cromatografia gasosa. Quimiometria.

## GENERAL ABSTRACT

During storage of green coffee beans, metabolic changes occur, affecting the sensory quality of the product. Jute bags are the most used packaging form worldwide. However, jute bags are permeable, which provides greater exposure of coffee to environmental conditions favoring further reduction of quality. Currently, no packaging in use has the ability to maintain the initial quality of the coffee beans, which is usually described as having flavor and aroma characteristic of old coffee. This reduction in quality has a great impact on the specialty coffee market, since, depending on the intensity of these characteristics, the beverage is no longer considered special. Most of the green coffee storage studies use specific analytical techniques for certain groups of chemical compounds to explain the phenomenon of grain aging. However, the dynamics of transformations occurring in the grains during storage is complex and is not limited to changes in specific chemical groups, leaving a gap about the compounds responsible for altering the taste or aroma of the beverage. It is thus believed that modern methodologies of food analysis capable of providing a complete analysis of the chemical compounds have high potential to clarify the phenomenon, bringing benefits to the management and control of the specialty coffee industry. In this context, the present study used spectroscopic and chromatographic techniques to address the phenomenon of Arabica coffee beans aging. The study was divided into three articles with the objective of determining chemical indicators of the aging of *Coffea arabica* L. green coffee before affecting their sensorial quality, by using (i) Raman spectroscopy and (ii)  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy to analyze green coffee beans and (iii) Gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) in roasted and ground beans. Green coffee beans of specialty natural and specialty pulped natural coffee were packed in 3 different types of packaging and stored in commercial warehouse. Sensorial, spectroscopic and chromatographic analyzes were carried out at 0, 3, 6, 9, 12 and 18 months of storage. The use of Raman spectroscopy with multivariate control charts, based on PCA was efficient in identifying chemical changes in the green coffee beans of pulped natural coffee stored in different packages. Raman spectroscopy is more sensitive than sensory analysis to detect chemical changes in pulped natural coffee, which might affect the quality of the beverage. The metabolomic approach using NMR spectroscopy was efficient in identifying chemical changes related to the aging of green coffee beans of natural and pulped natural coffee before affecting the sensory quality of the beverage. The analysis of the volatile compounds present in roasted coffee beans was efficient in identifying chemical changes in green coffee beans of natural coffee stored in different packages. Spectroscopic and chromatographic techniques were efficient in detecting changes related to the aging of Arabica coffee beans prior to sensorial depreciation. The high-barrier packaging offers the same protection to coffee as the vacuum packaging and is suitable for the packaging of green coffee for up to 18 months.

**Keywords:** Specialty coffee. Deterioration. Raman spectroscopy.  $^1\text{H}$ -NMR. Gas chromatography. Chemometrics.

## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

Figura 1 - Fórmula estrutural do ácido clorogênico. ....	20
Figura 2 - Estrutura química da cafeína. ....	21
Figura 3 - Estrutura química da (a) trigonelina e (b) ácido nicotínico.....	22
Figura 4 - Fórmulas estruturais dos diterpenos (a) caveol e (b) cafestol. ....	23
Figura 5 - Fórmulas estruturais da (a) sacarose, (b) glicose e (c) frutose. ....	25
Figura 6 - Formas de espalhamentos da radiação que ocorrem quando uma radiação monocromática interage com uma amostra.....	37
Figura 7 - Esquemático da obtenção de um espectro Raman. ....	39
Figura 8 - Representação dos níveis de energia para o hidrogênio sob ação de um campo magnético $B_0$ . ....	42
Figura 9 - Movimento de precessão de um núcleo de hidrogênio. ....	43
Figura 10 - Diagrama de blocos de um espectrômetro de RMN com transformada de Fourier. ....	45
Figura 11 - Esquema de cromatógrafo a gás: 1: fonte do gás de arraste; 2: controlador da vazão e regulador de pressão; 3: sistema de injeção da amostra; 4: coluna cromatográfica; 5: sistema de detecção; 6: sistema de registro e tratamento dos dados. ....	48
Figura 12 - Organização dos dados de espectroscopia Raman em uma matriz de dados para aplicação de ferramentas quimiométricas.....	49
Figura 13 - Esquema do particionamento das amostras para validação cruzada.....	51

### SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

#### ARTIGO 1

Figure 1. Mean values of the final score of the sensory analysis of the coffee beans: (a) natural and (b) pulped natural; stored in P (●), PHB (▲), and V (◆) packaging for a period of 18 months. ....	76
Figure 2. Mean Raman spectra of the green beans from pulped natural coffee prior to storage. ....	79
Figure 3. PCA model results for the natural coffee (●) and the pulped natural coffee (●) before storage. ....	80



Figure 4.	Result from the PLS-DA model for the calibration and validation samples. The samples above the red line are classified as natural coffee (●) and below the line are classified as pulped natural coffee (●). .....	81
Figure 5.	Primary VIP scores for the PLS-DA model showing the Raman bands responsible for the separation of the coffee with respect to dry and wet processing.....	82
Figure 6.	Q control chart for the natural coffee. Control samples (○) used for construction of the threshold (red line), and beans stored in P (black), PHB (blue), and V (green) packaging during the storage periods of 3 months (▼), 6 months (■), 9 months (◆), 12 months (*), and 18 months (▲). .....	83
Figure 7.	(a) T2 control chart and (b) Q control chart of the pulped natural coffee. Control samples (○) used for construction of the threshold (red line). The beans were stored in P (black), PHB (blue), and V (green) packaging for 3 months (▼), 6 months (■), 9 months (◆), 12 months (*), and 18 months (▲).....	85
Figure 8.	Region of the Raman spectrum related to the changes in the green beans from pulped natural coffee during storage.....	86

## ARTIGO 2

Figura 1 -	Valores médios da nota final da análise sensorial dos grãos de café (a) natural e (b) cereja descascado acondicionados na embalagem papel (●), alta barreira (▲) e à vácuo (◆) durante 18 meses. ....	102
Figura 2 -	Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, 25 °C) dos grãos crus de café.....	104
Figura 3 -	Gráfico de escores e pesos do modelo da PCA para as amostras de café natural (●) e cereja descascado (●).....	106
Figura 4 -	Gráfico de escores e pesos do modelo da PCA para as amostras de café acondicionado na embalagem de papel (●), alta barreira (●) e vácuo (●) aos 18 meses de armazenamento. ....	107
Figura 5 -	Gráfico de escores e pesos do modelo da PCA para as variáveis glicerofosfolina, colina, trigonelina e cafeína das amostras de café acondicionadas na embalagem de papel (●), alta barreira (●) e vácuo (●) durante o armazenamento. ....	111
Figura 6 -	Gráfico de escores e pesos do modelo da PCA para as amostras de café acondicionadas na embalagem de papel durante o armazenamento. (início do	

	armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).	113
Figura 7 -	Gráfico de escores e pesos do modelo da PCA para variáveis colina, glicerofosfocolina, trigonelina e cafeína das amostras de café acondicionadas na embalagem de papel durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).	114
Figura 8 -	Resultado do modelo da PCA para as variáveis e colina e glicerofosfocolina, das amostras de café natural acondicionadas na embalagem papel durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).	116
Figura 9 -	Resultado do modelo da PCA para as variáveis e colina e glicerofosfocolina, das amostras de café cereja descascado acondicionadas na embalagem papel durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).	117
Figura 10 -	Resultado do modelo da PCA para (a) todas as variáveis e para (b) colina, glicerofosfocolina, trigonelina e cafeína das amostras de café acondicionadas na embalagem de papel alta barreira durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).	119
Figura 11 -	Resultado do modelo da PCA para (a) todas as variáveis e para (b) colina, glicerofosfocolina, trigonelina e cafeína das amostras de café acondicionadas na embalagem a vácuo durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).	120

### **ARTIGO 3**

Figura 1 -	Valores médios da nota final da análise sensorial dos grãos de café (a) natural e (b) cereja descascado acondicionados na embalagem papel (●) e alta barreira (▲) por 18 meses.	137
Figura 2 -	Gráfico dos escores do modelo da PCA para as amostras de café natural (●) e cereja descascado (●).	139
Figura 3 -	Resultado do modelo do PLS-DA para as amostras de café natural e cereja descascado.	142
Figura 4 -	Gráfico de escores do modelo da PCA das amostras de café natural acondicionado na embalagem de papel (círculo) e alta barreira (quadrado).	143

Figura 5 - Resultado do modelo do PLS-DA para amostras de café natural acondicionados na embalagem de papel a partir de 3 meses. ....	145
Figura 6 - Gráfico de escores do modelo da PCA dos seis principais compostos voláteis responsáveis pela separação das amostras de café natural acondicionado na embalagem de papel (círculo) e alta barreira (quadrado). ....	146
Figura 7 - Cromatograma médio dos compostos voláteis do café natural antes (preto) e aos 18 meses de armazenamento (vermelho). ....	147
Figura 8 - Gráfico de escores do modelo da PCA das amostras de café cereja descascado acondicionado na embalagem de papel (círculo) e alta barreira (quadrado). ....	149

## LISTA DE TABELAS

### SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

#### ARTIGO 3

Tabela 1 - Área relativa dos compostos voláteis do café natural e cereja descascado no início do armazenamento. ....	140
Tabela 2 - Área relativa dos compostos voláteis do café natural no início do armazenamento e aos 18 meses. ....	148

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	13
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	16
<b>2.1 Cafés especiais</b> .....	16
<b>2.1.1 Mercado de cafés especiais</b> .....	18
<b>2.2 Composição química dos grãos crus de café</b> .....	18
<b>2.2.1 Compostos não voláteis</b> .....	19
<b>2.2.2 Compostos voláteis</b> .....	27
<b>2.3 Compostos voláteis do café torrado</b> .....	28
<b>2.3.1 Compostos heterocíclicos</b> .....	29
<b>2.3.2 Compostos não heterocíclicos (alifáticos, alicíclicos e aromáticos)</b> .....	29
<b>2.4 Processamento do café</b> .....	31
<b>2.5 Armazenamento do café</b> .....	33
<b>2.6 Novas abordagens para avaliar as alterações metabólicas dos grãos crus de café armazenados</b> .....	36
<b>2.6.1 Espectroscopia Raman</b> .....	36
<b>2.6.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</b> .....	41
<b>2.6.3 Cromatografia gasosa de alta resolução - perfil de compostos voláteis</b> .....	47
<b>2.7 Ferramentas quimiométricas</b> .....	48
<b>2.7.1 Análise por Componentes Principais</b> .....	50
<b>2.7.2 Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA)</b> .....	50
<b>2.7.3 Cartas de Controle</b> .....	51
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	53
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	54
<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS</b> .....	69
<b>ARTIGO 1 - RAMAN SPECTROSCOPY: A NEW STRATEGY FOR MONITORING THE QUALITY OF GREEN COFFEE DURING STORAGE</b> .....	69
<b>ARTIGO 2 - INDICADORES QUÍMICOS DO ENVELHECIMENTO DE GRÃOS CRU DE CAFÉ ARÁBICA DURANTE O ARMAZENAMENTO USANDO ESPECTROSCOPIA DE RMN <sup>1</sup>H</b> .....	93
<b>ARTIGO 3 - COMPOSTOS VOLÁTEIS NO CAFÉ TORRADO INDICADORES DO ENVELHECIMENTO DE GRÃOS CRUS DE CAFÉ ARÁBICA ACONDICIONADOS EM DIFERENTES EMBALAGENS</b> .....	128

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho faz parte de um grande projeto celebrado em convênio com a UFLA, BSCA (Associação Brasileira de Cafés Especiais), Klabin e Videplast, com o apoio da Apex-Brasil e das exportadoras de café especiais Bourbon Specialty Coffees e Carmocoffees. Essa parceria surgiu de a necessidade de oferecer ao mercado embalagens eficientes para o acondicionamento dos grãos crus de café especial. Para isso, foi realizado um estudo em que foi constatado que embalagens com alta barreira são eficazes para o armazenamento de cafés especiais por longos períodos, pois proporcionam melhor conservação dos grãos (ANDRADE, 2017). Atualmente, as embalagens estudadas já estão sendo comercializadas e utilizadas por produtores, exportadores e importadores de cafés especiais. Entretanto, apesar dos avanços na área, nenhum tipo de acondicionamento em uso tem capacidade de manter a qualidade inicial dos grãos. Mesmo em condições adequadas de armazenamento, ocorre perda da qualidade do café, ainda que em taxas mínimas (ANDRADE, 2017; BORÉM et al., 2013; RIBEIRO et al., 2011).

Ao longo do armazenamento do café cru, ocorre oxidação de carboidratos, lipídeos e proteínas, depreciando a qualidade sensorial da bebida (CORADI; BORÉM; OLIVEIRA, 2008; RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014; SAATH et al., 2014; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). As perdas de qualidade observadas nos cafés especiais, durante o armazenamento, mundialmente realizado em sacos de juta, são mais acentuadas quando comparadas às perdas observadas nos cafés commodities (ANDRADE, 2017; BORÉM et al., 2013; RIBEIRO et al., 2011; RIGUEIRA et al., 2009). No caso dos cafés especiais, dependendo da intensidade das alterações típicas do armazenamento, o café deixa de ser classificado como especial pela redução da complexidade de sabor, aroma e outros atributos sensoriais, apresentando notas sensoriais descritas pelos degustadores como papel, papelão, palha ou “safra passada”. Uma vez detectada a alteração sensorial, não é possível reverter a situação, sendo, muitas vezes, necessário destinar o lote de café para outro mercado. Acredita-se, assim, que metodologias capazes de identificar alterações químicas nos grãos crus de café, durante o armazenamento, antes que ocorram mudanças depreciativas na sua qualidade sensorial, podem trazer benefícios à gestão e controle da indústria de cafés especiais.

A maioria dos estudos de armazenamento de café cru utiliza análises específicas, para determinados grupos de compostos químicos, a fim de explicar o fenômeno do

envelhecimento dos grãos, deixando abertas várias questões a respeito dos compostos responsáveis pela alteração do sabor ou do aroma do café. Somado a esse fato, as diferenças químicas entre os cafés processados por via seca ou via úmida conferem maior complexidade ao fenômeno. Estudos de armazenamento de cafés naturais e descascados constataram comportamento distinto, visto que os cafés naturais apresentaram maior redução da qualidade sensorial, fisiológica e bioquímica (ABREU, 2015; CORADI et al., 2007; SAATH et al., 2012, 2014), mas não foram esclarecidas as razões que explicam essas diferenças.

Para detectar os compostos responsáveis pelo fenômeno do envelhecimento dos grãos crus, associado à depreciação da qualidade sensorial, são necessárias abordagens modernas na análise de alimentos (CAPOZZI; BORDONI, 2013; CIFUENTES, 2012; MINOJA; NAPOLI, 2014). Por isso, esse trabalho propõe o emprego de técnicas espectroscópicas e cromatográficas; espectroscopia de espalhamento de luz Raman, espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e cromatografia gasosa com espectrometria de massas. As técnicas espectroscópicas ainda não foram utilizadas para estudar o envelhecimento dos grãos crus de café arábica.

A espectroscopia Raman é uma ferramenta potencial para avaliar a qualidade dos alimentos durante a manipulação, processamento e armazenagem (BOYACI et al., 2015). A espectroscopia Raman é um método com capacidade de fornecer informações sobre concentração, estrutura e interação de moléculas, com vantagem de ser uma técnica não destrutiva (OLIVEIRA, 2001; SALA, 2008). Para a análise, não é necessária a extração, homogeneização, utilização de corantes ou agente de marcação, ou qualquer pré- tratamento das amostras. Necessita-se apenas pequenas porções de amostras. Outra vantagem da técnica é que atualmente já existem equipamentos portáteis que podem ser utilizados pela indústria de café *in loco*. A espectroscopia Raman já foi utilizada para analisar grãos crus de café (CAGLIANI et al., 2013; EL-ABASSY; DONFACK; MATERNY, 2011; ERAVUCHIRA et al., 2012; KEIDEL et al., 2010; RUBAYIZA; MEURENS, 2005; WERMELINGER et al., 2011), mas não com o objetivo de detectar indicadores químicos da qualidade de grãos crus durante o armazenamento.

A RMN é reconhecida como uma das principais metodologias utilizadas, na abordagem metabólica dos alimentos, pois proporciona panorama completo dos metabólitos e tem sido aplicada para elucidação estrutural e estudo de transformações químicas nos alimentos (CAPOZZI; BORDONI, 2013; LAGHI; PICONE; CAPOZZI, 2014; LIU et al., 2017; LIU; CHEN, 2016; MANNINA; SOBOLEV; VIEL, 2012; SOBOLEV et al., 2017; TRIMIGNO et al., 2015). Um único espectro de RMN contém os sinais provenientes

dos prótons de todas as moléculas presentes na amostra, o que permite obter rapidamente informações completas sobre a composição química (MANNINA; VIEL; SOBOLEV, 2012). Juntamente com o uso de ferramentas quimiométricas, a espectroscopia de RMN fornece resultados relevantes, na área de segurança alimentar, controle de qualidade, qualidade sensorial, origem geográfica e *fingerprint* de bebidas e alimentos (FAN et al., 2017; HUO et al., 2017; LI et al., 2017; MALMENDAL et al., 2011; MANNINA; SOBOLEV; VIEL, 2012; MARSEGLIA et al., 2016; MINOJA; NAPOLI, 2014; PALARIC et al., 2018; PRAKASH et al., 2016; ROCHFORT et al., 2010; SOBOLEV et al., 2017).

Com o objetivo de compreender o fenômeno e relacionar com as características sensoriais da bebida do café, acredita-se no potencial da cromatografia gasosa (CG) aplicada aos grãos torrados para avaliar o envelhecimento dos grãos crus. Em razão dos avanços na técnicas de CG, nos últimos anos, o número de publicações sobre café e aroma e, concomitantemente, o número de compostos voláteis identificados no café são elevados (BERTRAND et al., 2012; CANTERGIANI et al., 2001; CHEONG et al., 2013; DULSAT-SERRA; QUINTANILLA-CASAS; VICHI, 2016; GLOESS et al., 2014; KNYSAK, 2017; PICCINO et al., 2014; POYRAZ et al., 2016; SUNARHARUM; WILLIAMS; SMYTH, 2014; YERETZIAN et al., 2002, 2004). Aproximadamente mil compostos voláteis foram relatados no café cru e torrado e menos de 30 são importantes na percepção do aroma do café torrado (BLANK; SEN; GROSCH, 1992; CZERNY; GROSCH, 2000; CZERNY; MAYER; GROSCH, 1999; GROSCH, 2001; GROSCH et al., 2000; MAYER; GROSCH, 2001; SEMMELROCH et al., 1995; SEMMELROCH; GROSCH, 1996). Apesar de ser uma técnica amplamente utilizada para analisar café, a CG é considerada a melhor abordagem para compreender questões relacionadas ao aroma do café torrado.

Dessa forma, realizou-se este trabalho com o objetivo de determinar indicadores químicos do envelhecimento dos grãos crus de *Coffea arabica* L. antes de afetar a qualidade sensorial, empregando (i) espectroscopia Raman e (ii) espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  nos grãos crus e (iii) cromatografia gasosa com espectrometria de massas nos grãos torrados e moídos.



## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Cafés especiais

O termo café especial foi usado pela primeira vez, em 1974, por Erna Knutsen em uma edição do *Tea & Coffee Trade Journal*, para descrever os grãos de melhor qualidade produzidos em microclimas específicos. Posteriormente, em 1978, em uma conferência internacional de café em Montreuil, na França, Erna afirmou que cafés especiais são produzidos em microclimas geográficos especiais que conferem à bebida perfis sensoriais únicos. Iniciaram-se movimentos para definir padrões de qualidade ao comércio e organizar o mercado de cafés especiais. Em 1982, um pequeno grupo de profissionais relacionados à indústria de café fundaram a *Specialty Coffee Association of America* (SCAA), com a missão de estimular a produção e consumo de cafés especiais. Após a criação da SCAA, começaram a ser estabelecidas diversas organizações especializadas a promover a oferta e demanda por cafés especiais, como a Associação Brasileira de Cafés Especiais (BSCA), a *Speciality Coffee Association of Europe*, a *Speciality Coffee Association of Japan*, dentre outras. Em janeiro de 2017, a *Specialty Coffee Association of America* e a *Specialty Coffee of Europe* (SCAE) tornaram-se oficialmente uma única organização, denominada *Specialty Coffee Association* (SCA).

Atualmente, a definição de café especial mundialmente reconhecida é a estabelecida pela *Specialty Coffee Association* (SCA). De acordo com a SCA, para o café ser considerado como especial, ele deve atender a três tipos de verificações; duas avaliam a qualidade física e uma, a qualidade sensorial. A primeira avaliação da qualidade física é realizada nos grãos crus; em uma amostra de 350 gramas de grãos crus, representativa do lote de café, é avaliada e não é admitida a presença de defeitos primários\* e tolera-se até cinco defeitos equivalentes secundários†. A segunda avaliação da qualidade física é realizada nos grãos torrados; em uma amostra de 100 gramas de grãos torrados não é permitida a presença de grãos *quakers* (imaturos). Por fim, a qualidade sensorial é avaliada, por meio da análise sensorial, realizada por juízes certificados, e a bebida deve apresentar pontuação mínima de 80 pontos, a qual são pontuados dez atributos sensoriais (LINGLE, 2011). O café que recebe pontuação mínima de 80 pontos não apresenta defeito na bebida e possui doçura.

---

\* são considerados defeitos primários: grão de café totalmente preto, ardido, colonizado por fungos, brocado com ataque severo, café em coco, paus, pedras e outras impurezas.

† são considerados defeitos secundários: grão de café parcialmente preto, ardido, café em pergaminho, mofado, imaturo, malformado, concha, quebrado, casca e brocado (ataque leve).

O objetivo da metodologia é avaliar todos os aspectos envolvidos na produção do café até a concepção da bebida. O café classificado como especial pela metodologia é indicativo de que inúmeros processos, para a produção da bebida, desde a genética da planta, ambiente de cultivo e técnicas agrícolas, com destaque para as práticas de pós-colheita, foram adequados (FIGUEIREDO et al., 2013; JOËT et al., 2010; RAMOS et al., 2016; RIBEIRO et al., 2016; TAVEIRA et al., 2014; TOLESSA et al., 2017). Trata-se de uma grande cadeia de produção, com inúmeras pessoas envolvidas. Por isso, o café especial só será produzido com excelência nos padrões de qualidade exercido por todos os envolvidos.

Uma grande cadeia de negócios, como é caracterizado o mercado de café especiais, necessita de organização, planejamento e gestão para ter sustentabilidade econômica, ambiental, social e ética. Para dar suporte as essas questões, as associações de cafés especiais possuem papel fundamental. No Brasil, a principal organização que representa os cafés especiais brasileiros é a BSCA. A organização congrega pessoas físicas e jurídicas nos mercados interno e externo de cafés especiais e busca difundir e estimular o aprimoramento técnico na produção, comercialização e industrialização desses produtos. Também promove, principalmente nas áreas cafeeiras, a preservação do meio ambiente e o desenvolvimento ambiental sustentável por programas, projetos e parcerias com entidades públicas e privadas, nacionais e estrangeiras. Por intermédio de parcerias, a BSCA tem por finalidade promover pesquisas e difundir técnicas de controle de qualidade e, com as promoções de produtos, elevar os padrões de excelência dos cafés brasileiros ofertados nos mercados interno e externo, como exemplo, o convênio estabelecido entre a BSCA, UFLA, Klabin e Videplast.

A Agência Brasileira de Promoção de Exportações e Investimentos (Apex-Brasil), após prospecção internacional do posicionamento de produtos brasileiros no exterior, iniciou o desenvolvimento do projeto intitulado Design Embala, com foco na qualificação das embalagens dos produtos para exportação. No setor cafeeiro, a BSCA foi convidada para coordenar ações relacionadas às embalagens para café cru. Após levantamento das demandas do setor, foi estruturado um projeto, para o desenvolvimento de novas técnicas e prolongar o tempo de armazenamento, com a preservação da qualidade do café cru e custo acessível a um maior número de produtores nacionais e internacionais. O projeto resultou na celebração de convênio entre a UFLA, BSCA, Klabin e Videplast, com o apoio das exportadoras de café especiais Bourbon Specialty Coffees e Carmocoffees. Parte dos resultados desse projeto está documentado nesta tese de doutorado.

### **2.1.1 Mercado de cafés especiais**

O mercado de cafés especiais cresce cada vez mais no Brasil e no mundo. De acordo com a Euromonitor (2017)\*, em pesquisa contratada pela BSCA, o consumo nacional de cafés especiais correspondeu a 550 mil sacas em 2017. Entre 2012 e 2016, o crescimento médio anual no consumo foi de 20,6% e a projeção é que o consumo de cafés especiais chegue a 1,063 milhão de sacas até em 2021 (EUROMONITOR, 2017).

Com relação às exportações brasileiras, de acordo com a CECAFÉ (CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ DO BRASIL, 2017), foram exportadas 5.133.792 sacas de cafés diferenciados em 2017, representando 16,7% do total de café embarcado no mesmo ano. A receita cambial dessa modalidade foi de US\$ 1,02 bilhão, correspondendo a 19,6 % do total gerado com os valores da exportação de café. O preço médio dos cafés diferenciados foi de US\$ 199,59. No relatório, são considerados como cafés diferenciados aqueles que têm qualidade superior ou algum tipo de certificado de práticas sustentáveis. Estima-se que 50% dos cafés diferenciados exportados sejam especiais (dados não oficiais). Assim, pode-se inferir que foram exportadas 2.556.896 sacas de cafés especiais em 2017. Apesar de o valor médio da saca de cafés diferenciados ser de US\$ 199,59, estima-se que o valor das sacas de cafés especiais é maior. Atualmente, no mercado de cafés especiais, o valor das sacas de cafés com pontuação de 85 pontos varia de US\$ 272,72 a US\$ 363,63 (CECAFÉ, 2017).

Dependendo do tipo de acondicionamento dos grãos, o café fica exposto às alterações que irão culminar na redução da sua qualidade sensorial (BORÉM et al., 2008, 2013; NOBRE et al., 2007; RIBEIRO et al., 2011). Em função da intensidade e do tempo em que essas alterações ocorrem, pode impactar na redução acentuada da doçura da bebida, complexidade do sabor, aroma e de outros atributos sensoriais do café. Nesse caso, o café não é mais classificado como especial e passa a ser considerado como bebida dura, ou seja, café commodity. O valor comercializado por saca desse café é de US\$ 136,36 que impacta em deságio de 50% a 61% no valor da saca com relação aos cafés especiais com pontuação de 85 pontos.

### **2.2 Composição química dos grãos crus de café**

O sabor e aroma da bebida percebidos, durante a degustação, são resultado da composição química dos grãos crus de café. A interação entre ambiente de produção, genótipo

---

\* Pesquisa encomendada pela BSCA através da Euromonitor em 2017.

do cafeeiro e processos de pós-colheita determinam a composição química dos grãos crus de café e condicionam a produção de cafés especiais (FIGUEIREDO et al., 2013, 2015; RIBEIRO et al., 2016; SELMAR et al., 2006; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008; TAVEIRA et al., 2012, 2014). Entretanto, mesmo se todos esses fatores forem favoráveis à produção de cafés com qualidade, o fornecimento desse produto com consistência e constância ao mercado é comprometido dependendo das condições de armazenamento.

As condições ideais de armazenamento de grãos agrícolas são aquelas que reduzem a taxa respiratória dos grãos, preservando a composição quantitativa e qualitativa dos compostos químicos mais próximos da condição inicial de armazenamento (ABREU et al., 2017; BORÉM et al., 2013; RIBEIRO et al., 2011). Condições adversas de armazenamento promovem aumento na taxa respiratória dos grãos, favorecendo o consumo dos compostos químicos precursores do sabor e aroma, além de formar outras substâncias que afetam negativamente a qualidade sensorial do café (BORÉM et al., 2013; NOBRE et al., 2007; RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014; RIBEIRO et al., 2011).

O objetivo com este tópico é garantir o embasamento teórico sobre a composição química básica dos grãos crus de café para explicar as alterações nos compostos químicos decorrentes do armazenamento. Este tópico será dividido em compostos não voláteis e voláteis presentes nos grãos crus de café.

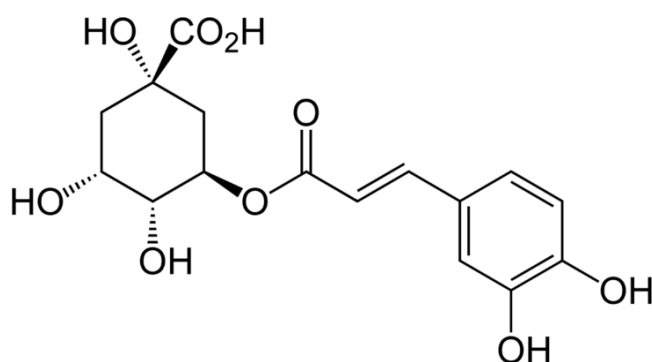
### **2.2.1 Compostos não voláteis**

A fração não volátil, encontrada nos grãos crus de café, é composta, principalmente, por água, carboidratos e fibras, proteínas e aminoácidos livres, lipídios, minerais, ácidos orgânicos, ácidos clorogênicos, trigonelina e cafeína

Dos compostos encontrados nos grãos crus, os ácidos clorogênicos, cafeína, trigonelina e os diterpenos da fração lipídica são considerados bioativos. Bioativos são compostos que têm efeito sobre um organismo vivo, tecido ou célula. Esses compostos são reconhecidos por suas propriedades benéficas à saúde humana e podem reduzir os riscos de incidência de doenças crônicas como câncer, diabetes e doenças vasculares (SVILAAS et al., 2004). A composição dos bioativos nos grãos varia entre espécies, cultivares de uma mesma espécie e qualidade do café (BERTRAND et al., 2008; MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000). Esses compostos são importantes para a qualidade sensorial, pois são precursores de compostos voláteis que contribuem para o sabor e o aroma do café torrado (FARAH et al., 2006; TRUGO; MACRAE, 1984).

Os ácidos clorogênicos (CGA) (FIGURA 1) compreendem uma classe importante de compostos fenólicos, que são derivados, sobretudo, da esterificação de ácidos transcinâmicos (por exemplo, cafeico, ferúlico e p-coumarico) com ácido quínico (TRUGO; MACRAE, 1984). Os ácidos clorogênicos são subdivididos, de acordo com a natureza e número de substituintes cinâmicos e a posição de esterificação no anel de ciclo-hexano do ácido quínico (CLIFFORD, 2000). Os ésteres são formados, preferencialmente, com a hidroxila localizada no carbono 5, nos carbonos 3 e 4 e mais raramente, no carbono 1.

Figura 1 - Fórmula estrutural do ácido clorogênico.



Fonte: Da autora (2018).

As principais subclasses de ácidos clorogênicos em grãos de café são ácidos cafeoilquínicos (CQA), ácidos dicafeoilquínicos (diCQA), ácidos feruloilquínicos (FQA) e, em menor quantidade, ácido p-coumaroilquínico e ácidos cafeoil-feruloilquínico. Cada uma dessas subclasses é constituída por pelo menos três grandes isômeros posicionais, além de compostos menores, com exceção da última classe, que contém seis isômeros principais (CLIFFORD et al., 2006; FARAH; DONANGELO, 2006). Entre estas classes, os ácidos cafeoilquínicos representam, aproximadamente, 80% do teor total de ácidos clorogênicos (FARAH; DONANGELO, 2006). Em particular, o ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) representa quase 60% e é o isômero mais estudado. Por isso, o 5-CQA é comumente chamado de ácido clorogênico.

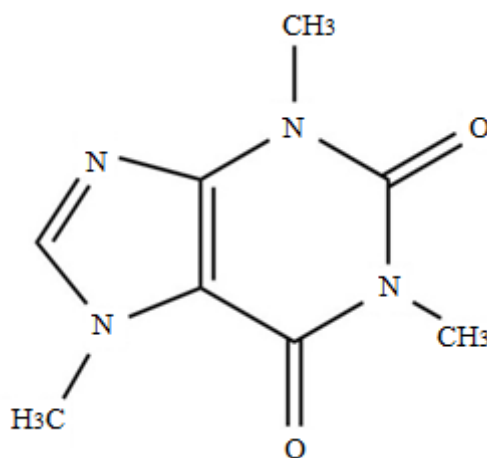
Estudos têm mostrado associações de diferentes isômeros de CGA com qualidade da bebida do café. Um estudo, que avaliou as correlações entre a qualidade do café e a composição química, encontrou que os níveis de 3,4-diCQA, nos grãos crus e torrados, são associados à elevada qualidade, enquanto níveis elevados de ácidos cafeoilquínicos, principalmente, 5-CQA e FQA, são associados à baixa qualidade da bebida (FARAH; DONANGELO, 2006). Em outro estudo, foram avaliados os efeitos climáticos na composição

química dos grãos de café e revelou que 3-CQA e 4-CQA, 3,4-diCQA e 4,5-diCQA foram positivamente relacionados com a temperatura ambiente, enquanto a tendência inversa ocorreu tanto para os níveis de 5-CQA e 3,5-diCQA (JOËT et al., 2010).

No armazenamento dos grãos, há relatos de redução do conteúdo de ácido clorogênico, principalmente, 5-CQA, por oxidações enzimáticas e não enzimáticas (RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Durante o armazenamento, ocorrem reações de oxidação de ácidos clorogênicos e reações subsequentes com aminas primárias que afetam a viabilidade dos grãos e consequente redução da qualidade sensorial (SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Diante desses resultados, alterações no conteúdo de ácido clorogênico e seus isômeros, durante o armazenamento, são esperadas por ser um componente encontrado em grande quantidade nos grãos de café.

A cafeína (FIGURA 2) é uma metilxantina que possui gosto amargo e é responsável por 10% do amargor percebido na bebida de café (FLAMENT et al., 1968).

Figura 2 - Estrutura química da cafeína.



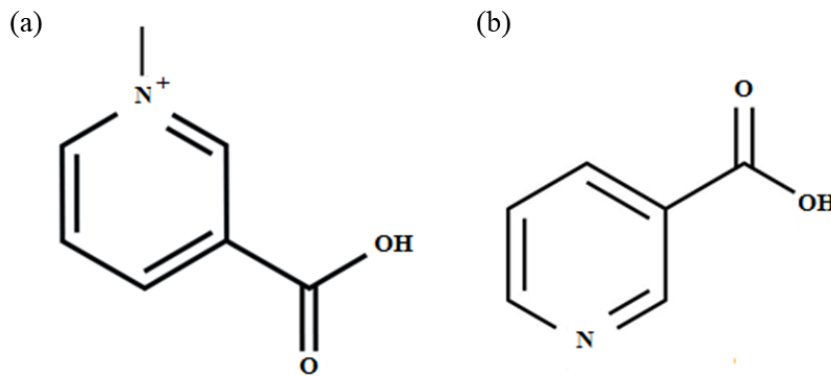
Fonte: Da autora (2018).

Na literatura ainda há divergência da relação da cafeína com a qualidade do café. Há associações de maiores teores de cafeína em amostras de café arábica de alta qualidade (FARAH et al., 2006; FRANCA; MENDONÇA; OLIVEIRA, 2005). Entretanto outros autores observaram associações negativas entre o teor de cafeína e a qualidade de bebida, especificamente, nos atributos sensoriais acidez, corpo, sabor e impressão geral (DESSALEGN et al., 2007; FRANCA; MENDONÇA; OLIVEIRA, 2005). Acredita-se que a biossíntese de cafeína e seu acúmulo nos grãos são mais pronunciados em situações de estresse (DESSALEGN et al., 2007).

A cafeína é reconhecida por ser um composto com certa estabilidade desde o desenvolvimento de frutos e sementes (CASTRO; MARRACCINI, 2006), processamento (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010; JOËT et al., 2010) e após a torra (CASAL; OLIVEIRA; FERREIRA, 2000; FRANCA; MENDONÇA; OLIVEIRA, 2005). Provavelmente por esta característica, este composto é pouco explorado em pesquisas relacionadas ao armazenamento dos grãos crus de café.

A trigonelina (FIGURA 3) é um alcaloide derivado da metilação enzimática do ácido nicotínico.

Figura 3 - Estrutura química da (a) trigonelina e (b) ácido nicotínico.



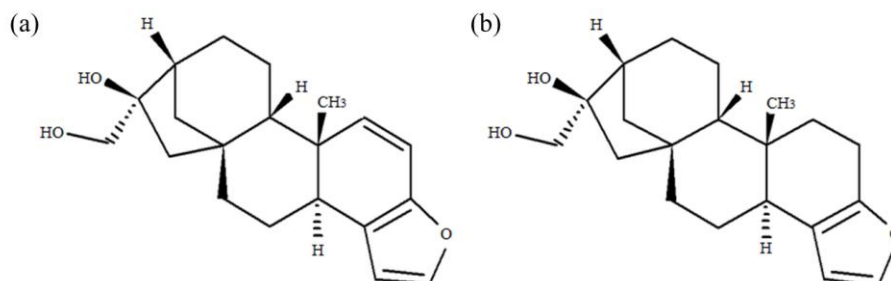
Fonte: Da autora (2018).

Não está clara na literatura a relação entre a trigonelina e o tipo de processamento do café, entretanto é de consenso que cafés com maior qualidade apresentam maiores valores no conteúdo de trigonelina (FIGUEIREDO et al., 2013; RIBEIRO et al., 2016). Cafés cultivados, em ambientes com altitudes elevadas, acima de 1200 metros e com notas sensoriais de 90 pontos, obtiveram maiores valores de trigonelina, independentemente do tipo de processamento. Já menores valores de trigonelina foram registrados em cafés naturais cultivados abaixo de 1200 metros, com notas sensoriais abaixo de 85 pontos (RIBEIRO et al., 2016). Apesar desses estudos, não há relatos do comportamento da trigonelina nos grãos de café durante o armazenamento.

O cafestol e caveol são diterpenos produzidos exclusivamente por plantas do gênero *Coffea*. São compostos que têm sido cada vez mais estudados pelos seus efeitos fisiológicos e potencial discriminante entre as duas espécies de interesse econômico do gênero *Coffea* (CAMPANHA; DIAS; BENASSI, 2016; DIAS et al., 2010; SPEER; KÖLLING-SPEER,

2006). A diferença estrutural entre caveol e cafestol está na presença de uma dupla ligação a mais na estrutura do caveol (FIGURA 4).

Figura 4 - Fórmulas estruturais dos diterpenos (a) caveol e (b) cafestol.



Fonte: Da autora (2018).

Trabalhos recentes têm avaliado o conteúdo de caveol e cafestol como marcador de cafés de diferentes origens geográficas, de espécies do gênero *Coffea* e como indicador de qualidade (EL-ABASSY; DONFACK; MATERNY, 2011; KITZBERGER et al., 2016; RUBAYIZA; MEURENS, 2005; SCHOLZ et al., 2014; SRIDEVI; GIRIDHAR, 2016). O teor de cafestol e caveol é maior em grãos de café cultivados em baixas altitudes quando comparado a cafés de elevada altitude (SRIDEVI; GIRIDHAR, 2016). É consenso, na literatura, que cafés de altitude possuem qualidade superior aos cafés cultivados em altitudes mais baixas (FIGUEIREDO et al., 2013; RIBEIRO et al., 2016), por isso, acredita-se que estes compostos possam ser utilizados como indicador da qualidade do café.

Não há relatos na literatura que relacionem a presença do caveol com alterações químicas nos grãos crus de café armazenados. Entretanto foi constatado aumento de até 16% no teor de cafestol livre em grãos de café acondicionados em temperatura de 25 e 40 °C quando comparado a grãos armazenados em ambiente refrigerado (SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006). Os maiores valores foram observados, aos 12 meses de armazenamento e, após este período, é pronunciada a degradação dos diterpenos. As alterações foram relacionadas à atividade das lipases, pois o aumento no teor de água dos grãos e altas temperaturas do ambiente de armazenamento favorecem a hidrólise de ésteres de ácidos graxos, a decomposição dos diterpenos e provocam efeito negativo na qualidade sensorial do café (SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006).

A fração lipídica do café é composta, principalmente, por triacilgliceróis (aproximadamente, 75%), esteróis (2,2% não esterificados e 3,2% esterificados com ácidos graxos), ácidos graxos livres (1%) e tocoferóis (0,05%), que são normalmente encontrados em



óleos vegetais comestíveis. Essa fração também contém diterpenos da família dos cauranos (20%) (SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006; TRUGO; MACRAE, 1984). Outros componentes recentemente identificados são o *coffeadiol* e o *arabiol I*, que possuem estruturas similares aos diterpenos cafestol e caveol, respectivamente, mas com diferentes substituições no anel furano (SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006).

Os ácidos graxos no café são encontrados, principalmente, em formas combinadas. A maioria é esterificada com glicerol, na fração de triacilglicerol e, aproximadamente, 20% são esterificados com diterpenos e uma pequena proporção, em ésteres de esterol. A maioria dos ácidos graxos no café é insaturada. O ácido linoleico, ácido oleico e ácido linolênico representam, aproximadamente, 44,4 - 47,2%, 7,8 - 9,6% e 1,4 - 1,6% da fração de triacilglicerol (COSSIGNANI et al., 2016).

Durante o armazenamento dos grãos, a hidrólise do material graxo inicia-se antes da hidrólise de carboidratos ou proteínas (DUSSERT et al., 2006; SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006). Em geral, as primeiras modificações, nas sementes relacionadas à deterioração, correspondem à acidificação causada, em parte, pelo aumento de ácidos graxos livres, fosfatos ácidos e aminoácidos produzidos pelas lipases, fitases e proteases (ABDUL-BAKI; ANDERSON, 1972; MAHJABIN; ABIDI, 2015). Os ácidos graxos livres podem ser oxidados na presença de oxigênio, originando compostos como aldeídos, cetonas, ácidos, álcoois e hidrocarbonetos, associados ao sabor e aroma desagradáveis nos alimentos e, no caso do café, às alterações sensoriais da bebida (DUSSERT et al., 2006; FELLOWS, 2006; SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006).

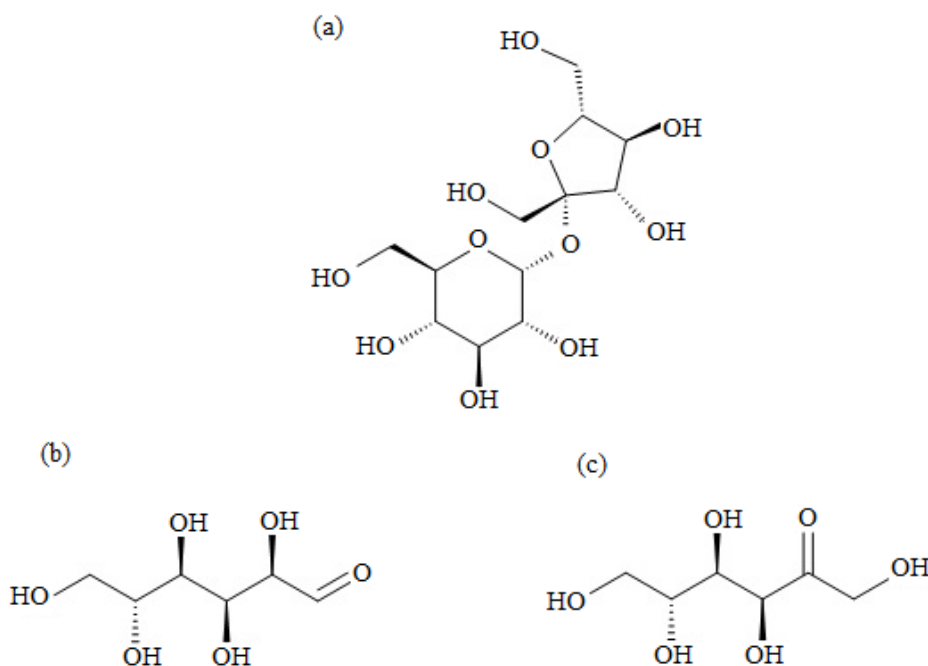
Por muitos anos, trabalhos de armazenamento de grãos de café utilizaram o teste de acidez graxa como indicador do nível de deterioração dos grãos armazenados (CORADI; BORÉM; OLIVEIRA, 2008; RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014; SAATH et al., 2012). Entretanto esse teste expressa o teor de ácidos graxos livres, em função da acidez do óleo, visto que esta pode ser influenciada pela presença de outros compostos ácidos (SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006). Para compreender melhor o fenômeno das alterações, que ocorrem nos grãos armazenados, é necessária informação sobre o comportamento do perfil de ácidos graxos dos grãos crus de café, pois a sua liberação não é uniforme e o nível de degradação é variável em função do tipo de ácido graxo (CORADI; BORÉM; OLIVEIRA, 2008; JHAM; MULLER; CECON, 2008).

Estudo do perfil de ácidos graxos em grãos acondicionados, em embalagens com atmosfera artificial e natural, detectou aumento mais intenso na liberação dos ácidos graxos palmítico e oleico nos grãos acondicionados em saco de juta e armazenados em condições

ambiente após 12 meses. Apenas grãos acondicionados, em ambiente controlado, preservaram os valores dos ácidos graxos esteárico e oleico (RIBEIRO, 2013).

Com relação aos açúcares, a sacarose (Figura 5a) é importante para o sabor e qualidade do café e pode representar 9% do peso seco no café arábica (KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006). Glicose e frutose (Figura 5b e 5c) também são encontradas nos grãos em intervalos de <0,01 a 0,45% e 0,02 a 0,40%, respectivamente (SILWAR; LULLMAN, 1988). Traços de outros carboidratos de baixo peso molecular, como manose, arabinose, ramnose, estaquiose, também, foram identificados em grãos de café arábica (KOLLING-SPEER; SPEER, 2005; SILWAR; LULLMAN, 1988).

Figura 5 - Fórmulas estruturais da (a) sacarose, (b) glicose e (c) frutose.



Fonte: Da autora (2018).

Os teores de açúcares de baixo peso molecular nos grãos crus de café podem ser influenciados pelos métodos de acondicionamento e tempo de armazenamento do produto (RIBEIRO et al., 2011; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Considerados como a fonte prontamente disponível de energia, para os processos respiratórios dos grãos, a variação nos teores de carboidratos de baixo peso molecular pode ser usada como indicador dos processos metabólicos associados ao consumo de matéria seca e consequente perda de qualidade dos grãos (CORADI et al., 2007; DUSSERT et al., 2006; REINATO et al., 2007; RIBEIRO et al., 2011; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008)

No processo de respiração dos grãos, ocorre hidrólise da sacarose, liberando os monossacarídeos glicose e frutose, que se tornam prontamente disponíveis para a respiração. Assim, a elevação no teor de glicose e frutose está associada à hidrólise da sacarose e elevação do metabolismo dos grãos, indicando rápida deterioração e perda de qualidade (ANDRADE, 2017; KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Grãos acondicionados, em embalagens permeáveis, que favorecem o reumedecimento, respiração e consequente deterioração dos grãos, tiveram redução do conteúdo de sacarose e aumento no conteúdo de frutose e sacarose até o período de 9 meses de armazenamento, seguido de redução até o período de 18 meses de armazenamento (ANDRADE, 2017).

A fração de fibra insolúvel dos grãos crus de café é constituída, principalmente, por celulose, hemicelulose e lignina, componentes da parede celular das plantas. A celulose é um componente básico da parede celular e em grãos de café encontra-se associada a polissacarídeos, como hemicelulose, pectina e também lignina, o que dificulta a sua degradação.

A relação lignina/celulose determina a intensidade da degradação microbiana da parede celular (VAN SOEST, 1994). A degradação dos polissacarídeos pécticos está relacionada com a desintegração da parede celular, provocada pela ação de injúrias mecânicas, fisiológicas e microbianas (PIMENTA; VILELA; CARVALHO JUNIOR, 2004). Durante as fases que antecedem a colheita e a pós-colheita do café, há contínuo metabolismo dos grãos e essas reações são responsáveis pela definição do sabor e aroma do café. Algumas dessas transformações bioquímicas podem degradar as paredes e as membranas celulares e, conseqüentemente, alterar o teor de fibras nos grãos de café.

O conteúdo de celulose, hemicelulose, lignina nos grãos reduz, durante o armazenamento em embalagens permeáveis, que permite trocas gasosas e de vapor d'água com a atmosfera. Este fenômeno está intimamente relacionado às alterações no sabor e aroma do café e à diminuição da qualidade sensorial (RIBEIRO, 2013; SAATH et al., 2012). A desestruturação das membranas e paredes celulares e consequente perda da permeabilidade seletiva do sistema de membranas do endosperma dos grãos provoca rápida deterioração. Uma vez rompida a membrana celular, ocorre maior contato entre as enzimas e os compostos químicos presentes intra e extracelulares no grão. Esta situação permite reações químicas e bioquímicas que modificam a composição original do café e, conseqüentemente, a qualidade da bebida (ABREU, 2015; RIBEIRO et al., 2011).

Compostos nitrogenados, exceto cafeína e trigonelina, representam de 9% a 16% da composição química dos grãos crus de café. Proteínas, peptídeos e aminoácidos livres são

essenciais para o sabor e aroma do café, pois são necessários à reação de Maillard (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999; MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000) São precursores na formação de compostos voláteis como furanos, piridinas, pirazinas, pirrois, aldeídos e melanoidinas.

Os aminoácidos são suscetíveis à oxidação por espécies reativas de oxigênio (EROs) gerando grupos carbonila. Assim, a presença de grupos carbonila reflete a oxidação proteica durante o armazenamento dos grãos (RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014). A oxidação das proteínas, durante o armazenamento, pode ser acelerada pela oxidação lipídica, em razão da proximidade de lipídios e proteínas na célula e da presença de EROs, geradas pela respiração dos grãos (SIMKIN et al., 2006). Durante o armazenamento do café, foi detectado aumento seguido por estabilização da concentração do grupo carbonila (RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014). Provavelmente a manutenção dos valores está relacionada ao final do processo respiratório dos grãos, indicando elevada deterioração (ROJAS, 2008).

Outro estudo de armazenamento de grãos crus de café não detectou mudanças significativas no conteúdo total de aminoácidos proteicos e na concentração da maioria dos aminoácidos individuais. Apenas a concentração de glutamina diminuiu significativamente durante o armazenamento (SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008).

### **2.2.2 Compostos voláteis**

O aroma e sabor do café são formados por uma mistura complexa de, aproximadamente, trezentos compostos voláteis, compreendendo, principalmente, as classes dos hidrocarbonetos alifáticos, compostos de enxofre, pirazinas, piridinas, oxazois, pirrois, furanos, aldeídos, ésteres, álcoois, cetonas e fenois (BANDEIRA et al., 2009; BRÖHAN et al., 2009; BUFFO; CARDELLI-FREIRE, 2004; FLAMENT, 2002; PETISCA et al., 2013; POYRAZ et al., 2016; RODRÍGUEZ; DURÁN; REYES, 2010; TOCI; FARAH, 2008).

Inúmeros estudos têm buscado relacionar compostos voláteis com a qualidade sensorial do café (BERTRAND et al., 2012; GONZALEZ-RIOS et al., 2007a), origens geográficas (KNYSAK, 2017; LEE; SHIBAMOTO, 2002; RISTICVIC; CARASEK; PAWLISZYN, 2008), diferentes genótipos (KNYSAK, 2017) e com a presença de defeitos físicos nas amostras de café (AGRESTI et al., 2008; CANTERGIANI et al., 2001; TOCI; FARAH, 2008, 2014).

Durante o armazenamento dos grãos, ocorre uma série de reações de oxidação. Os enantiômeros de linalol e o acetaldeído trans-2-nonenal são exemplos de compostos voláteis

oriundos da oxidação lipídica que impactam no sabor e aroma do café (BONNLÄNDER et al., 2006). O trans-2-nonenal é considerado indicador de café velho, pois confere desagradável nota sensorial de papelão e madeira à bebida (BONNLÄNDER; COLOMBAN; LONZARICH, 2005; PARLIMENT; CLINTON; SCARPELLINO, 1973). Esse composto também já foi associado ao sabor desagradável de papelão em cerveja velha (SCHERER et al., 2010; SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008). O aumento de ésteres metílicos foram relatados em estudo sobre o efeito do armazenamento de grãos de café sob diferentes condições de temperatura, teores de água dos grãos e disponibilidade de oxigênio (SCHEIDIG; CZERNY; SCHIEBERLE, 2007). Em particular, o 2 e 3-metil-butanoico, responsável pelo odor frutado, agradável em baixas concentrações. No entanto valores elevados, nas concentrações de 2-metoxi-4-vinifenol e 2-metoxi-5-vinilfenol, conferem odor desagradável de fumaça e cravo.

Os ácidos orgânicos são caracterizados pela presença do grupo funcional (COOH), a carboxila (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Contribuem para o sabor e aroma do café, pois a maioria dos ácidos orgânicos é volátil (GALLI; BARBAS, 2004). Em geral, os ácidos orgânicos estão presentes no café, compondo cerca de 10% da massa do grão cru e 6% da massa do grão torrado. Os principais ácidos orgânicos encontrados nos grãos crus de café são o acético, cítrico, fórmico, málico, pirúvico, clorogênico, quínico e succínico (GALLI; BARBAS, 2004). Com relação ao comportamento dos ácidos orgânicos no café armazenado, não foi detectada variação nos grãos acondicionados em diferentes métodos durante 12 meses (RIBEIRO, 2013).

### **2.3 Compostos voláteis do café torrado**

Durante a torra, os grãos crus são submetidos a inúmeras reações. As mais importantes e estudadas são a pirólise, degradação de Strecker e reações de Maillard, que irão produzir, aproximadamente, mil compostos voláteis (BUFFO; CARDELLI-FREIRE, 2004; FLAMENT, 1989; MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999; MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000). Por isso, os compostos químicos presentes nos grãos crus, submetidos às condições da torra, são precursores da quantidade e concentração dos compostos voláteis no café torrado (CHEONG et al., 2013; GLOESS et al., 2014; GONZALEZ-RIOS et al., 2007b; MOON; SHIBAMOTO, 2009; SOMPORN et al., 2011).

Os compostos voláteis são classificados em duas classes: compostos heterocíclicos e compostos não heterocíclicos (alifáticos, alicíclicos e aromáticos) (MARIA; MOREIRA;

TRUGO, 1999; MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000). A seguir, serão apresentadas as principais substâncias de cada classe encontradas no café torrado e suas vias de formação.

### **2.3.1 Compostos heterocíclicos**

Os compostos heterocíclicos são a classe de substâncias voláteis mais estudada. Os furanos são compostos, encontrados em grande quantidade no café torrado, além de seus derivados, contendo funções como aldeídos, cetonas, ésteres, álcoois, éteres e tiois (FLAMENT, 2002). São formados, principalmente, a partir da degradação de carboidratos presentes nos grãos crus de café, como a sacarose e a arabinogalactana (MARIA et al., 1994). Existem evidências de que os furanos também podem ser formados pela degradação de terpenos, principalmente, os terpenos de elevado peso molecular (VITZTHUM; WERKHOFF, 1976).

Os pirrois são compostos característicos de alimentos submetidos a tratamentos térmicos e podem ser formados, a partir da reação de Maillard, degradação de Strecker, pirólise de aminoácidos ou degradação da trigonelina (HWANG; HARTMAN; HO, 1995). Podem ser formados, também, por reações secundárias entre a trigonelina e outros constituintes, particularmente carboidratos, que estão presentes em grandes quantidades no café cru.

Os oxazois são formados exclusivamente por degradação térmica de proteínas. Os tiazóis são formados a partir da reação de Maillard entre metionina, cisteína ou cistina e açúcares redutores ou intermediários da reação de Maillard. As pirazinas são formadas, após a degradação térmica e podem ser geradas pela reação de Maillard, degradação de Strecker ou pirólise de hidroxiaminoácidos (FLAMENT, 2002). As piridinas podem ser formadas, a partir da degradação térmica da trigonelina, pirólise de aminoácidos, degradação de Strecker ou na reação de Maillard (FLAMENT, 2002). A presença de piridina já foi relacionada com aroma de café torrado velho (SIVETZ; DESROSIER, 1979).

### **2.3.2 Compostos não heterocíclicos (alifáticos, alicíclicos e aromáticos)**

Os compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos são encontrados, normalmente, em baixas concentrações no café torrado. Desse grupo de compostos, destacam-se várias classes, como os fenois, aldeídos, cetonas, álcoois, éteres, hidrocarbonetos, ácidos orgânicos,

anidridos, ésteres, lactonas, aminas e os compostos contendo enxofre. Vários compostos voláteis apresentam mais de uma função química, o que dificulta a sua classificação.

A principal via de formação dos fenois no café torrado é por meio da degradação dos ácidos clorogênicos, durante a torra, especialmente, ácido p-cumárico, ferúlico, cafeíco e quínico (MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000). Os aldeídos são formados por meio da auto-oxidação dos lipídios, degradação de Strecker, reação de Maillard e oxidação de aminoácidos (FLAMENT, 2002). Os aldeídos são encontrados em grande quantidade no café recém-torrado, pois são oxidados durante o armazenamento.

Aldeídos formados, a partir da oxidação de lipídios, como o hexanal, (Z)-2-nonenal, (E)-2-nonenal, (E,Z)-2,6-nonadienal, (E,E)-2,4-nonadienal e os isômeros do 2,4-decadienal, foram relacionados com sabor e aroma de café velho (DART; NURSTEN, 1985; PARLIMENT; CLINTON; SCARPELLINO, 1973). A ocorrência dos aldeídos voláteis no café verde e torrado é esperada, já que os lipídios representam, aproximadamente, 13% do café verde e o ácido linoleico representa mais da metade do conteúdo de ácidos graxos (COSSIGNANI et al., 2016). A clivagem oxidativa das ligações duplas do ácido linoleico produz aldeídos e cetonas (VARNAM; SUTHERLAND, 1997).

As cetonas podem ser provenientes da pirólise de carboidratos e reações de Maillard (CLARK; MACRAE, 1985). A auto-oxidação de lipídeos, particularmente de ácidos graxos insaturados, também está relacionada à produção de cetonas, como, por exemplo, a 2,3-butanodiona e hidroxiacetona. Essas cetonas podem participar posteriormente de reações que levam à formação de pirazinas ou de aldeídos de Strecker (CLARK; MACRAE, 1985). A síntese de cetonas também pode ocorrer por meio da quebra de carotenoides durante a torra. As cetonas de menor massa molar são abundantes no café torrado e, assim como os aldeídos, a concentração no café torrado reduz durante o período de armazenamento (DART; NURSTEN, 1985) devido a sua volatilização.

Os álcoois presentes no café torrado são alguns dos produtos secundários da oxidação de lipídios e também são formados por meio da degradação de carotenoides durante a torra. Dentre os álcoois, o metanol e etanol são os mais relatados nos grãos de café. As razões entre determinados compostos e determinados álcoois já foram utilizadas como indicadores do tempo de armazenamento do café torrado, como a relação entre 2-metil-furano e metanol e entre o 3-metilbutanal e o 3-metil-1-butanol. A diminuição na razão desses compostos indica o aumento do tempo de armazenamento do café torrado em atmosfera com presença de oxigênio e à temperatura ambiente (VITZTHUM; WERKHOFF, 1976).

Os hidrocarbonetos são encontrados em grande quantidade no café torrado. É provável que certos hidrocarbonetos sejam derivados da oxidação de lipídeos do grão cru durante o período de armazenamento (CLIFFORD, 1985). Existem várias vias de formação dos ácidos carboxílicos, como a degradação de carboidratos, degradação térmica de ésteres e a auto-oxidação de aldeídos e cetonas (KAWADA et al., 1967; WOODMAN, 1985). Os anidridos são formados durante a torração a partir de ácidos carboxílicos ou derivados que perdem uma molécula de água e sofrem ciclização (FLAMENT, 2002; MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000).

A maioria dos ésteres é formada durante o desenvolvimento dos frutos do café ((TAIZ; ZEIGER, 2004) e sofre processo de pirólise durante a torra. Por isso, normalmente, os ésteres estão presentes em maiores concentrações, nos grãos crus de café, quando comparados aos grãos torrados. Uma fração menor de ésteres é formada, durante a torra, a partir da reação de esterificação entre um ácido e um álcool presente nos grãos (GUYOT; CROS; VINCENT, 1982). Aumento de ésteres metílicos foram relatados em estudo sobre o efeito de diferentes temperatura, disponibilidade de oxigênio e teores de água dos grãos crus de café armazenados (SCHEIDIG; CZERNY; SCHIEBERLE, 2007).

Os compostos sulfurados são formados, a partir da degradação direta dos aminoácidos sulfurados cistina, cisteína e metionina (BERNDT; RICHTERS, 2012; KRÜGER; DALLAGO; DI LUCCIO, 2009; WANG et al., 2011) ou da interação desses compostos com açúcares redutores e intermediários da reação de Maillard. Estão presentes em pequenas quantidades no café torrado e o conteúdo reduz, durante o período de armazenamento do café torrado, provavelmente, pelas reações de oxidação (KALLIO et al., 1990).

## **2.4 Processamento do café**

Classicamente o processamento do café é dividido em dois métodos: a via seca e a úmida. No processamento via seca, os frutos são secados com todos seus componentes (exocarpo, mesocarpo e endocarpo). Já no processamento via úmida, podem ser produzidos três tipos de café. O café descascado, em que é removido mecanicamente o exocarpo e partes do mesocarpo; o café desmucilado em que é removido mecanicamente o exocarpo e todo o mesocarpo; e o café despulpado, aquele em que é removido mecanicamente o exocarpo e, por fermentação biológica, o mesocarpo (BORÉM; ISQUIERDO; TAVEIRA, 2014).

Na indústria do café, é notório que cafés processados por via úmida, geralmente, possuem bebida mais homogênea e limpa do que os cafés naturais. Os principais sabores que



normalmente descrevem os cafés naturais são frutado, rústico e selvagem. Na literatura científica, muitos autores relatam que o processamento via seca origina cafés com corpo mais acentuado quando comparado com os cafés processados por via úmida. Já os cafés em pergaminho são, na maioria das vezes, descritos com acidez mais elevada e aroma suave (GHOSH; VENKATACHALAPATHY, 2014; MAZZAFERA; PURCINO, 2005; SELMAR; KLEINWÄCHTER; BYTOF, 2014). Essas diferenças sensoriais são reflexos da composição química dos grãos crus de café que é definida, durante o processamento do café, em função das alterações metabólicas que ocorrem nos grãos (BYTOF et al., 2007; KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006).

Não há consenso na literatura sobre o impacto do processamento nos conteúdos de sacarose, glicose e frutose. Estudos relatam que os níveis de sacarose não são afetados pelo método de processamento (JOËT et al., 2010; KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006), enquanto outros trabalhos relataram que menores níveis de sacarose foram detectados em cafés desmucilados em relação aos cafés descascados (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010). Os níveis de frutose e glicose são menores nos grãos processados via úmida quando comparados ao processamento via seca (KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006).

Essas diferenças podem ser explicadas por alterações metabólicas que ocorrem nos grãos durante o processamento. Estudos comprovaram que, ao remover o exocarpo dos grãos e parte do mesocarpo, são removidas substâncias inibidoras da germinação, desencadeando o processo germinativo durante o processamento do café (BYTOF et al., 2007; SELMAR et al., 2006). A germinação é marcada pela maior expressão da enzima isocitrato liase (ICL), relacionada ao metabolismo da germinação e aumento na quantidade de  $\beta$ -tubulina, marcador para a divisão ou alongamento celular, após a remoção de partes dos frutos grãos para os processados via úmida (BYTOF et al., 2007; SELMAR et al., 2006).

Este fenômeno implica consumo das substâncias de reserva, em grãos de café processados por via úmida, para iniciar o processo de germinação. As substâncias de reservas presentes no endosperma dos grãos de café representam os precursores do sabor e aroma que se formarão no café torrado, influenciando diretamente a qualidade da bebida. Dessa maneira, acredita-se que diferenças sensoriais entre cafés naturais e despulpados pode ser explicada pelo fato de que, nos cafés despulpados, parte dos açúcares foi consumida no processo de germinação (BYTOF et al., 2007; SELMAR et al., 2006). Contudo são necessários mais estudos científicos para elucidar os mecanismos relacionados à germinação durante o processamento do café e seu impacto sobre a qualidade sensorial.

Como mencionado, o processamento do café é um dos fatores que define a composição química dos grãos crus, que, por sua vez, é precursora dos compostos voláteis encontrados nos grãos torrados (ARRUDA et al., 2011, 2012; GONZALEZ-RIOS et al., 2007a, 2007b; RIBEIRO et al., 2016). Arruda et al. (2011) estudaram a influência do processamento natural, descascado e despulpado na composição de voláteis do café torrado e constataram semelhança no perfil de voláteis do café natural e descascado. O processamento descascado é o que se assemelha mais ao natural, em virtude da permanência de parte do mesocarpo ao fruto, justificando a semelhança no perfil de voláteis. Já o café despulpado gera composição mais rica qualitativa e quantitativamente de voláteis, quando comparado aos outros processamentos, com forte correlação com derivados das reações de Maillard e degradação de Strecker (ARRUDA et al., 2011, 2012). Gonzales-Rios et al. (2007a), estudando diferentes tipos de processamento via úmida, encontraram que o café despulpado a seco garantiu maior riqueza na composição de voláteis, principalmente, de hidrocarbonetos, quando comparado ao café despulpado, em tanques com água e o café desmucilado, os quais apresentaram maior quantidade de álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e compostos sulfurosos, respectivamente.

## **2.5 Armazenamento do café**

O objetivo do armazenamento de grãos é manter a qualidade do produto, no período entre a colheita e sua comercialização, garantindo a adequada distribuição e abastecimento de distintos mercados consumidores (BORÉM et al., 2008). Contudo, ao longo desta etapa, fatores como qualidade e teor de água inicial do produto, tipo de embalagem, condições ambientais do armazém e tempo de armazenamento podem promover a degradação de compostos químicos e gerar substâncias que conferem características indesejáveis ao paladar. Este conjunto de eventos afeta negativamente os aspectos sensoriais da bebida (BORÉM et al., 2013; CORADI; BORÉM; OLIVEIRA, 2008; NOBRE et al., 2007; RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014; RIBEIRO et al., 2011; RIGUEIRA et al., 2009).

Essas mudanças são mais acentuadas, no sistema de armazenamento convencional, que é o predominante em todo o mundo. Neste sistema, os grãos crus são acondicionados em sacaria de juta (permeável) e armazenados em locais sem o controle da temperatura e umidade relativa. Esta condição permite a variação do conteúdo de água dos grãos e interações com o ar ambiente, intensificando a redução da qualidade inicial do produto (BORÉM et al., 2013; NOBRE et al., 2007; RIBEIRO et al., 2011; RIGUEIRA et al., 2009).

A redução na qualidade do café é detectada, principalmente, pela análise sensorial. No mercado de café, são comumente utilizadas as designações "safra passada", para indicar que o café possui sabor e aroma de café velho ou "safra atual", para cafés frescos e que não possuem estas características. Os principais aromas e sabores descritos por degustadores, para classificar o café em "safra passada", são termos como madeira, papel, papelão, palha e juta. Contudo, mesmo grãos da safra atual, se armazenados em condições inadequadas, podem adquirir estes aromas e sabores. No entanto grãos armazenados por mais de uma safra, em condições ideais, podem possuir características sensoriais de "safra atual" (BORÉM et al., 2013).

Alterações na qualidade da bebida dos grãos de café são evidenciadas, durante o armazenamento, por causa das oxidações lipídicas (BORÉM et al., 2013; RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014; SAATH et al., 2014; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Contudo ainda não são conhecidos compostos específicos que são oxidados e quais substâncias são formadas. Estudos de metabolômica em grãos crus de café que abordem compostos pouco estudados, como diterpenos, aminoácidos e ácidos orgânicos, em vez de analisar compostos, classicamente relatados na literatura (ácidos clorogênicos, cafeína, açúcares solúveis, ácidos graxos, etc.), podem ser úteis para explicar as alterações na qualidade da bebida do café durante o armazenamento (JOËT et al., 2010; RIBEIRO et al., 2016; TAVEIRA et al., 2014).

O mercado de cafés especiais tem demandado por tecnologias, para preservar as características qualitativas dos grãos cru de café por maior período de tempo (BORÉM et al., 2013; RIBEIRO et al., 2011; TRUBEY; RAUDALES; MORALES, 2005) e que seja acessível economicamente. A embalagem mais utilizada para o acondicionamento dos grãos crus de café ainda é a sacaria de juta. Todavia, por ser permeável, não é considerada adequada para o armazenamento de cafés especiais (BORÉM et al., 2013). Além dos sacos de juta, os *big bags* têm sido cada vez mais utilizados por serem de fácil adaptação à mecanização, minimizando o uso de mão de obra. Assim como nos sacos de juta, uma das desvantagens é a permeabilidade ao ar ambiente.

Recentemente, estudos demonstraram eficiência no uso de embalagens em atmosfera artificial. O princípio de funcionamento da atmosfera artificial baseia-se na modificação da concentração de gases da atmosfera natural, fazendo com que o produto acondicionado apresente drástica redução nos processos metabólicos, mantendo suas características iniciais por maiores períodos (BORÉM et al., 2008; CHITARRA; CHITARRA, 1990). São consideradas atmosfera artificial as técnicas de atmosfera controlada, atmosfera modificada e atmosfera hipobárica (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

A atmosfera controlada baseia-se na modificação e monitoramento periódico da concentração dos gases como CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>, no ambiente de armazenamento e em níveis diferentes da atmosfera normal. Já a atmosfera modificada é aquela formada, em recipiente hermeticamente fechado, criada ao redor do produto, por impermeabilidade da embalagem e por respiração do produto, porém sem controle das concentrações dos gases formados ou existentes (WHITE; LEESCH, 1996). O armazenamento hipobárico corresponde ao armazenamento sob vácuo parcial pela redução na pressão parcial de O<sub>2</sub> (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

Embalagens de plástico impermeáveis a gases e vapor d'água, denominadas GrainPro®, começaram a ser utilizadas, para revestir os sacos de juta, principalmente, para a exportação ou armazenamento por longos períodos de grãos de cafés especiais há anos (TRUBEY; RAUDALES; MORALES, 2005). No entanto este tipo de embalagem tem apenas a capacidade de 60 kg e não oferece proteção contra o transporte mecânico, o que, muitas vezes, resulta em um produto danificado ao chegar ao seu destino final. Outra opção utilizada por empresas brasileiras de produção e exportação de café é o acondicionamento hipobárico. Entretanto tanto as embalagens GrainPro® quanto o acondicionamento hipobárico são tecnologias que possuem elevado custo e não são viáveis para diversos produtores e exportadores de café (BORÉM et al., 2008).

Estudos demonstraram a eficiência de métodos de acondicionamento que modificam imediatamente a concentração dos gases no interior da embalagem pela melhor preservação da qualidade sensorial e física dos grãos, quando comparado a embalagens que apenas promovem a modificação da atmosfera lentamente, a exemplo do GrainPro®. Neste contexto, destacam-se o uso de *big bags* herméticos com injeção de CO<sub>2</sub> e embalagens impermeáveis com atmosfera modificada ativamente (injeção de 10% de CO<sub>2</sub>) (BORÉM et al., 2013; RIBEIRO et al., 2011). Recentemente, empresas do setor de café contemplaram convênio público-privado com o objetivo de avaliar o desempenho de embalagens desenvolvidas por empresas para o acondicionamento de grãos crus de cafés especiais. Os resultados dessa pesquisa comprovaram que embalagens com alta barreira a gases, vapor d'água e luz são eficientes para conservar as características sensoriais, físicas e químicas dos grãos por longos períodos (ANDRADE, 2017).

Apesar da evolução tecnológica, para o acondicionamento dos grãos crus de café e já terem sido descritos compostos associados ao aroma e sabor de café velho, nenhuma embalagem em uso é capaz de manter a qualidade inicial dos grãos e parar o fenômeno do envelhecimento dos grãos (ANDRADE, 2017; BORÉM et al., 2013; RIBEIRO et al., 2011).

Além disso, uma vez detectada a alteração sensorial característica de café envelhecido, não é possível reverter essa situação.

## **2.6 Novas abordagens para avaliar as alterações metabólicas dos grãos crus de café armazenados**

A matriz química dos alimentos é extremamente complexa. Do ponto de vista químico, cada alimento pode ser considerado uma mistura complexa, contendo inúmeros metabólitos, amplamente variáveis em concentração e propriedades químicas. Para compreender os diferentes aspectos químicos relacionados à composição original dos alimentos e compreender a dinâmica de transformações metabólicas que podem ocorrer, durante os processos a que os alimentos são submetidos, são necessárias abordagens modernas na análise de alimentos (CAPOZZI; BORDONI, 2013; CIFUENTES, 2012; MINOJA; NAPOLI, 2014).

Nesta perspectiva, uma nova área da ciência e tecnologia dos alimentos, denominada *Foodomics*, tem ganhado destaque por enfatizar a importância de uma visão holística dos compostos químicos presentes nos alimentos (CAPOZZI; BORDONI, 2013; CIFUENTES, 2012). As quatro tecnologias "*omics*", ou seja, a genômica (análise gênica), transcriptômica (análise da expressão gênica), proteômica (estudo do conjunto de proteínas) e metabolômica são ferramentas potentes para fornecer informações sobre todas as propriedades dos alimentos (CAPOZZI; BORDONI, 2013; CIFUENTES, 2012; D'ALESSANDRO; ZOLLA, 2012). Dentre essas tecnologias, a abordagem metabolômica investiga o metabolismo dos compostos químicos presentes nos sistemas biológicos.

Técnicas espectroscópicas e cromatográficas são consideradas técnicas de análise metabolômicas (CAPOZZI; BORDONI, 2013; CIFUENTES, 2012). Destacam-se a espectroscopia Raman, ressonância magnética nuclear (RMN) e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) com elevado potencial, para avaliar a qualidade dos grãos crus de café, durante o armazenamento.

### **2.6.1 Espectroscopia Raman**

A espectroscopia Raman é uma técnica de espalhamento de luz a qual permite a identificação de materiais orgânicos e inorgânicos. A técnica fornece informação vibracional dos grupos funcionais presentes na amostra, permitindo obter conhecimento da composição

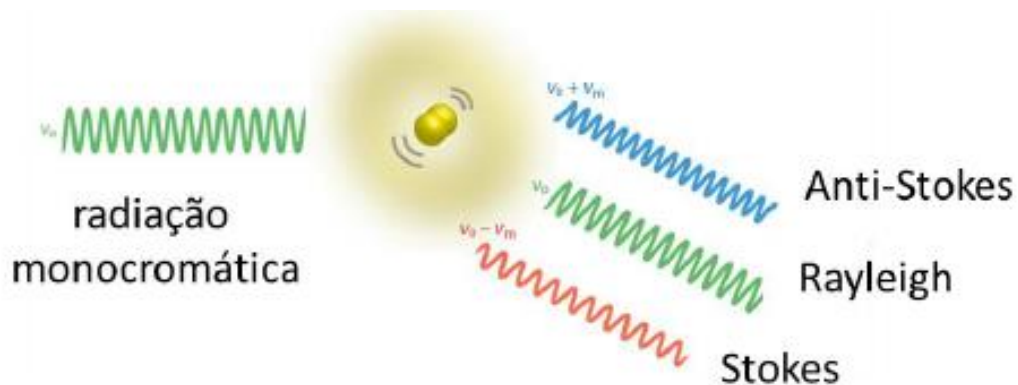
química e estrutural do material analisado. O espectro Raman é obtido, medindo a diferença de energia entre a radiação monocromática incidente e a radiação espalhada inelasticamente pela amostra, essa diferença de energia corresponde à diferença de energia entre dois estados vibracionais.

### 2.6.1.1 Efeito Raman

No momento em que a radiação eletromagnética interage com os elétrons e núcleos dos átomos, a radiação pode ser absorvida, transmitida ou espalhada. Essas interações originam uma série de técnicas espectroscópicas, que possibilitam obter informações sobre estrutura molecular, níveis de energia, ligações químicas, identificação e quantificação de elementos químicos e moléculas.

Quando a radiação é espalhada, a maior parte dos fótons é espalhada elasticamente, ou seja, a radiação espalhada tem a mesma energia que a radiação incidida. Esse tipo de espalhamento não traz nenhuma informação, a respeito da estrutura e composição molecular e é chamado de espalhamento Rayleigh. No entanto uma pequena fração da radiação pode ser espalhada inelasticamente, ou seja, com energia diferente da incidida. Quando a energia espalhada é menor que a incidida, o espalhamento é chamado de Stokes; quando a energia é maior, denomina-se espalhamento anti-Stokes. O espalhamento Stokes é o processo de espalhamento mais eficiente, com maior aplicação em processos biológicos. A Figura 6 ilustra o procedimento de incidência de fótons com uma radiação monocromática sobre a amostra e os diferentes tipos de espalhamentos que podem ocorrer.

Figura 6 - Formas de espalhamentos da radiação que ocorrem quando uma radiação monocromática interage com uma amostra.



Fonte: Adaptada de Opilik, Schmid e Zenobi (2013).

O espalhamento inelástico é conhecido como efeito Raman e foi demonstrado experimentalmente pela primeira vez, em 1928, pelo cientista indiano Sir Chandrasekhara Venkata Raman, após ter sido previsto por Smekal em 1923 (SALA, 2008). A descoberta do efeito Compton, em 1923, levou Raman a considerar a possibilidade de um fenômeno similar, o espalhamento inelástico da radiação para a região visível do espectro eletromagnético. Raman imaginou que seria possível a radiação visível interagir com a matéria de modo que houvesse variação na energia do fóton incidente.

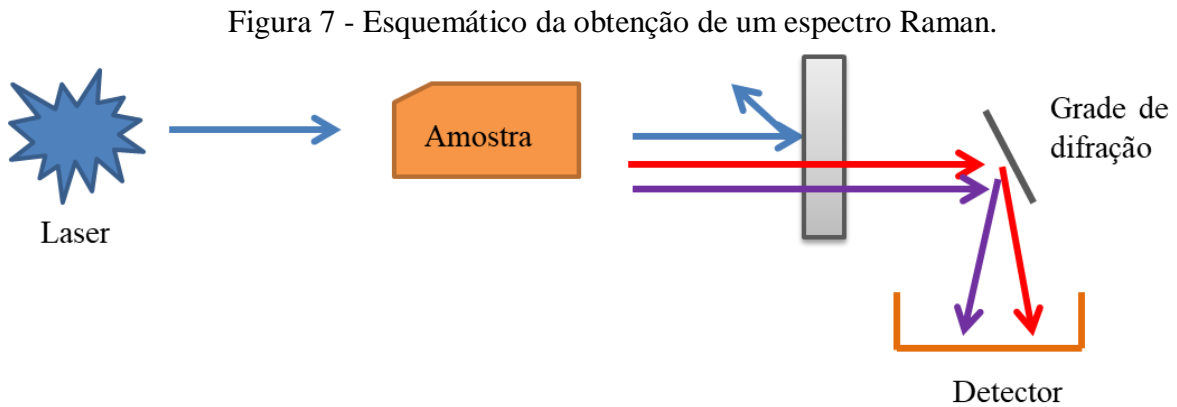
Assim, o físico indiano Raman utilizou a luz solar, um espectrômetro de bolso e o olho humano como detector. A luz solar foi focalizada por intermédio de uma série de lentes, em um recipiente contendo um líquido transparente purificado, e um filtro azul foi colocado antes da amostra para deixar passar apenas a radiação de maior energia do espectro. Observando a amostra, em uma direção perpendicular à direção de iluminação, verificou-se um traço luminoso pelo espalhamento da radiação, demonstrando, assim, um novo tipo de fenômeno, o efeito Raman (FARIA; SANTOS; GONÇALVES, 1997). A importância da descoberta de Raman foi reconhecida em 1930 com o recebimento do prêmio Nobel de Física.

A teoria do espalhamento Raman mostra que o fenômeno resulta do mesmo tipo de alterações vibracionais quantizadas que estão associadas com a absorção no infravermelho. A diferença de comprimento de onda entre a radiação visível incidente e a espalhada corresponde a comprimentos de onda na região do infravermelho médio. De fato, o espectro de espalhamento Raman e o espectro de absorção de infravermelho de uma determinada espécie se assemelham muito. Há diferenças suficientes entre os dois grupos que são ativos no infravermelho e no Raman, para tornar essas técnicas complementares, em vez de competitivas. Entretanto, para algumas aplicações o método Raman oferece mais espectros úteis.

Diferente do infravermelho, as ligações moleculares associadas à dispersão Raman são não polares, portanto é comum que o Raman forneça informações sobre as ligações carbono-carbono, ao longo da cadeia principal dos materiais orgânicos. O espectro gerado por um equipamento Raman, geralmente, é mais nítido e com melhor definição do que os espectros obtidos com o infravermelho e isso pode fornecer mais informações químicas sobre amostras de materiais pouco estudados, além de facilitar a pesquisa de dados nas bibliotecas disponíveis.

Os espectros Raman são obtidos, irradiando-se uma amostra com uma fonte laser potente de radiação monocromática no visível ou no infravermelho próximo. Durante a irradiação, o espectro da radiação espalhada é medido em determinado ângulo

(frequentemente, 90°) com um espectrômetro apropriado. Então, para obter um espectro Raman, são necessários: (i) fonte monocromática, (ii) sistema de iluminação da amostra, (iii) parte óptica e (iv) detector (FIGURA 7).



Fonte: Da autora (2018).

Ao longo dos anos, houve diversas melhorias na instrumentação que permitiu a obtenção de espectros Raman de melhor qualidade e a universalização da técnica, que passou a ser aplicada em diversos sistemas biológicos, biomédicos, arqueológicos, obras de arte e outros. Um espectrômetro Raman registra a radiação que é inelasticamente espalhada, em função da sua energia, mostra cada componente espectral e sua respectiva intensidade em um gráfico chamado de espectro Raman. A radiação espalhada na amostra contém vários comprimentos de onda e necessita ser discriminada para ser apresentada como bandas.

As componentes espectrais podem ser separadas por redes de difração e prismas, que compõem os equipamentos Raman dispersivos. Esse espectrômetro opera com laser, na região do visível e início do infravermelho próximo (785 nm) e utiliza detectores multicanais, como o dispositivo de carga acoplada CCD - *charge-coupled device*. Este detector registra uma janela do espectro por vez e é constituído por uma matriz de fotodiodo, em que cada fotodiodo é denominado de pixel. Outro modo de discriminação da radiação espalhada é por equipamentos interferométricos. Nesses equipamentos, cria-se um padrão de interferência gerando um interferograma durante o movimento dos espelhos. Nesse caso, a radiação é refletida em um espelho fixo e em outro móvel. O espectro é obtido pela aplicação da transformada de Fourier no interferograma. Os equipamentos com excitação no infravermelho próximo (1064 nm) são interferométricos.

O uso de laser, na região do infravermelho próximo, evita o problema da fluorescência. Entretanto, como a intensidade da radiação espalhada é proporcional à quarta



potência da frequência da radiação incidida, nessa região, o efeito Raman é fraco. Por isso, é necessário o uso de um interferômetro, que possibilite somar os espectros e melhorar a qualidade. Os detectores usados em equipamentos FT-Raman são geralmente fotodiodos semicondutores, como Germânio resfriado com nitrogênio líquido.

O espectro Raman é composto por bandas Raman, ruído cósmico, raios cósmicos e fluorescência. Por isso, é necessário realizar o pré-tratamento dos espectros. Existem vários métodos para pré-processamento (LASCH, 2012; VIDAL; AMIGO, 2012) e a escolha do mais adequado não é trivial e depende do objetivo da análise. Adiante serão comentados os pré-processamentos que serão utilizados neste trabalho.

### **2.6.1.2 Aplicação da Espectroscopia Raman em alimentos**

Há grande potencial de aplicação da técnica Raman na área de alimentos. Além de informações sobre concentração, a técnica também fornece informações sobre a estrutura e interação de moléculas no interior das células e tecidos intactos. Possui a conveniência de ser não destrutiva, necessitar de pequenas porções de amostras e não requer extração, homogeneização, utilização de corantes ou qualquer outro agente de marcação, ou ainda qualquer pré-tratamento das amostras. Por estas características, a espectroscopia Raman é uma ferramenta potencial, para a avaliação dos sistemas de qualidade dos alimentos, durante a manipulação, processamento e armazenagem (BOYACI et al., 2015; LI-CHAN, 1996).

A aplicação da espectroscopia Raman em grãos agrícolas abrange a área de segurança alimentar, qualidade e assinatura química de constituintes de vários tipos de grãos, como cacau, tabaco, algodão, arroz, trigo (CELEDON; AGUILERA, 2002; CHOI; MA, 2007; CRAIG; FRANCA; IRUDAYARAJ, 2013; EDWARDS et al., 2005).

Para o café, destacam-se os trabalhos em que foi possível discriminar, por meio de componentes químicos, as espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* P. (EL-ABASSY; DONFACK; MATERNY, 2011; KEIDEL et al., 2010; RUBAYIZA; MEURENS, 2005; WERMELINGER et al., 2011) e estudos dos isômeros do ácido clorogênico (ERAVUCHIRA et al., 2012).

Rubayiza e Meurens (2005) estudaram a eficiência da espectroscopia Raman, na distinção de grãos crus e torrados de cafés de diferentes espécies produzidos em ambientes distintos. Os autores encontraram que cafés arábica, provenientes de regiões de elevada altitude, como Quênia e Jamaica, apresentam altas concentrações de caveol enquanto os cafés

arábica, provenientes de regiões de baixa altitude, como Austrália, apresentam baixas concentrações de caveol.

Keidel et al. (2010) utilizaram a espectroscopia Raman, para distinguir as espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* pelo conteúdo de caveol. A proporção relativa do caveol em grãos de café foi determinada, quantitativamente, por meio de uma análise dos componentes do espectro, produzindo um índice espectral do caveol, proporcional ao conteúdo relativo de caveol no grão de café. O uso da espectroscopia Raman foi eficiente em classificar os grãos de café, de acordo a espécie, por conteúdo de caveol. Wermelinger et al. (2011) avaliaram a eficiência da espectroscopia Raman na determinação da proporção de café arábica e robusta em *blends*. No estudo, os autores concluíram que a espectroscopia Raman permitiu a medição da proporção de cafés das diferentes espécies no *blends* por meio de várias abordagens. A abordagem mais promissora é medir o conteúdo relativo de caveol por intermédio da razão de intensidade entre a banda de caveol e as bandas Raman de ácidos graxos.

El-Abassy, Donfack e Materny (2011) utilizaram a microespectroscopia Raman para discriminar grãos de café das espécies *Coffea arabica* e *C. canephora* P. com base no teor de ácido clorogênico (CGA) e lipídios. Os espectros Raman revelam diferentes CGA e composições lipídicas entre os cafés das diferentes espécies. A faixa espectral de 1000 e 1750  $\text{cm}^{-1}$ , característica por banda do CGA, foi considerada região de impressão digital responsável pela separação das espécies. Além disso, a faixa espectral de 2700 a 3050  $\text{cm}^{-1}$ , dominada por bandas lipídicas, é confiável para discriminar as duas espécies de café.

Apesar de inúmeros trabalhos utilizarem a técnica em grãos de café, não há relatos na literatura do uso da técnica, para avaliar compostos químicos relacionados ao envelhecimento dos grãos cru de café, durante o armazenamento.

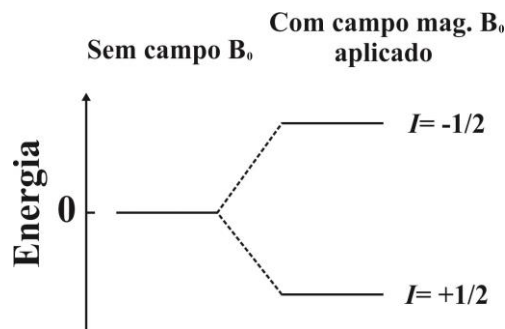
### **2.6.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear é uma poderosa ferramenta que vem sendo aplicada para elucidação estrutural e estudo de transformações químicas em produtos agrícolas (BERNARDINELLI et al., 2015; LIU; CHEN, 2016; TSUCHIDA et al., 2014).

A teoria da ressonância magnética nuclear envolve a absorção de radiação eletromagnética, na região da rádio frequência (rf), em uma frequência governada pelas características da amostra. Os núcleos de determinados elementos e isótopos podem absorver

uma determinada energia, em um processo denominado ressonância magnética, como é o caso do  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O núcleo atômico possui propriedades magnéticas como: número de spin ( $I$ ) e momento magnético nuclear ( $\mu$ ). Núcleos que possuem número de spin  $\frac{1}{2}$  apresentam uma distribuição de carga esférica e uniforme que, quando submetidos a um campo magnético, podem assumir duas orientações possíveis ( $2I + 1$ , efeito Zeeman) (CREWS; RODRIGUEZ; JASPARS, 2009). Na Figura 8 são representados os níveis de energia para o hidrogênio sob a ação de um campo magnético.

Figura 8 - Representação dos níveis de energia para o hidrogênio sob ação de um campo magnético  $B_0$ .



Fonte: Skoog (2009).

O núcleo possui um baixo campo magnético, em razão da presença de cargas em movimento. Assim, o momento magnético  $\mu$  é proporcional ao seu spin, como descreve a Equação 1 (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 2006).

$$\mu = \frac{\gamma I h}{2\pi} \quad (1)$$

A constante fundamental nuclear,  $\gamma$ , é chamada de razão giromagnética e  $h$  é a constante de Planck. A diferença de energia (energia de transição,  $\Delta E$ ) é dada pela Equação 2 (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 2006).

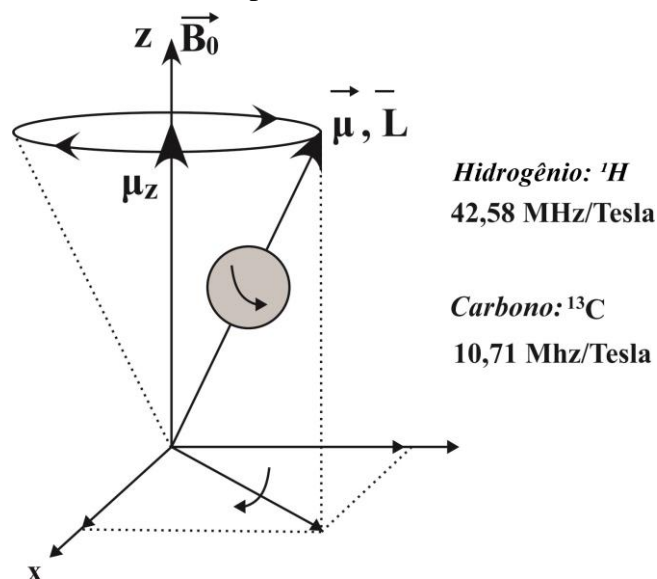
$$\Delta E = \frac{\gamma h B}{2\pi} \quad (2)$$

Sem a presença de um campo magnético, o núcleo gira em torno do próprio eixo. Com a introdução do campo magnético, o núcleo passa a ter um movimento de precessão em torno do eixo z (FIGURA 9). A frequência de precessão é chamada de frequência de Larmor, que é idêntica à de transição. A energia potencial de precessão do núcleo é dada pela Equação 3.

$$E = -\mu B \cos\theta \quad (3)$$

Em que  $\theta$  é o ângulo formado entre a direção do campo magnético (B) e o eixo de rotação nuclear. Quando a energia é absorvida, o ângulo de precessão varia. Após a absorção de energia pelo núcleo, ocorre o processo de relaxação (retorno ao estado fundamental). A relaxação ocorre de dois modos: (1) relaxação longitudinal, que envolve transferência de energia do núcleo no estado de maior energia para as moléculas mais próximas e (2) relaxação transversal, que envolve a variação de entalpia de um núcleo para outro (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 2006).

Figura 9 - Movimento de precessão de um núcleo de hidrogênio.



Fonte: Da autora (2018).

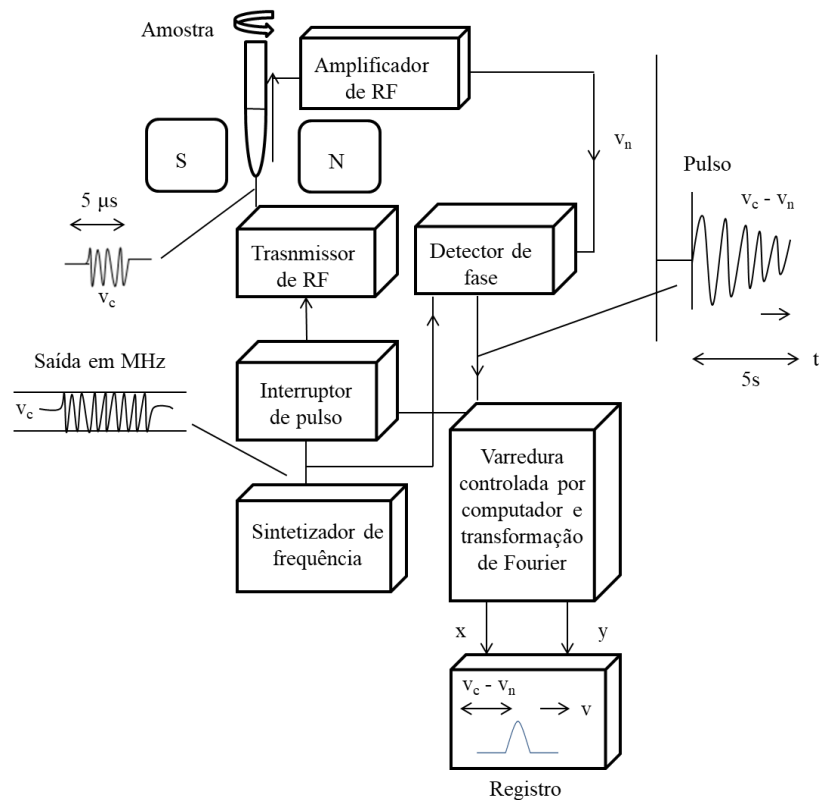
A frequência de radiação de radiofrequência que é absorvida por um certo núcleo é fortemente afetada pelo seu ambiente eletrônico, ou seja, por elétrons e núcleos próximos. Em consequência, mesmo moléculas simples produzem uma grande quantidade de informações espectrais que podem servir para elucidar suas estruturas químicas. Este efeito faz com que ocorram pequenas diferenças na frequência de absorção dos núcleos as quais dependem do grupo químico a que o átomo está ligado. Esse efeito é denominado *deslocamento químico*.

Além disso, outro efeito pode ser observado pela influência magnética dos núcleos vizinhos e é chamado de *desdobramento spin-spin* (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 2006). Como resultado a este fenômeno, obtém-se por espectroscopia de RMN um gráfico das frequências dos picos de absorção em virtude das suas intensidades.

Os fabricantes de instrumentos comercializam dois tipos de espectrômetros de RMN: espectrômetros de linhas largas e espectrômetros de alta resolução. Os instrumentos de linhas largas têm ímãs com alguns décimos de tesla e são mais simples e baratos que os instrumentos de alta resolução. Os instrumentos de alta resolução são equipados com ímãs de intensidades que vão de 1,4 a 14 T, o que corresponde a frequências de hidrogênios de 60 a 1 mil MHz. Atualmente os espectrômetros de RMN de alta resolução possuem transformada de Fourier equipados com solenoides supercondutores para fornecer o campo magnético. Computadores são parte integrante dos instrumentos de RMN que digitalizam e armazenam o sinal, fazem a transformação de Fourier do FID (*Free Induction Decay*), para fornecer o sinal no domínio de frequências e possibilitam muitos outros tratamentos de dados e funções de controle do instrumento.

A Figura 10 mostra um diagrama de blocos simplificado com os componentes de um espectrômetro típico de RMN com transformada de Fourier. O componente central do instrumento é um ímã altamente estável no qual é colocada a amostra, circundada por uma bobina transmissora/receptora.

Figura 10 - Diagrama de blocos de um espectrômetro de RMN com transformada de Fourier.



Fonte: Da autora (2018).

A radiação de radiofrequência intensa é produzida por um sintetizador de frequência controlado por cristal com frequência de saída de  $\nu_c$ . Esse sinal passa por um interruptor pulsador e por um amplificador de potência que cria um pulso de corrente de radiofrequência intenso e reprodutível na bobina transmissora. A radiação de radiofrequência resultante incide na amostra que está dentro da bobina. A duração, amplitude, forma e fase do pulso são selecionados pelo operador. Durante o intervalo de pulsos, um sinal de FID é emitido pelos núcleos à medida que eles relaxam. O sinal de FID resultante é recolhido pela mesma bobina que agora serve como receptor. O sinal é então amplificado e transmitido a um detector de fase. O circuito do detector produz as diferenças entre os sinais nucleares  $\nu_n$  e a saída do oscilador de cristal  $\nu_c$  o que leva ao sinal de baixa frequência no domínio do tempo mostrado à direita da Figura 16. Esse sinal é digitalizado e armazenado, na memória do computador, para análise de dados. A saída desse programa é registrada, fornecendo um espectro no domínio de frequência (SKOOG, 2009).

### 2.6.2.1 Aplicação da técnica RMN em alimentos

A RMN é reconhecida como uma das principais metodologias que proporcionam panorama completo dos metabólitos e tem sido aplicada para elucidação estrutural e estudo de transformações químicas nos alimentos (CAPOZZI; BORDONI, 2013; LAGHI; PICONE; CAPOZZI, 2014; LIU et al., 2017; LIU; CHEN, 2016; MANNINA; SOBOLEV; VIEL, 2012; SOBOLEV et al., 2017; TRIMIGNO et al., 2015). Um único espectro de RMN contém os sinais provenientes dos hidrogênios de todas as moléculas presentes na amostra e possíveis de detecção pela técnica, o que permite obter rapidamente informações completas sobre a composição química (MANNINA; SOBOLEV; VIEL, 2012). Juntamente com o uso de ferramentas quimiométricas, a espectroscopia de RMN fornece resultados relevantes, na área de segurança alimentar, controle de qualidade, qualidade sensorial, origem geográfica e *fingerprint* de bebidas e alimentos (FAN et al., 2017; HUO et al., 2017; LI et al., 2017; MALMENDAL et al., 2011; MANNINA; SOBOLEV; VIEL, 2012; MARSEGLIA et al., 2016; MINOJA; NAPOLI, 2014; PALARIC et al., 2018; PRAKASH et al., 2016; ROCHFORT et al., 2010; SOBOLEV et al., 2017).

A espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  já foi utilizada com sucesso, para estudar alterações metabólicas no suco de laranja e grãos crus de arroz, durante o armazenamento (OLIVEIRA; CARNEIRO; FERREIRA, 2014; ZHENG et al., 2017). Nos grãos crus de arroz armazenados, a técnica foi eficiente em detectar alterações, na composição dos fosfolipídios, presentes nas membranas celulares, indicando que as alterações decorrentes do armazenamento estão relacionadas à desestruturação das biomembranas (ZHENG et al., 2017). Nos dois estudos, os autores acreditam que a técnica de RMN de  $^1\text{H}$  poderia ser aplicada em estudos de degradação de alimentos. No caso de arroz armazenado, os autores revelaram que a técnica auxilia a estimar períodos e condições ótimas de armazenamento.

Pesquisas com grãos crus e torrados de café já foram realizadas utilizando a técnica de RMN. As principais pesquisas foram realizadas com o objetivo de detectar metabólitos capazes de distinguir espécie *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* P. e, assim, identificar contaminação e/ou fraudes no café torrado (CAGLIANI et al., 2013; CIARAMELLI et al., 2017; DEFERNEZ et al., 2017; GUNNING et al., 2018; MONAKHOVA et al., 2015); discriminar amostras de café de diferentes países, incluindo países vizinhos (ARANA et al., 2015; CONSONNI; CAGLIANI; COGLIATI, 2012; KWON et al., 2015; WEI et al., 2012a); estudar os efeitos da bebida na saúde (CIARAMELLI et al., 2018), caracterizar quimicamente

os grãos (BOSCO et al., 1999; DEL CAMPO et al., 2010) e avaliar metabólitos relacionados com a qualidade dos grãos crus (KWON et al., 2015).

Em estudo com o objetivo de caracterizar metabolicamente grãos de café arábica, proveniente de diversas origens geográficas, à espectroscopia por RMN, associado a ferramentas quimiométricas, determinou-se que níveis elevados de sacarose e baixos níveis de GABA (ácido gama-aminobutírico), ácido quínico, colina, ácido acético e ácidos graxos são marcadores de grãos crus de café de alta qualidade (KWON et al., 2015). Entretanto não há informação científica sobre o uso da técnica para a avaliação de qualidade sensorial do café e as relações com a deterioração da bebida ao longo do armazenamento dos grãos crus.

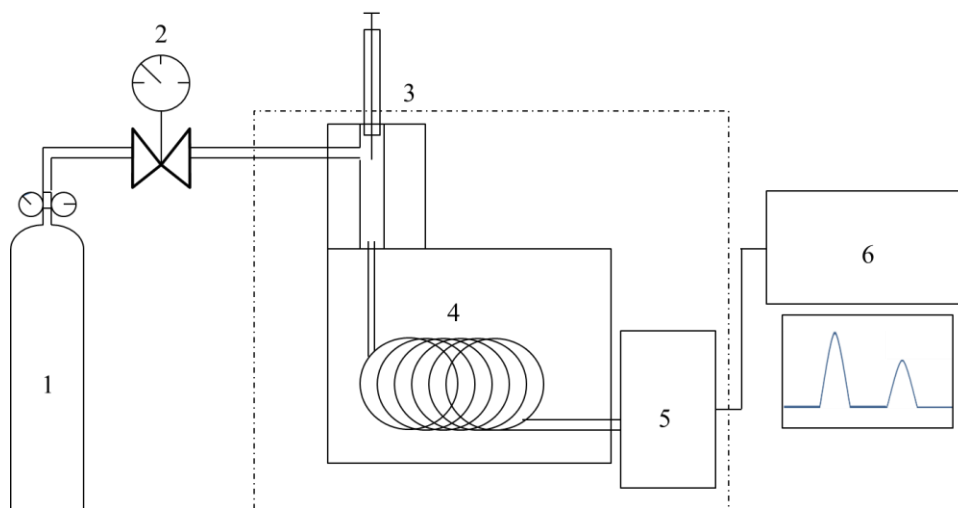
### **2.6.3 Cromatografia gasosa de alta resolução - perfil de compostos voláteis**

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação de compostos voláteis que utiliza como fase móvel um gás inerte (hidrogênio, hélio, nitrogênio) e como fase estacionária um líquido (com ponto de ebulição elevado) ligado a um suporte sólido inerte. A amostra é volatilizada no injetor e os compostos analisados são distribuídos entre as duas fases, ao longo da coluna cromatográfica, por meio dos mecanismos de separação, partição e adsorção. A afinidade por que tais compostos apresentam-se com ambas as fases irá determinar seu tempo de retenção. Compostos com baixa afinidade com a fase estacionária evoluem mais rapidamente. Ao final da coluna, estão localizados o sistema de detecção e o registrador (computador) (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

O esquema básico de um cromatógrafo a gás é mostrado na Figura 11. As temperaturas dos componentes delimitados pela linha tracejada são controladas individualmente.



Figura 11 - Esquema de cromatógrafo a gás: 1: fonte do gás de arraste; 2: controlador da vazão e regulador de pressão; 3: sistema de injeção da amostra; 4: coluna cromatográfica; 5: sistema de detecção; 6: sistema de registro e tratamento dos dados.



Fonte: Da autora (2018).

A cromatografia gasosa é uma técnica com poder de resolução excelente, tornando possível, muitas vezes, a análise de dezenas de substâncias de uma mesma amostra. Além disso, é uma técnica com baixo limite de detecção dependendo do detector utilizado. Essa característica faz com que seja necessária pequena porção da amostra para realizar a análise. Para tornar a técnica mais eficiente, na identificação segura dos compostos presentes na amostra, são necessárias técnicas auxiliares. Nesse caso, destacam-se os equipamentos com espectrômetro de massa acoplado (GC-MS), que também funcionam como um detector universal (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

## 2.7 Ferramentas quimiométricas

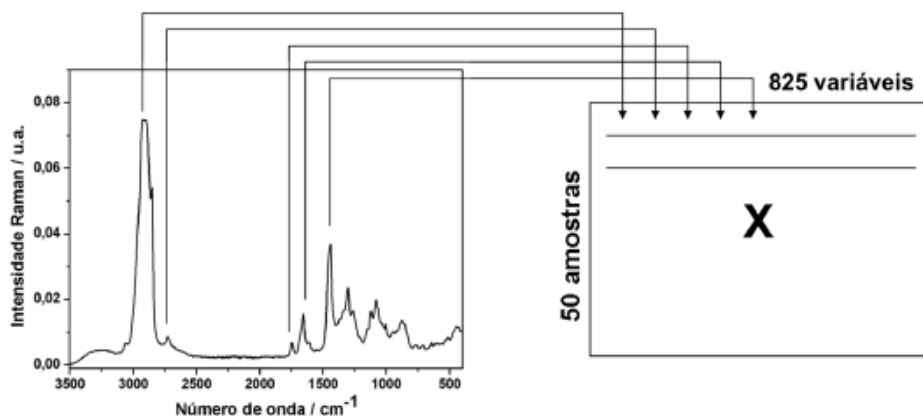
O uso de estatística multivariada permite que muitas variáveis sejam analisadas simultaneamente. Isso possibilita extrair inúmeras informações de um conjunto de dados. Na área química, esse tipo de análise é conhecido como quimiometria e é definida como o uso de ferramentas estatísticas e matemáticas em dados químicos. Os métodos quimiométricos podem ser aplicados para planejamento e otimização de experimentos; para a extração e interpretação de dados químicos multivariados com o objetivo do reconhecimento de padrões, classificação, modelagem, processamento de imagens e outros.

Os métodos de reconhecimento de padrões permitem identificar similaridades e diferenças nas propriedades das amostras e/ou variáveis e classificá-las de acordo com essas características. Esses métodos são divididos em dois segmentos: os de treinamento não supervisionado e os de treinamento supervisionado.

Os métodos de treinamento não supervisionados não requerem suposição inicial sobre a estrutura dos dados e o objetivo é encontrar agrupamentos naturais. A Análise por Componentes Principais (PCA, do inglês, *Principal Component Analysis*) é um dos métodos mais utilizados e difundidos para esse tipo de estudo (BRO; SMILDE, 2014). Já os métodos de treinamento supervisionados são aqueles que necessitam de alguma suposição inicial sobre as amostras estudadas e são empregados para prever se uma amostra pertence a uma determinada classe previamente estabelecida, como, por exemplo, o SIMCA (*Soft Independent Modeling of Class Analogy*) e a Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA, *Partial Least Squares Discriminant Analysis*) (BARKER; RAYENS, 2003).

Para utilização das ferramentas quimiométricas, os dados químicos são arranjados na forma de tabelas ou matrizes de dados (FIGURA 12). Nesta organização, as linhas representam as amostras e as colunas referem-se às variáveis (exemplo, intensidade Raman em diferentes números de onda). Durante uma análise química, grande quantidade de dados pode ser obtida, um espectro Raman coletado para 50 amostras na faixa de 3500 a 200  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  produz uma matriz de dados de dimensões 50 x 825 = 41250 números. Desta forma, é necessário extrair informações importantes de matrizes de dados com essas dimensões.

Figura 12 - Organização dos dados de espectroscopia Raman em uma matriz de dados para aplicação de ferramentas quimiométricas.



Fonte: Almeida (2015).

Nesta tese, serão apresentados somente os métodos empregados para tratamento dos dados obtidos com a espectroscopia Raman, RMN e cromatografia gasosa.

### **2.7.1 Análise por Componentes Principais**

A PCA é um dos métodos mais importantes na quimiometria, sendo a base para vários outros métodos. O objetivo da PCA é transformar grandes matrizes de dados em matrizes menores que podem ser facilmente interpretadas, permitindo extrair o máximo de informação. A PCA converte as informações obtidas em gráficos que mostram a relação entre as amostras e entre as variáveis do sistema em estudo. É um método versátil que possibilita uma visão geral dos dados multivariados, revelando relações entre variáveis e as amostras, permitindo detecção de amostras anômalas, encontrando padrões e mostrando variáveis importantes de um processo.

A PCA tenta agrupar as variáveis que estão altamente correlacionadas em uma nova variável chamada de componente principal. As componentes principais são uma combinação linear das variáveis originais. Normalmente, grande fração da variância é descrita, nos primeiros componentes principais, sendo possível visualizar os dados pelo gráfico dos escores de um componente contra o outro. O gráfico de escores mostra as similaridades e as diferenças entre as amostras e o gráfico dos *loadings* ou pesos, mostra a contribuição de cada variável original para o modelo das componentes principais.

Essa técnica pode ser usada como um método de pré-processamento, a fim de reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados. Em vez de usar todas as variáveis originais, o conjunto de dados pode ser representado pelas componentes principais as quais são empregadas para finalidades diferentes, como regressão linear, análise discriminante, redes neurais artificiais, análise de componentes independentes, resolução multivariada de curvas, e muitas outras (BRO; SMILDE, 2014).

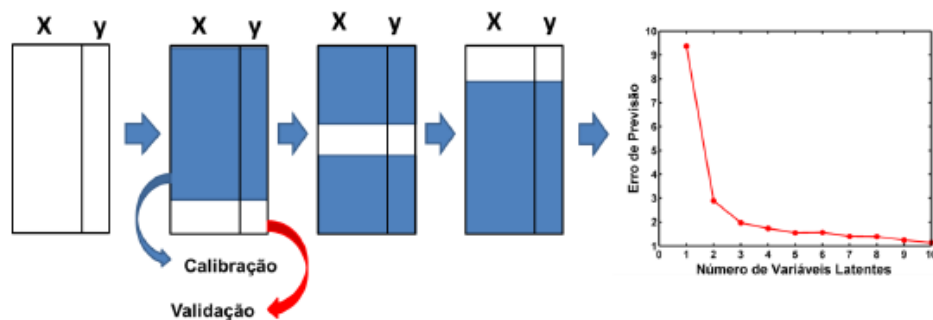
### **2.7.2 Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA)**

O PLS-DA é considerado um método supervisionado, por isso, é necessário conhecimento inicial sobre as classes do conjunto de amostras (BARKER; RAYENS, 2003). As classes são definidas baseadas no conhecimento prévio do sistema ou por meio de uma análise exploratória, como, por exemplo, a Análise de Componentes Principais. Um passo fundamental, para a construção de um modelo PLS-DA, é a determinação do número correto

de variáveis latentes. A escolha do número de variáveis latentes é comumente feita pela validação cruzada, em que uma parte das amostras (ou apenas uma) do conjunto de dados é utilizada para validação.

A Figura 19 ilustra o processo da escolha do número de variáveis latentes: as amostras em conjunto de calibração e validação são separadas e o modelo PLS é construído com as amostras de calibração. As amostras que foram separadas (conjunto de validação) são testadas e os erros de previsão são estimados empregando diferentes números de variáveis latentes. O processo é repetido até que todas as amostras tenham sido previstas, ou seja, tenham participado do conjunto de validação. O número de variáveis latentes escolhido é o que fornece um menor erro de previsão, por exemplo, na Figura 13 seriam escolhidas três variáveis latentes. Se for utilizado menos que três variáveis, o modelo pode apresentar falta de ajuste. Se for utilizado mais que três variáveis latentes, o modelo será sobre ajustado.

Figura 13 - Esquema do particionamento das amostras para validação cruzada.



Fonte: Almeida (2015).

### 2.7.3 Cartas de Controle

Carta de controle é um tipo de gráfico utilizado para acompanhar um processo. Este gráfico determina estatisticamente uma faixa denominada limites de controle que é limitada pela linha superior (limite superior de controle) e uma linha inferior (limite inferior de controle), além de uma linha média. O objetivo com a carta de controle é verificar se o processo está sob controle, o que significa que está isento de alterações e evidenciar, identificar variações indesejadas. Assim é possível aplicar medidas que corrijam variações indesejadas (WERKEMA, 2006).

As cartas de controle estatístico têm sido amplamente utilizadas no monitoramento do desempenho de processos na área de controle de qualidade de alimentos. Por este motivo, tem sido considerada uma das sete ferramentas do controle de qualidade (WERKEMA, 2006).

Além disso, o uso de cartas de controle tem crescido, em função da complexidade em interpretar grandes conjuntos de dados multivariados de instrumentos analíticos, como os obtidos com a espectroscopia Raman (ČLUPEK; MATĚJKA; VOLKA, 2005; LIU et al., 2017).

Várias cartas de controle podem ser desenvolvidas e empregadas para destacar as informações solicitadas. Para cada carta de controle, podem ser utilizados algoritmos específicos, de acordo com o caráter da distribuição de dados. No caso da análise espectroscópica, os dados geralmente têm distribuição normal (MULLINS, 1994).

Uma limitação das cartas de controle é apenas a visualização elementar da estrutura de dados. No entanto os sistemas de gráficos de controle comercialmente disponíveis aceitam, no geral, apenas algumas variáveis (normalmente até 20) como uma entrada padrão, enquanto os espectros Raman possuem milhares de variáveis relevantes. Portanto é necessário encontrar meios que permitam avaliar muito mais variáveis.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da complexidade química da matriz café, as técnicas espectroscópicas, Raman e ressonância magnética nuclear, e a análise de compostos voláteis por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, possuem potencial na compreensão dos fenômenos que ocorrem, durante o armazenamento, relacionados ao envelhecimento dos grãos crus de café e associados à depreciação sensorial da bebida.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, conclui-se que as técnicas espectroscópicas e cromatográficas são eficientes a detectar alterações relacionadas ao envelhecimento dos grãos crus e torrados de café arábica que antecedem à depreciação sensorial. A embalagem de papel permite maiores transformações químicas, nos grãos crus de café, durante o armazenamento e o café natural especial é mais sensível às transformações químicas relacionadas ao armazenamento, quando comparado com o café cereja descascado especial. A embalagem de alta barreira oferece a mesma proteção ao café cru que o acondicionamento a vácuo e é adequada para o acondicionamento de grãos crus de café natural e cereja descascado especial por até 18 meses.

Acredita-se que essas metodologias possam contribuir com a indústria de cafés especiais, na gestão da qualidade e aperfeiçoamento da oferta de café cru especial, ao mercado. Exemplo prático da aplicação dessa ferramenta seria monitorar os indicadores químicos do envelhecimento do café em cada lote e planejar a sua logística de distribuição e comercialização, com a garantia que o consumidor final receberá produto isento de sabor e aroma característico de café velho.

Além disso, metodologias como as utilizadas neste estudo, também possuem potencial para estudar outros fenômenos relacionados à qualidade dos grãos crus e torrados de cafés especiais. Ainda existem várias questões abertas sobre os fatores que afetam a qualidade do café, possivelmente, pois a grande maioria dos estudos utilizam análises específicas para determinados grupos de compostos químicos. Assim, a associação de ferramentas que fornecem panorama sobre diversos compostos químicos tem elevado potencial para contribuir na elucidação dos eventos relacionados à qualidade.

## REFERÊNCIAS

- ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. V. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Seed biology**. 2. ed. Nova York: Academic, 1972. p. 283-316.
- ABREU, G. F. **Aspectos sensoriais, fisiológicos e bioquímicos de grãos de café refrigerado**. 2015. 157 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.
- ABREU, G. F. et al. Alterações na coloração de grãos de café em função das operações pós-colheita. **Coffee Science**, Lavras, v. 10, n. 4, p. 429-436, out./dez. 2015.
- \_\_\_\_\_. Simultaneous optimization of coffee quality variables during storage. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 21, n. 1, p. 56-60, jan. 2017.
- ADAPA, P. et al. Potential applications of infrared and raman spectromicroscopy for agricultural biomass. **Agricultural Engineering International**, Oxford, v. 11, p. 1-24, 2009.
- AGRESTI, P. D. C. M. et al. Discrimination between defective and non-defective Brazilian coffee beans by their volatile profile. **Food Chemistry**, London, v. 106, n. 2, p. 787-796, Jan. 2008.
- ALMEIDA, M. R. **Espectroscopia Raman e quimiometria como ferramentas analíticas para química forense e paleontologia**. 2015. 148 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.
- ANDRADE, F. T. **Qualidade do café natural especial acondicionado em embalagens impermeáveis e armazenado no Brasil e no exterior**. 2017. 108 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- ARANA, V. A. et al. Coffee's country of origin determined by NMR: the Colombian case. **Food Chemistry**, London, v. 175, p. 500-506, May 2015.
- ARRUDA, N. P. et al. Arabica coffee discrimination between maturation stages and post-harvesting processing types, using solid phase microextraction coupled to gas chromatography and principal components analysis. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 819-824, 2011.
- \_\_\_\_\_. Correlação entre precursores e voláteis em café arábica brasileiro processado pelas vias seca, semiúmida e úmida e discriminação através da análise por componentes principais. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 10, p. 2044-2051, 2012.
- AVELINO, J. et al. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 85, n. 11, p. 1869-1876, Aug. 2005.
- BANDEIRA, R. D. C. C. et al. Composição volátil dos defeitos intrínsecos do café por CG/EM-headspace. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 309-314, 2009.

- BARKER, M.; RAYENS, W. Partial least squares for discrimination. **Journal of Chemometrics**, Chichester, v. 17, n. 3, p. 166-173, Mar. 2003.
- BERNARDINELLI, O. D. et al. Quantitative <sup>13</sup>C MultiCP solid-state NMR as a tool for evaluation of cellulose crystallinity index measured directly inside sugarcane biomass. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 8, p. 110, Aug. 2015.
- BERNDT, T.; RICHTERS, S. Products of the reaction of OH radicals with dimethyl sulphide in the absence of NO<sub>x</sub>: experiment and simulation. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 47, p. 316-322, Feb. 2012.
- BERTRAND, B. et al. Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. **Food Chemistry**, London, v. 135, n. 4, p. 2575-2583, Feb. 2012.
- \_\_\_\_\_. Comparison of the effectiveness of fatty acids, chlorogenic acids, and elements for the chemometric discrimination of coffee (*Coffea arabica* L.) varieties and growing origins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 6, p. 2273-2280, Mar. 2008.
- BLANK, I.; SEN, A.; GROSCH, W. Potent odorants of the roasted powder and brew of Arabica coffee. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, Berlin, v. 195, n. 3, p. 239-245, Sept. 1992.
- BONNLÄNDER, B.; COLOMBAN, S.; LONZARICH, V. Lipidomics and the influence on quality of coffee. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 21., Trieste. **Proceedings...Trieste: ASIC**, 2005.
- BONNLÄNDER, B. et al. Analysis of enantiomeric linalool ratio in green and roasted coffee. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 21, n. 4, p. 637-641, July/Aug. 2006.
- BORÉM, F. M. et al. Avaliação sensorial do café cereja descascado, armazenado sob atmosfera artificial e convencional. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1724-1729, nov./dez. 2008.
- \_\_\_\_\_. Evaluation of the sensory and color quality of coffee beans stored in hermetic packaging. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 52, p. 1-6, Jan. 2013.
- BORÉM, F. M.; ISQUIERDO, E. P.; TAVEIRA, J. H. S. Coffee processing. In: BORÉM, F. M. (Ed.). **Handbook of coffee post-harvest technology**. Norcross: Gin Press, 2014. p. 49-68.
- BOSCO, M. et al. High-resolution <sup>1</sup>H NMR investigation of coffee. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 79, n. 6, p. 869-878, May 1999.
- BOYACI, I. H. et al. Dispersive and FT-Raman spectroscopic methods in food analysis. **RSC Advances**, Oxford, v. 5, n. 70, p. 56606-56624, 2015.
- BRÖHAN, M. et al. Influence of storage conditions on aroma compounds in coffee pads using static headspace GC-MS. **Food Chemistry**, London, v. 116, n. 2, p. 480-483, Sept. 2009.



- BRO, R.; SMILDE, A. K. Principal component analysis. **Analytical Methods**, New York, v. 6, n. 9, p. 2812-2831, 2014.
- BUFFO, R. A.; CARDELLI-FREIRE, C. Coffee flavour: an overview. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 19, n. 2, p. 99-104, Mar./Apr. 2004.
- BYTOF, G. et al. Transient occurrence of seed germination processes during coffee post-harvest treatment. **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, n. 1, p. 61-66, July 2007.
- CAGLIANI, L. R. et al. Quantification of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* var. *robusta* in roasted and ground coffee blends. **Talanta**, Oxford, v. 106, p. 169-173, Mar. 2013.
- CAMPANHA, F. C.; DIAS, R. C. E.; BENASSI, M. T. Discrimination of coffee species using kahweol and cafestol: effects of roasting and defects. **Coffee Science**, Lavras, v. 5, n. 1, p. 87-96, jan./abr. 2016.
- CANTERGIANI, E. et al. Characterisation of the aroma of green Mexican coffee and identification of mouldy/earthy defect. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 212, n. 6, p. 648-657, June 2001.
- CAPOZZI, F.; BORDONI, A. Foodomics: a new comprehensive approach to food and nutrition. **Genes and Nutrition**, New Orleans, v. 8, n. 1, p. 1-4, Jan. 2013.
- CASAL, S.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. HPLC/diode-array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. **Food Chemistry**, London, v. 68, n. 4, p. 481-485, Mar. 2000.
- CASTRO, R. D. de; MARRACCINI, P. Cytology, biochemistry and molecular changes during coffee fruit development. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 175-199, jan./mar. 2006.
- CELEDON, A.; AGUILERA, J. M. Applications of microprobe raman spectroscopy in food science. **Food Science and Technology International**, London, v. 8, n. 2, p. 101-108, Apr. 2002.
- CHENG, B. et al. Influence of genotype and environment on coffee quality. **Trends in Food Science and Technology**, Kidlington, v. 57, p. 20-30, 2016.
- CHEONG, M. W. et al. Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. **Food Research International**, Barking, v. 51, n. 1, p. 388-396, Apr. 2013.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320 p.
- CHOI, S. M.; MA, C. Y. Structural characterization of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) using circular dichroism and Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, London, v. 102, n. 1, p. 150-160, 2007.
- CIARAMELLI, C. et al. Authenticity of roasted coffee using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, London, v. 85, p. 243-252, Dec. 2017.

\_\_\_\_\_. NMR-driven identification of anti-amyloidogenic compounds in green and roasted coffee extracts. **Food Chemistry**, London, v. 252, p. 171-180, June 2018.

CIFUENTES, A. Food analysis: present, future, and foodomics. **ISRN Analytical Chemistry**, London, v. 2012, p. 1-16, Oct. 2012.

CLARK, R. J.; MACRAE, R. **Coffee chemistry**. Netherlands: Elsevier Applied Science, 1985. 306 p.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 1033-1043, May 2000.

\_\_\_\_\_. **Coffee**: botany, biochemistry, and production of beans and beverage. Nova York: Croom Helms, 1985. 457 p.

CLIFFORD, M. N. et al. Characterization by LC-MS n of four new classes of chlorogenic acids in green coffee beans: Dimethoxycinnamoylquinic acids, diferuloylquinic acids, caffeoyl-dimethoxycinnamoylquinic acids, and feruloyl-dimethoxycinnamoylquinic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 6, p. 1957-1969, Mar. 2006.

ČLUPEK, M.; MATĚJKA, P.; VOLKA, K. Control charts for chemometric evaluation of Raman spectra. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 744/747, nesp., p. 259-264, 2005.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos da cromatografia**. 2. ed. Campinas: Ed. UNICAMP, 2006. 452 p.

CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ DO BRASIL - CECAFÉ. **Relatório mensal 2017**. Brasília: Conselho dos Exportadores de Café do Brasil, 2017. 21 p.

CONSONNI, R.; CAGLIANI, L. R.; COGLIATI, C. NMR based geographical characterization of roasted coffee. **Talanta**, Oxford, v. 88, p. 420-426, Jan. 2012.

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

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

COSSIGNANI, L. et al. Authentication of Coffea arabica according to Triacylglycerol Stereospecific Composition. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, Cario, v. 2016, p. 7482620, 2016.

CRAIG, A. P.; FRANCA, A. S.; IRUDAYARAJ, J. Surface-enhanced Raman spectroscopy applied to food safety. **Annual Review of Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 4, p. 369-380, 2013.

CREWS, P.; RODRIGUEZ, J.; JASPARS, M. **Organic structure analysis**. 2. ed. Nova York: Oxford University Press, 2009. 656 p.

CZERNY, M.; GROSCH, W. Potent odorants of raw Arabica coffee. Their changes during roasting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 3, p. 868-872, Mar. 2000.

CZERNY, M.; MAYER, F.; GROSCH, W. Sensory study on the character impact odorants of roasted Arabica coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 2, p. 695-699, Feb. 1999.

D'ALESSANDRO, A.; ZOLLA, L. We are what we eat: food safety and proteomics. **Journal of Proteome Research**, Washington, v. 11, n. 1, p. 26-36, Jan. 2012.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. **Química de alimentos de fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

DART, S. K.; NURSTEN, H. E. Volatile components of coffee aroma. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Coffee chemistry**. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1985. v. 1, p. 223-265.

DEFERNEZ, M. et al. Low-field  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy for distinguishing between arabica and robusta ground roast coffees. **Food Chemistry**, v. 216, p. 106-113, Feb. 2017.

DEL CAMPO, G. et al. Quantitative determination of caffeine, formic acid, trigonelline and 5-(hydroxymethyl)furfural in soluble coffees by  $^1\text{H}$  NMR spectrometry. **Talanta**, Oxford, v. 81, n. 1/2, p. 367-371, Apr. 2010.

DESSALEGN, Y. et al. Variation for green coffee beans caffeine, chlorogenic acid, sucrose and trigonelline contents among ethiopian arabica coffee accessions. **Ethiopian Journal of Science**, Addis Ababa, v. 30, n. 1, p. 77-82, 2007.

DIAS, R. C. E. et al. Evaluation of kahweol and cafestol in coffee tissues and roasted coffee by a new high-performance liquid chromatography methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 1, p. 88-93, Jan. 2010.

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

DULSAT-SERRA, N.; QUINTANILLA-CASAS, B.; VICHI, S. Volatile thiols in coffee: a review on their formation, degradation, assessment and influence on coffee sensory quality. **Food Research International**, Barking, v. 89, p. 982-988, Nov. 2016.

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

EDWARDS, H. G. M. et al. Analytical Raman spectroscopic study of cacao seeds and their chemical extracts. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 538, n. 1/2, p. 175-180, May 2005.

EL-ABASSY, R. M.; DONFACK, P.; MATERNY, A. Discrimination between Arabica and Robusta green coffee using visible micro Raman spectroscopy and chemometric analysis. **Food Chemistry**, London, v. 126, n. 3, p. 1443-1448, June 2011.

ERAVUCHIRA, P. J. et al. Raman spectroscopic characterization of different regioisomers of monoacyl and diacyl chlorogenic acid. **Vibrational Spectroscopy**, Amsterdam, v. 61, p. 10-16, July 2012.

FAN, S. et al. Classification of Chinese wine varieties using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy combined with multivariate statistical analysis. **Food Control**, Guildford, v. 88, p. 113-122, June 2017.

FARAH, A. Coffee constituents. In: CHU, Y.-F. (Ed.). **Coffee: emerging health effects and disease prevention**. Oxford: Blackwell Publishing, 2012. p. 21-58.

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

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

FARIA, D. L. A.; SANTOS, L. G. C.; GONÇALVES, N. S. Uma demonstração sobre espalhamento inelástico da luz. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, n. 3, p. 319-323, 1997.

FASSIO, L. de O. et al. Sensory description of cultivars (*Coffea arabica* L.) resistant to rust and its correlation with caffeine, trigonelline, and chlorogenic acid compounds. **Beverages**, London, v. 2, n. 1, p. 1-12, Jan. 2016.

\_\_\_\_\_. Sensory profile and chemical composition of specialty coffees from matas de Minas Gerais, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, Netherlands, v. 9, n. 9, p. 1916-9760, 2017.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

FIGUEIREDO, L. P. et al. Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions. **African Journal of Agricultural Research**, [S.l.], v. 10, n. 35, p. 3484-3493, Aug. 2015.

\_\_\_\_\_. The potential for high quality bourbon coffees from different environments. **Journal of Agricultural Science**, Netherlands, v. 5, n. 10, p. 87-98, 2013.

FLAMENT, I. Coffee, cocoa, and tea. **Food Review International**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 317-414, 1989.

\_\_\_\_\_. **Coffee flavor chemistry**. Amsterdam: John Wiley & Sons, 2002. 410 p.

FLAMENT, I. et al. Les composants furanniques de l'arôme de café: quelques aspects chimiques et spectroscopiques. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON GREEN AND ROASTED COFFEE CHEMISTRY - ANALYTICAL METHODS AND CHEMICAL COMPOSITION, 3., 1968, Paris. **Proceedings...** Paris: ASIC, 1968.

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

GALLI, V.; BARBAS, C. Capillary electrophoresis for the analysis of short-chain organic acids in coffee. **Journal of Chromatography. A**, Amsterdam, v. 1032, n. 1/2, p. 299-304, Apr. 2004.

GHOSH, P.; VENKATACHALAPATHY, N. Processing and drying of coffee - a review. **International Journal of Engineering Research & Technology**, Ghaziabad, v. 3, n. 12, p. 784-794, Dec. 2014.

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

GLOESS, A. N. et al. Evidence of different flavour formation dynamics by roasting coffee from different origins: on-line analysis with PTR-ToF-MS. **International Journal of Mass Spectrometry**, Amsterdam, v. 365/366, p. 324-337, May 2014.

GONZALEZ-RIOS, O. et al. Impact of "ecological" post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 20, n. 3/4, p. 289-296, May 2007a.

\_\_\_\_\_. Impact of "ecological" post-harvest processing on coffee aroma: II. Roasted coffee. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 20, n. 3/4, p. 297-307, May 2007b.

GROSCH, W. Chemistry III : volatile compounds. In: CLARKE, R. J.; VITZTHUM, O. G. (Ed.). **Coffee: recent developments**. Amsterdam: Wiley & Sons, 2001. p. 68-89.

GROSCH, W. et al. Sensory studies on the key odorants of roasted coffee. **Caffeinated Beverages**, London, v. 754, p. 202-209, 2000.

GUNNING, Y. et al. 16-O-methylcafestol is present in ground roast Arabica coffees: implications for authenticity testing. **Food Chemistry**, London, v. 248, p. 52-60, May 2018.

GUYOT, B.; CROS, E.; VINCENT, J. C. Caractérisation et Identification de la Fraction Volatile d'un Café vert Arabica Saint et d'un Café vert Arabica Puant. **Café, Cacao, Thé**, Paris, v. 26, n. 4, p. 279-289, 1982.

HOLSCHER, W.; STEINHART, H. Investigation of roasted coffee freshness with an improved headspace technique. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, Berlin, v. 195, n. 1, p. 33-38, July 1992.

HUO, Y. et al. <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics for discrimination of rice from different geographical origins of China. **Journal of Cereal Science**, London, v. 76, p. 243-252, July 2017.

HWANG, H. I.; HARTMAN, T. G.; HO, C. T. Relative reactivities of amino acids in pyrazine formation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 43, n. 1, p. 179-184, Jan. 1995.

- JHAM, G. N.; MULLER, H. V.; CECON, P. Triacylglycerol molecular species variation in stored coffee beans determined by reverse-high-performance liquid chromatography/refractive index detector. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 44, n. 1, p. 82-89, 2008.
- JOËT, T. et al. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 118, n. 3, p. 693-701, Feb. 2010.
- KALLIO, H. et al. Headspace of roasted ground coffee as an indicator of storage time. **Food Chemistry**, London, v. 36, n. 2, p. 135-148, 1990.
- KAWADA, T. et al. Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods: IX. Identification of the volatile decomposition products of triolein. **The Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 44, n. 5, p. 990-995, 1967.
- KEIDEL, A. et al. Discrimination of green arabica and Robusta coffee beans by Raman spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 21, p. 11187-11192, Oct. 2010.
- KITZBERGER, C. S. G. et al. Profile of the diterpenes, lipid and protein content of different coffee cultivars of three consecutive harvests. **AIMS Agriculture and Food**, Elmsford, v. 1, n. 3, p. 254-264, 2016.
- KNOPP, S.; BYTOF, G.; SELMAR, D. Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 223, n. 2, p. 195-201, June 2006.
- KNYSAK, D. Volatile compounds profiles in unroasted Coffea arabica and Coffea canephora beans from different countries. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 37, n. 3, p. 444-448, jul./set. 2017.
- KRÜGER, R. L.; DALLAGO, R. M.; DI LUCCIO, M. Degradation of dimethyl disulfide using homogeneous Fenton's reaction. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 169, n. 1/3, p. 443-447, Sept. 2009.
- KWON, D.-J. et al. Assessment of green coffee bean metabolites dependent on coffee quality using a <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics approach. **Food Research International**, Barking, v. 67, p. 175-182, Jan. 2015.
- LAGHI, L.; PICONE, G.; CAPOZZI, F. Nuclear magnetic resonance for foodomics beyond food analysis. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 59, p. 93-102, July/Aug. 2014.
- LASCH, P. Spectral pre-processing for biomedical vibrational spectroscopy and microspectroscopic imaging. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam, v. 117, p. 100-114, Aug. 2012.
- LEE, K.-G.; SHIBAMOTO, T. Analysis of volatile components isolated from Hawaiian green coffee beans (*Coffea arabica* L.). **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 17, n. 5, p. 349-351, Sept./Oct. 2002.

LI-CHAN, E. C. Y. The applications of Raman spectroscopy in food science. **Trends in Food Science and Technology**, Kidlington, v. 7, n. 11, p. 361-370, Nov. 1996.

LI, B. Q. et al. An approach to the simultaneous quantitative analysis of metabolites in table wines by  $^1\text{H}$  NMR self-constructed three-dimensional spectra. **Food Chemistry**, London, v. 216, p. 52-59, Feb. 2017.

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook**: systematic guide to the sensory evaluation of Coffee's Flavor. Amsterdam: Specialty Coffee Association of America, 2011. 66 p.

LIU, Z. H.; CHEN, H. Z. Biomass-water interaction and its correlations with enzymatic hydrolysis of steam-exploded corn stover. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, Washington, v. 4, n. 3, p. 1274-1285, 2016.

LIU, Y. J. et al. Multivariate statistical process control (MSPC) using Raman spectroscopy for in-line culture cell monitoring considering time-varying batches synchronized with correlation optimized warping (COW). **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 952, p. 9-17, Feb. 2017.

MAHJABIN, S. B.; ABIDI, A. B. Physiological and biochemical changes during seed deterioration: a review. **International Journal of Recent Scientific Research**, Villupuram, v. 6, n. 4, p. 3416-3422, Apr. 2015.

MALMENDAL, A. et al. NMR spectrometers as "magnetic tongues": prediction of sensory descriptors in canned tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, , n. 20, p. 10831-10838, Oct. 2011.

MANNINA, L.; SOBOLEV, A. P.; VIEL, S. Liquid state  $^1\text{H}$  high field NMR in food analysis. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, Oxford, v. 66, p. 1-39, Oct. 2012.

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

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

MARSEGLIA, A. et al. HR MAS  $^1\text{H}$  NMR and chemometrics as useful tool to assess the geographical origin of cocoa beans - Comparison with HR  $^1\text{H}$  NMR. **Food Research International**, Barking, v. 85, p. 273-281, 2016.

MAYER, F.; GROSCH, W. Aroma simulation on the basis of the odourant composition of roasted coffee headspace. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 16, n. 3, p. 180-190, May/June 2001.

MAZZAFERA, P.; PURCINO, R. Post harvest processing methods and physiological alterations in the coffee fruit. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 2005, Bangalore. **Proceedings...** Bangalore: ASIC, 2005.

MINOJA, A. P.; NAPOLI, C. NMR screening in the quality control of food and nutraceuticals. **Food Research International**, Barking, v. 63, p. 126-131, Sept. 2014.

MONAKHOVA, Y. B. et al. Rapid approach to identify the presence of Arabica and Robusta species in coffee using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, London, v. 182, p. 178-184, Sept. 2015.

MOON, J. K.; SHIBAMOTO, T. Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 57, n. 13, p. 5823-5831, June 2009.

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

MULLINS, E. Introduction to control charts in the analytical laboratory. Tutorial review. **The Analyst**, London, v. 119, n. 3, p. 369, 1994.

NAKAMA, A. et al. Formation of furfural derivatives in amino-carbonyl reaction. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 57, n. 10, p. 1757-1759, 1993.

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

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

OBERTHÜR, T. et al. Regional relationships between inherent coffee quality and growing environment for denomination of origin labels in Nariño and Cauca, Colombia. **Food Policy**, Guildford, v. 36, n. 6, p. 783-794, Dec. 2011.

OLIVEIRA, C. R. de; CARNEIRO, R. L.; FERREIRA, A. G. Tracking the degradation of fresh orange juice and discrimination of orange varieties: An example of NMR in coordination with chemometrics analyses. **Food Chemistry**, London, v. 164, p. 446-453, Dec. 2014.

OLIVEIRA, K. S. et al. Analysis of spreadable cheese by Raman spectroscopy and chemometric tools. **Food Chemistry**, London, v. 194, p. 441-446, Mar. 2016.

OLIVEIRA, L. F. C. Espectroscopia molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 4, p. 24-30, maio 2001.

OPILIK, L.; SCHMID, T.; ZENOBI, R. Modern Raman imaging: vibrational spectroscopy on the micrometer and nanometer scales. **Annual Review of Analytical Chemistry**, Palo Alto, v. 6, p. 379-398, 2013.

PALARIC, C. et al. Combined MS-NMR approach for the quality control of food supplements containing amino acids. **Food Control**, Guildford, v. 88, p. 217-228, June 2018.

PARLIMENT, T. H.; CLINTON, W.; SCARPELLINO, R. Trans-2-Nonenal: coffee compound with novel organoleptic properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 21, n. 3, p. 485-487, May 1973.



PETISCA, C. et al. Furans and other volatile compounds in ground roasted and espresso coffee using headspace solid-phase microextraction: effect of roasting speed. **Food and Bioproducts Processing**, Rugby, v. 91, n. 3, p. 233-241, July 2013.

PICCINO, S. et al. Aromatic composition and potent odorants of the “specialty coffee” brew “Bourbon Pointu” correlated to its three trade classifications. **Food Research International**, Barking, v. 61, p. 264-271, July 2014.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R.; CARVALHO JUNIOR, C. de. Componentes de parede celular de grãos de frutos de café (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tempos à espera da secagem. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 203-209, 2004.

POYRAZ, İ. E. et al. Volatile compounds of *Coffea arabica* L. green and roasted beans. **Anadolu University Journal of Science And Technology - C Life Sciences and Biotechnology**, Anadolu, v. 5, n. 1, p. 31-35, Mar. 2016.

PRAKASH, S. et al. Quantitative analysis of Bordeaux red wine precipitates by solid-state NMR: role of tartrates and polyphenols. **Food Chemistry**, London, v. 199, p. 229-237, May 2016.

RAMOS, M. F. et al. Discrimination of the sensory quality of the *Coffea arabica* L. (cv. Yellow Bourbon) produced in different altitudes using decision trees obtained by the CHAID method. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 96, n. 10, p. 3543-3551, Aug. 2016.

REINATO, C. H. R. et al. Influence of coffee berries drying in different types of terraces, during different storage periods, on coffee quality. **Coffee Science**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 48-60, 2007.

RENDÓN, M. Y.; SALVA, T. de J. G.; BRAGAGNOLO, N. Impact of chemical changes on the sensory characteristics of coffee beans during storage. **Food Chemistry**, London, v. 147, p. 279-286, Mar. 2014.

RIBEIRO, D. E. et al. Interaction of genotype, environment and processing in the chemical composition expression and sensorial quality of Arabica coffee. **African Journal of Agricultural Research**, [S.l.], v. 11, n. 27, p. 2412-2422, July 2016.

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

RIBEIRO, F. C. **Métodos alternativos para armazenamento de cafés especiais**. 2013. 110 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

RIGUEIRA, R. J. de A. et al. Armazenamento de grãos de café cereja descascado em ambiente refrigerado. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 17, n. 4, p. 323-333, jul./ago. 2009.

RISTICEVIC, S.; CARASEK, E.; PAWLISZYN, J. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 617, n. 1/2, p. 72-84, June 2008.

- ROCHFORT, S. et al. Sensory attributes of wine influenced by variety and berry shading discriminated by NMR metabolomics. **Food Chemistry**, London, v. 121, n. 4, p. 1296-1304, Aug. 2010.
- RODRÍGUEZ, J.; DURÁN, C.; REYES, A. Electronic nose for quality control of Colombian coffee through the detection of defects in “Cup Tests”. **Sensors**, Basel, v. 10, n. 1, p. 36-46, 2010.
- ROJAS, J. Green coffee storage. In: WINTGENS, J. N. (Ed.). **Coffee: growing, processing, sustainable production: a guidebook for growers, processors, traders, and researchers**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2008. p. 733-750.
- RUBAYIZA, A. B.; MEURENS, M. Chemical Discrimination of Arabica and Robusta Coffees by fourier transform raman spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 12, p. 4654-4659, May 2005.
- SAATH, R. et al. Activity of some isoenzymatic systems in storage coffee grains. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 1, p. 15-24, jan./fev. 2014.
- \_\_\_\_\_. Alterações na composição química e sensorial de café (*Coffea arabica* L.) nos processos pós-colheita. **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 27, n. 2, p. 96-112, abr./jun. 2012.
- SALA, O. **Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho**. 2. ed. São Paulo: Ed. Unesp, 2008. 280 p.
- SCHEIDIG, C.; CZERNY, M.; SCHIEBERLE, P. Changes in key odorants of raw coffee beans during storage under defined conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, n. 14, p. 5768-5775, July 2007.
- SCHERER, R. et al. (E)-2-Nonenal determination in brazilian beers using headspace solid-phase microextraction and gas chromatographic coupled mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, supl. 1, p. 161-165, maio 2010.
- SCHOLZ, M. B. S. et al. Validation of near-infrared spectroscopy for the quantification of cafestol and kahweol in green coffee. **Food Research International**, Barking, v. 61, p. 176-182, July 2014.
- SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S. E. The storage of green coffee (*Coffea arabica*): decrease of viability and changes of potential aroma precursors. **Annals of Botany**, Oxford, v. 101, n. 1, p. 31-38, Jan. 2008.
- SELMAR, D. et al. Germination of coffee seeds and its significance for coffee quality. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 8, n. 2, p. 260-264, Mar. 2006.
- SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M.; BYTOF, G. Metabolic responses of coffee beans during processing and their impact on coffee flavor. In: SCHWAN, F. R.; FLEET, H. G. (Ed.). **Cocoa and coffee fermentations**. Boca Raton: CRC Press, 2014. p. 73-81.
- SEMMELOCH, P. et al. Determination of potent odourants in roasted coffee by stable isotope dilution assays. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 10, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 1995.

- SEMMELOCH, P.; GROSCH, W. Studies on character impact Odorants of coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 44, n. 2, p. 537-543, Feb. 1996.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2006. 506 p.
- SILWAR, R.; LULLMAN, C. The determination of mono- and disaccharides in green Arabica and Robusta coffees using high performance liquid chromatography. **Café, Cacao, Thé**, Paris, v. 32, p. 319-322, 1988.
- SIMKIN, A. J. et al. Oleosin gene family of *Coffea canephora*: quantitative expression analysis of five oleosin genes in developing and germinating coffee grain. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 163, n. 7, p. 691-708, May 2006.
- SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H. M. A.; MACEDO, G. A. O processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 491-498, out./dez. 2008.
- SIVETZ, M.; DESROSIER, N. W. Physical and chemical aspects of coffee. In: \_\_\_\_\_. **Coffee tecnology**. Westport: AVI Publishing Company, 1979. p. 527-575.
- SKOOG, D. A. **Princípios de análise instrumental**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1056 p.
- SOBOLEV, A. P. et al. Molecular fingerprinting of food authenticity. **Current Opinion in Food Science**, Amsterdam, v. 16, p. 59-66, Aug. 2017.
- SOMPORN, C. et al. Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 46, n. 11, p. 2287-2296, Nov. 2011.
- SPEER, K.; KÖLLING-SPEER, I. The lipid fraction of the coffee bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 201-216, jan./mar. 2006.
- SRIDEVI, V.; GIRIDHAR, P. Variations in diterpenes-cafestol and kahweol content in beans of Robusta coffee grown at different altitudes. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B**, Allahabad, v. 86, n. 2, p. 291-297, June 2016.
- STEPHANI, R. et al. Raman spectroscopy as a tool to identify modification of whey protein concentrate (WPC) during shelf life. **Food Packaging and Shelf Life**, New York, v. 11, p. 1-9, Mar. 2017.
- SUNARHARUM, W. B.; WILLIAMS, D. J.; SMYTH, H. E. Complexity of coffee flavor: a compositional and sensory perspective. **Food Research International**, Barking, v. 62, p. 315-325, Aug. 2014.
- SVILAAS, A. et al. Intakes of antioxidants in coffee, wine, and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans. **Journal of Nutrition**, Springfield, v. 134, n. 3, p. 562-567, Mar. 2004.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

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

\_\_\_\_\_. Potential markers of coffee genotypes grown in different Brazilian regions: a metabolomics approach. **Food Research International**, Barking, v. 61, p. 75-82, July 2014.

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

\_\_\_\_\_. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. **Food Chemistry**, London, v. 153, p. 298-314, June 2014.

TOLESSA, K. et al. Influence of growing altitude, shade and harvest period on quality and biochemical composition of Ethiopian specialty coffee. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 97, n. 9, p. 2849-2857, July 2017.

\_\_\_\_\_. Prediction of specialty coffee cup quality based on near infrared spectra of green coffee beans. **Talanta**, Oxford, v. 150, p. 367-374, Apr. 2016.

TRIMIGNO, A. et al. Definition of food quality by NMR-based foodomics. **Current Opinion in Food Science**, v. 4, p. 99-104, Aug. 2015.

TRUBEY, R.; RAUDALES, R.; MORALES, A. Café Britt Hermetic Cocoon Storage Trial - II Report. **Mesoamerican Development Institute Corp**, Costa Rica, p. 1-13, 2005.

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

TSUCHIDA, J. E. et al. Nuclear magnetic resonance investigation of water accessibility in cellulose of pretreated sugarcane bagasse. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 127, n. 7, p. 1-13, Sept. 2014.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 488 p.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas: tecnología, química y microbiología**. Zaragoza: Acribia Zaragoza, 1997. 488 p.

VIDAL, M.; AMIGO, J. M. Pre-processing of hyperspectral images. Essential steps before image analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam, v. 117, p. 138-148, Aug. 2012.

VITZTHUM, O. G.; WERKHOFF, P. Steam volatile aroma constituents of roasted coffee: neutral fraction. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, Berlin, v. 160, n. 3, p. 277-291, 1976.

WANG, Z. et al. Dimethyl sulfide photocatalytic degradation in a light-emitting-diode continuous reactor: kinetic and mechanistic study. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, v. 50, n. 13, p. 7977-7984, May 2011.

WATTS, G. Coffee quality. In: THURSTON, R. W.; MORRIS, J.; STEIMAN, S. (Ed.). **Coffee: a comprehensive guide to the bean, the beverage, and the industry**. London: Rowman & Littlefield Publishers, 2013. p. 422.

WEI, F. et al. 13C NMR-based metabolomics for the classification of green coffee beans according to variety and origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, n. 40, p. 10118-10125, Sept. 2012a.

\_\_\_\_\_. Roasting process of coffee beans as studied by nuclear magnetic resonance: time course of changes in composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, n. 4, p. 1005-1012, Feb. 2012b.

WERKEMA, M. C. C. **Ferramentas estatísticas básicas para o gerenciamento de processos**. Belo Horizonte: Werkema Editora, 2006. 290 p.

WERMELINGER, T. et al. Quantification of the robusta fraction in a coffee blend via raman spectroscopy: proof of principle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 17, p. 9074-9079, Sept. 2011.

WHITE, N. D. G.; LEESCH, J. G. Integrated management of insects in stored products. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D. W. (Ed.). **Chemical control**. Nova York: Marcel Decker, 1996. p. 287-330.

WOODMAN, J. S. Carboxylic acids. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Eds.). **Coffee chemistry**. Dordrecht: Springer, 1985. v. 1, p. 266-289.

WORKU, M. et al. Effect of altitude on biochemical composition and quality of green arabica coffee beans can be affected by shade and postharvest processing method. **Food Research International**, Barking, v. 105, p. 278-285, Mar. 2018.

YERETZIAN, C. et al. From the green bean to the cup of coffee: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 214, n. 2, p. 92-104, Feb. 2002.

\_\_\_\_\_. Individualization of flavor preferences: toward a consumer-centric and individualized aroma science. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 3, n. 4, p. 152-159, Oct. 2004.

ZHENG, H. et al. Using NMR to study changes in the characteristic constituents of stored rice. **Journal of Cereal Science**, London, v. 75, p. 179-185, May 2017.

**SEGUNDA PARTE - ARTIGOS**

**ARTIGO 1 - RAMAN SPECTROSCOPY: A NEW STRATEGY FOR MONITORING  
THE QUALITY OF GREEN COFFEE DURING STORAGE**

**(VERSÃO PRELIMINAR)**

**Artigo preparado de acordo com as normas para submissão do periódico  
*Food Chemistry.***

## ABSTRACT

In this study, Raman spectroscopy was used to identify chemical changes associated with changes in the sensory quality of green coffee beans from natural coffee and pulped natural coffee stored in different packaging. Green coffee of specialty natural and specialty pulped natural coffee were stored in three types of packaging in a commercial warehouse. Sensory analysis was performed, and the Raman spectra were obtained after 0, 3, 6, 9, 12, and 18 months of storage. The Raman spectra were used to construct multivariate control charts. The charts, which were constructed using principal component analysis (PCA), can be used to identify chemical changes only in the green coffee from the pulped natural stored in different packaging. Raman spectroscopy is more sensitive than sensory analysis in detecting chemical changes in green coffee stored from the pulped natural. The measured changes subsequently affect the quality of the beverage because samples stored six months in paper packaging were detected as being outside the quality control requirements.

Keywords: Raman spectroscopy, *Coffea arabica* L., ageing, sensory quality, processing.

## 1 INTRODUCTION

In the international market, the price paid for coffee depends on the quality and complexity of the brewed beverage, which is verified shortly after its production. As the sensory attributes become more complex and exotic, the value of the coffee increases (Giomo & Borém, 2011; Ribeiro et al., 2011). Factors such as the production environment, the genotype, and the processing are determinants for defining the quality of the coffee (Figueiredo et al., 2013, 2015; Joët et al., 2010; Ramos, Ribeiro, Cirillo, & Borém, 2016; Ribeiro et al., 2016; Taveira et al., 2014). However, even if all these factors result in high quality, depending on storage conditions, the regular supply of consistent specialty coffees to the consumer market can be compromised (Borém et al., 2013; Ribeiro et al., 2011).

The most-used packaging for storing green coffee beans continues to be the jute sack. However, a jute sack does not provide a barrier to the exchange of gases and water vapour between the beans and the ambient air. The exchange of gases and vapour causes a rapid reduction in the quality of the coffee; therefore, a jute sack is not suitable for the storage of specialty coffees (Borém et al., 2013). Several studies have evaluated strategies for preserving the initial quality of coffee for a longer time period, with emphasis on techniques involving a modified atmosphere (Trubey, Raudales, & Morales, 2005), a controlled atmosphere (Borém et al., 2013), and a hypobaric atmosphere (Borém et al., 2013; Ribeiro et al., 2011). These techniques are artificial atmospheric methods based on the modification of the concentration of gases inside the packaging at different levels of the natural atmosphere to reduce the availability of oxygen and preserve the product (Chitarra & Chitarra, 1990). The hypobaric

atmosphere, i.e., vacuum packaging, is considered by specialty coffee exporters and importers to be the reference method in the preservation of green coffee beans.

Despite current advances in the area, no commercial packaging for green coffee beans has been able to fully maintain the quality of the grains. Even in appropriate storage conditions, there is a slight loss in quality (Andrade, 2017; Rendón, Salva, & Bragagnolo, 2014; F. C. Ribeiro et al., 2011). Chemical, biochemical, and physical changes occur in coffee beans, which affects their sensory quality (Abreu et al., 2017; Abreu et al., 2015; Borém et al., 2013; Rendón et al., 2014; Saath et al., 2014; Selmar, Bytof, & Knopp, 2008), resulting in flavour and aroma characteristics of old coffee. Once depreciation in the beverage is detected, the changes are irreversible. Therefore, methodologies capable of identifying chemical changes in the green coffee during storage, before there are any depreciating changes to their sensory quality, may lead to improved management and control of specialty coffee beans.

The reduction in quality during storage is explained by the oxidation of carbohydrates, lipids, and proteins in the beans (Rendón et al., 2014; Selmar et al., 2008). Studies on coffee bean storage have successfully used the fatty acid test and the fatty acid profile as an indicator of the level of deterioration in stored beans (Coradi, Borém, & Oliveira, 2008; Rendón et al., 2014; Saath, Biaggioni, Borém, Broetto, & Fortunato, 2012; Speer & Kölling-Speer, 2006). However, these analyses detect changes in the beans that are not related to storage alone. In addition, because these techniques require extractions, the measurement process itself can modify the structure of the chemical constituents in the beans; therefore, it is not possible to identify the specific precursors of coffee ageing. Compounds of minor quantitative importance, which may be precursors of the ageing of green coffee beans, are affected during storage.

Raman spectroscopy is a potential tool for evaluating food quality during handling, processing, and storage (Boyaci et al., 2015). The method is capable of providing information on the concentration, the structure, and the interaction between molecules, and has the advantage of being a non-destructive technique (Oliveira, 2001; Sala, 2008). For the analysis, no extraction, no homogenization, no use of dyes or marking agents, and no pretreatment of the samples are required. Small portions of the samples are required. Another advantage of the technique is the development of portable equipment that can be used by the coffee industry *in situ*. Raman spectroscopy has previously been used to analyse green coffee beans (Cagliani, Pellegrino, Giugno, & Consonni, 2013; El-Abassy, Donfack, & Materny, 2011; Eravuchira et al., 2012; Keidel, Von Stetten, Rodrigues, Máguas, & Hildebrandt, 2010; Rubayiza & Meurens, 2005; Wermelinger, D'Ambrosio, Klopprogge, & Yeretzian, 2011);



however, Raman spectroscopy has not previously been applied to detect chemical indicators of the quality of green coffee beans during storage.

The increase in the number of applications of Raman spectroscopy is related to the use of chemometric tools (El-Abassy et al., 2011; Eravuchira et al., 2012; Keidel et al., 2010; Liu et al., 2017; Oliveira, Callegaro, Stephani, Almeida, & de Oliveira, 2016; Stephani et al., 2017) to develop classification models, control charts, and regression models. In this study, Raman spectroscopy and multivariate control charts are used to identify chemical changes in green coffee stored in different packaging prior to any changes in sensory quality.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### Samples

The green beans of natural coffee and pulped natural coffee (*Coffea arabica* L.) from a commercial batch were processed, selected, and characterized with respect to beverage quality by judges certified by the Specialty Coffee Association (SCA). Scores of 84 points for the natural coffee and 86 points for the pulped natural coffee were awarded.

The coffee was stored in three types of packaging for 18 months at the Bourbon Specialty Coffees S/A warehouse in the city of Poços de Caldas, MG. The spectroscopic and sensory analyses were performed on the beans for six storage periods (0, 3, 6, 9, 12, and 18 months).

### Packaging

Three types of packaging (30 kg capacity) were used for storing the green coffee beans: paper packaging without a barrier (P), paper packaging with a high barrier (PHB), and vacuum packaging (V). The P and PHB packaging were supplied by Klabin®, and the V packaging was supplied by Bourbon Specialty Coffee.

The P packaging was used because its permeability to gas and water vapour is similar to the jute sack, which is the most-used packaging for green coffee storage. The PHB packaging is impermeable to gases and water vapour and represents the modified atmosphere technique. The V packaging, which represents the hypobaric atmosphere technique, was included as a reference in preserving the quality of green coffee.

In the vacuum treatment, the partial oxygen pressure was reduced by employing a partial vacuum in the packaging via the TecMaq-300 equipment. The potentiometer of the vacuum time in the equipment was adjusted to level 3, using a vacuum of -540 mmHg in the packaging, which is equivalent to approximately 95% of the total.

## **Implantation of the experiment**

The different types of packaging were stored in ambient conditions. Samples for the evaluations were taken at the start and after 3, 6, 9, 12, and 18 months of storage. The sample size for all of the analyses was approximately 500 g of beans from each packaging type.

## **Experimental design**

The experimental design was completely randomized in a 2×3×6 factorial scheme, corresponding to two processes (natural and pulped natural), three types of packaging (P, PHB, and V), and six storage periods (0, 3, 6, 9, 12, and 18 months), with three replicates. The test thus required a total of 108 coffee samples.

## **Analyses**

### **Sensory analysis**

The sensory analysis was performed by judges certified by the SCA, using the SCA protocol. The methodology proposed by Lingle (2011) for the sensory evaluation of specialty coffees was followed. In this methodology, scores are given for fragrance/aroma, acidity, body, taste, residual taste, sweetness, uniformity, clean cup, balance, and overall impression.

The roasting (moderately light) was performed on 100 g of above-sieve-16 coffee beans. The temperature was monitored so that the roasting time was neither less than 8 min nor greater than 12 min. To standardize the roasting, and thus avoid influencing the evaluation of the judges, the roasting pattern from the first period was recorded and duplicated for the roasting in each evaluation period. All the samples were roasted at least 12 h prior to tasting. The final results of the sensory evaluation were determined via the sum of all the attributes.

For each storage evaluation period, roasted samples of the best coffees from each process were placed in falcon tubes and stored in a deep freezer (-80 °C). These were sampled at the time of the subsequent evaluations to enable the tasters to recover the sensory experience at a previous storage period.

### **Raman Spectroscopy**

In preparation for the Raman spectroscopy analyses, in each storage period, the green coffee bean samples were ground for approximately 1 min in an 11A basic grinder (IKA, Brazil), adding liquid nitrogen to facilitate the grinding and to avoid oxidation of the samples. After grinding, the samples were placed in falcon tubes and stored in a freezer at -80 °C until the analyses were performed.

The Raman spectra of the ground green bean samples were obtained with an FT-Raman RFS/100 (Bruker Optics) spectrometer, using a neodymium: yttrium aluminium garnet (Nd:YAG) laser with an excitation at 1064 nm. The spectra were recorded in the spectral range of 3500–50  $\text{cm}^{-1}$ , with a spectral resolution of 4  $\text{cm}^{-1}$ . The best signal-to-noise ratio was obtained with a laser power of 50 mW and 256 acquisitions (approximately 7.5 min). The spectra were obtained using the OPUS 6 software (Bruker Optics). All spectra were obtained in duplicate to confirm the position and intensity of the observed bands.

### **Data processing**

#### **Sensory analysis**

The data were submitted to regression analysis with the aid of Sisvar® software.

#### **Raman Spectra**

The Raman spectra were processed in a MATLAB environment. Initially, Raman spectra were preprocessed to correct systematic variations. The baseline was corrected using a weighted least squares (WLS) algorithm, and the Raman intensities, performed per unit vector, were normalised.

The exploratory analysis was performed using principal component analysis (PCA) of the spectra of the control samples for the natural coffee and the pulped natural coffee. A supervised model was subsequently developed to classify the green coffee beans in relation to the type of processing (natural and pulped natural) through supervised analysis using a partial least squares discriminant analysis (PLS-DA).

For each coffee processing type, PCA-based multivariate control charts were constructed using the control samples (zero storage time) and samples with 3, 6, 8, 12, and 18 months of storage in the different types of packaging. The  $T^2$  chart is a measure of the variation of each sample in the PCA model. It is constructed with the PCA scores to determine if a specific sample has a systematic deviation as compared to samples in the control group. The scores with the highest variance are used to calculate  $T^2$ , in accordance with equation 1 as follows:

$$T^2 = t_i S^{-1} t_i^T = x_i P S^{-1} P^T x_i^T \quad (1)$$

where  $t_i$  is the vector of scores of the  $i^{\text{th}}$  principal component and  $S$  is the covariance matrix of the model constructed with the control samples. The limit of the  $T^2$  chart is calculated by equation 2, which is based on the F distribution, as follows:

$$T_{lim}^2 = \frac{i(N-1)}{N-i} F_{(i, N-1; \alpha)} \quad (2)$$

where  $i$  is the number of principal components in the PCA model,  $N$  is the number of samples, and  $F$  is the value of the F distribution with confidence  $\alpha$  with  $i$  and  $N-i$  degrees of freedom.

Another PCA-based chart is the Q chart, which shows the non-systematic variations; i.e., those that are not explained by the model constructed with the control samples. The Q chart is obtained from the residuals of the samples in the PCA model, and the Q values are calculated according to equation 3 as follows:

$$Q = \sum_{p=1}^p (x_p - \hat{x}_p)^2 \quad (3)$$

where  $x_p$  and  $\hat{x}_p$  are the measure of the  $p^{\text{th}}$  variable and its predicted value, respectively. The remaining components ( $p$  components) are used; i.e., the non-significant information. The Q values follow a normal distribution. The limiting value for the Q chart is calculated in accordance with equation 4 as follows:

$$Q_{lim} = \theta_1 \left[ 1 - \frac{\theta_2 h_0 (1-h_0)}{\theta_1^2} - \frac{z_\alpha \sqrt{(2\theta_2 h_0^2)}}{\theta_1} \right]^{1/h_0} \quad (4)$$

where  $h_0 = 1 - \frac{2\theta_1 \theta_3}{3\theta_2^2}$ ,  $\theta_i = \sum c_i \lambda_i$  is the eigenvalue associated with each weight vector of the data, and  $z_\alpha$  is the standardized normal variable with a level of confidence  $\alpha$ .

The calculation of  $T_{lim}$  and  $Q_{lim}$  enables the identification of the samples of stored green coffee beans that are outside the quality control requirements. These samples exhibit undesirable changes during storage.

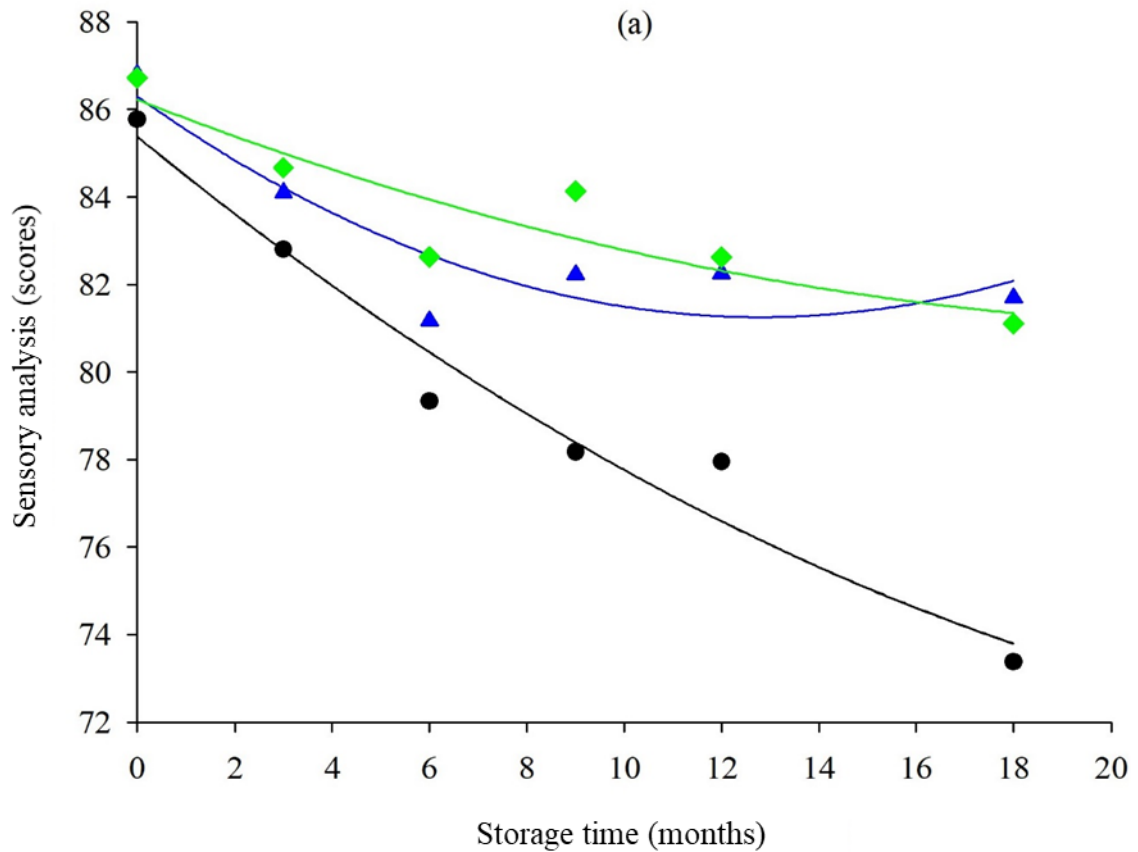
In the development of the multivariate control charts, 21 control samples (zero storage time) were monitored to define  $T_{lim}$  and  $Q_{lim}$ . For the set of test samples, the mean value of the replicates was used, which is a total of 15 samples stored in different packaging (P, PHB, and V) for five storage periods (3, 6, 9, 12, and 18 months).

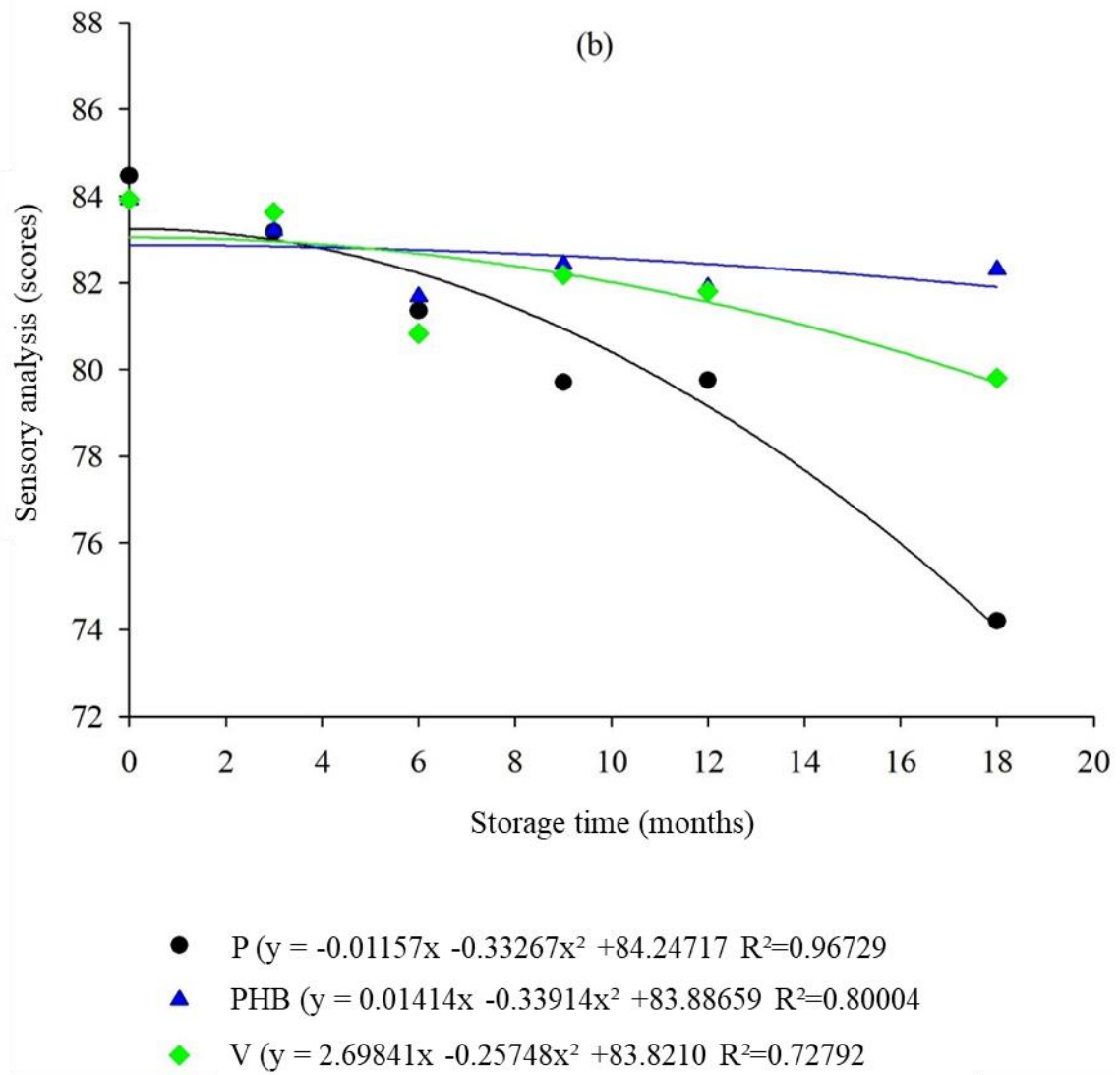
### 3 RESULTS AND DISCUSSION

#### Sensory analysis

The results of the sensory analysis of the natural coffee and the pulped natural coffee are shown in Figure 1.

Figure 1. Mean values of the final score of the sensory analysis of the coffee beans: (a) natural and (b) pulped natural; stored in P (●), PHB (▲), and V (◆) packaging for a period of 18 months.





Source: from the author (2018).

The batches of natural coffee and pulped natural coffee were classified as specialty coffee with excellent quality at the beginning of the storage period. The data show that regardless of the packaging used, including vacuum, the quality of the natural coffee and pulped natural coffee decreased during storage. However, the rate of quality reduction was statistically different amongst the different packaging options.

The most significant reduction occurred in the coffee beans stored in the P packaging, which was permeable to gases and water vapour, for both the natural coffee and the pulped natural coffee. The natural coffee stored in the paper bags had a score less than 80 points at 6 months, thus losing its classification as a specialty coffee. The pulped natural coffee packed in paper bags had a score less than 80 points at 12 months and, therefore, was no longer considered to be specialty coffee.

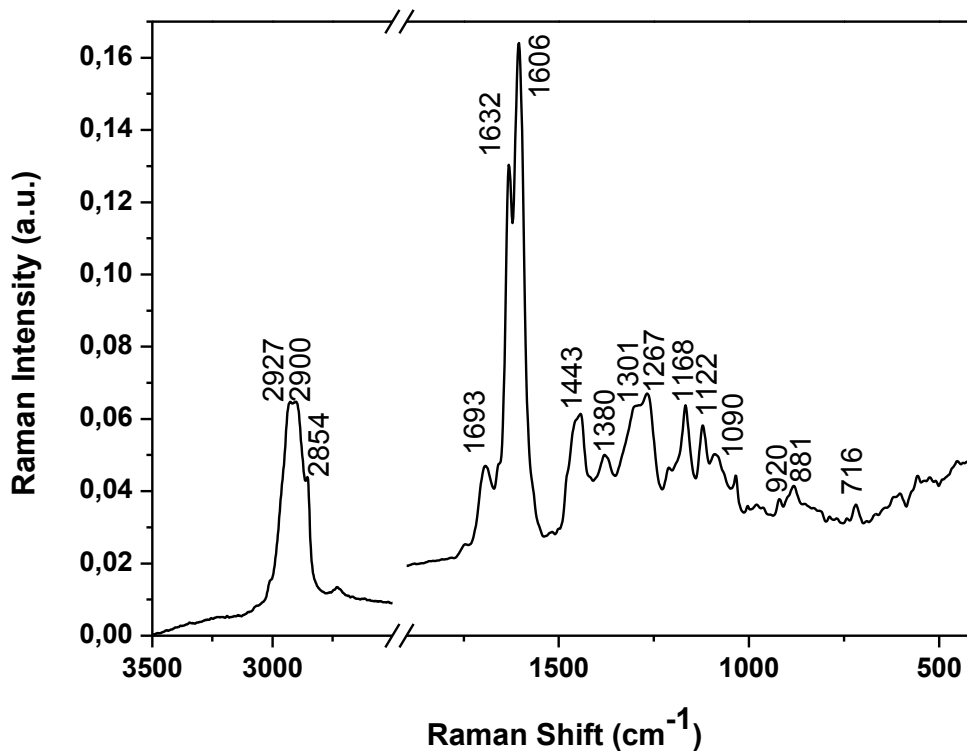
After 12 months of storage, both the natural coffee and the pulped natural coffee stored in the PHB packaging had a sensory quality equal to that of the coffee stored in the V packaging. After 18 months of storage, the natural coffee beans stored in the PHB and the V packaging preserved the sensory quality, continuing with scores greater than 80 points. The beans from pulped natural coffee stored in the PHB packaging also preserved their sensory quality, with a score greater than 80 points.

These results confirm the hypothesis that coffee quality can be maintained during long storage periods. Additionally, they show that there is technology capable of preserving coffee beans at an efficiency equal to or greater than the V packaging, which is considered by specialty coffee exporters and importers to be a reference in the preservation of the green beans. Despite the positive results, no packaging was able to maintain the coffee's initial sensory quality. This reinforces the need to develop methodologies capable of identifying chemical changes in green coffee beans during storage, before depreciating changes occur in their sensory quality. The specialty coffee industry would then have an efficient strategic tool available to contribute to quality management and improve the supply of specialty green coffee to the market. A practical example of the application of this tool would be to monitor the chemical indicators of the ageing of the coffee in each batch and to plan its distribution and commercialisation logistics, with the guarantee that the final consumer will receive a product free of the characteristic flavour and aroma of old coffee.

### **Raman spectra of green coffee beans**

In Figure 2, the mean Raman spectrum of the green coffee beans is shown. The spectrum shows bands in the  $2900\text{ cm}^{-1}$  region. This region carries symmetrical and asymmetrical stretching information about the C-H bond. The weak band located at  $3012\text{ cm}^{-1}$  is attributed to the =CH stretching of the ethylenic group. The region between  $1800$  and  $800\text{ cm}^{-1}$  provides information about the composition of the coffee beans and is used as a fingerprint region. It is this band that is used to follow the changes in the coffee beans in the different packaging during storage. The most intense bands in this region, i.e.,  $1632$  and  $1606\text{ cm}^{-1}$ , are attributed to chlorogenic acid, which is a phenolic acid comprising an ester from caffeic acid and quinic acid (El-Abassy et al., 2011). These bands are related to the stretching vibrations of the phenyl ring ( $1632\text{ cm}^{-1}$ ) and to the C=C stretching vibration of the ethylenic group ( $1606\text{ cm}^{-1}$ ) (Eravuchira et al., 2012; Keidel et al., 2010).

Figure 2. Mean Raman spectra of the green beans from pulped natural coffee prior to storage.



Source: from the author (2018).

The Raman spectrum is dominated by the vibrational modes of chlorogenic acid, which is one of the primary, but not the largest, constituents of the coffee bean. The most intense band, which can be used as a marker, is at 1606 cm<sup>-1</sup>, which is attributed to a coupled mode of the C=C and C=O bonds present in the structure of the chlorogenic acid (Eravuchira et al., 2012; Keidel et al., 2010). Other important vibrational modes, such as those observed in the 2800–2950 cm<sup>-1</sup> region that can be attributed to the presence of fatty acids in the composition of the beans, can also be used to indicate the presence of such compounds (El-Abassy et al., 2011). Some of the modes present in the spectrum cannot be discussed specifically because they may be attributed to the vibrations of various compounds present in the beans rather than to specific compounds.

Low- and medium-intensity bands, observed at 1745 and 1693 cm<sup>-1</sup>, respectively, are attributed to the vibrational mode of C=O stretching. The bands located in the 1570 and 1485 cm<sup>-1</sup> regions are attributed to the presence of kahweol modes. These bands were used to differentiate the Arabica coffee from the Robusta coffee (Rubayiza & Meurens, 2005). The scissoring and twist-type deformation modes of the CH<sub>2</sub> group are found at 1466 and 1300 cm<sup>-1</sup>, respectively. The vibrational band at 1266 cm<sup>-1</sup> is attributed to the =CH deformation. The band observed at 1167 cm<sup>-1</sup> contains a contribution from the CH vibration of the

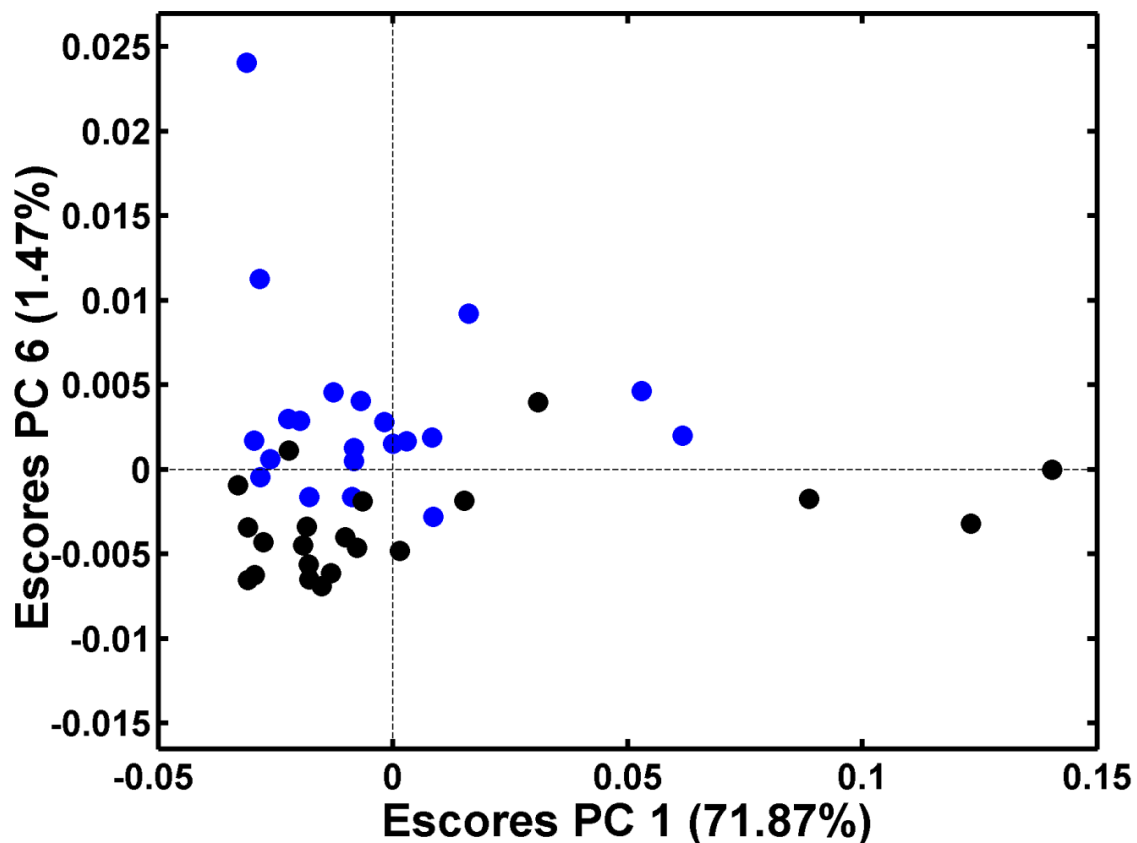


cyclohexane ring of the chlorogenic acid molecule, which is present in large amounts in green coffee beans (El-Abassy et al., 2011). The bands at 1120, 1088, and 1034  $\text{cm}^{-1}$  are attributed to the vibrational modes COH, CC, and CO, respectively. The bands that are observed at lower frequencies in the Raman spectrum are attributed to modes of  $\text{CH}_2$  rocking deformation.

### Characterisation of the samples of the natural coffee and the pulped natural coffee

In Figure 3, the results from the exploratory analysis using PCA in the spectra of the control samples (zero storage time), for both the natural coffee and the pulped natural coffee, are shown.

Figure 3. PCA model results for the natural coffee (●) and the pulped natural coffee (●) before storage.

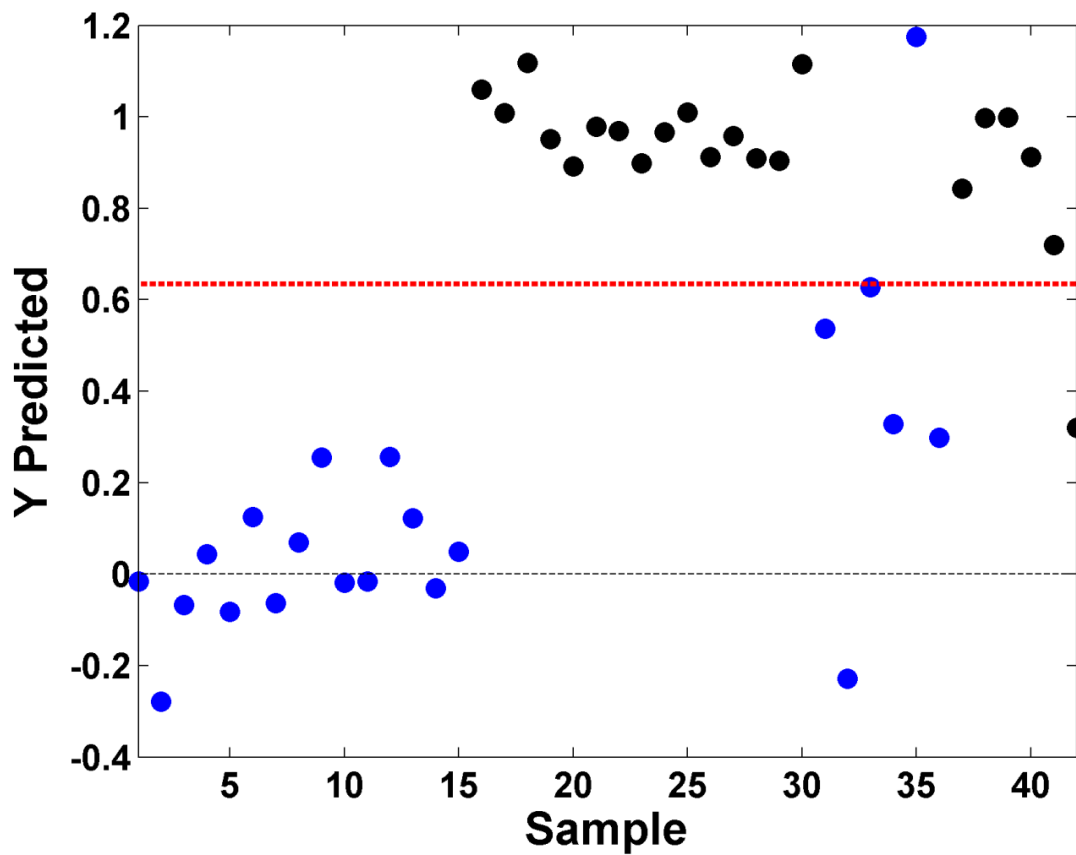


Source: from the author (2018).

The results show some dispersed samples of natural coffee and pulped natural coffee in PC1. These samples have a large influence on the principal components model. The results for PC6 show a tendency towards separation between the natural coffee (positive side of PC6) and the pulped natural coffee (negative side of PC6) samples. To classify the Raman spectra

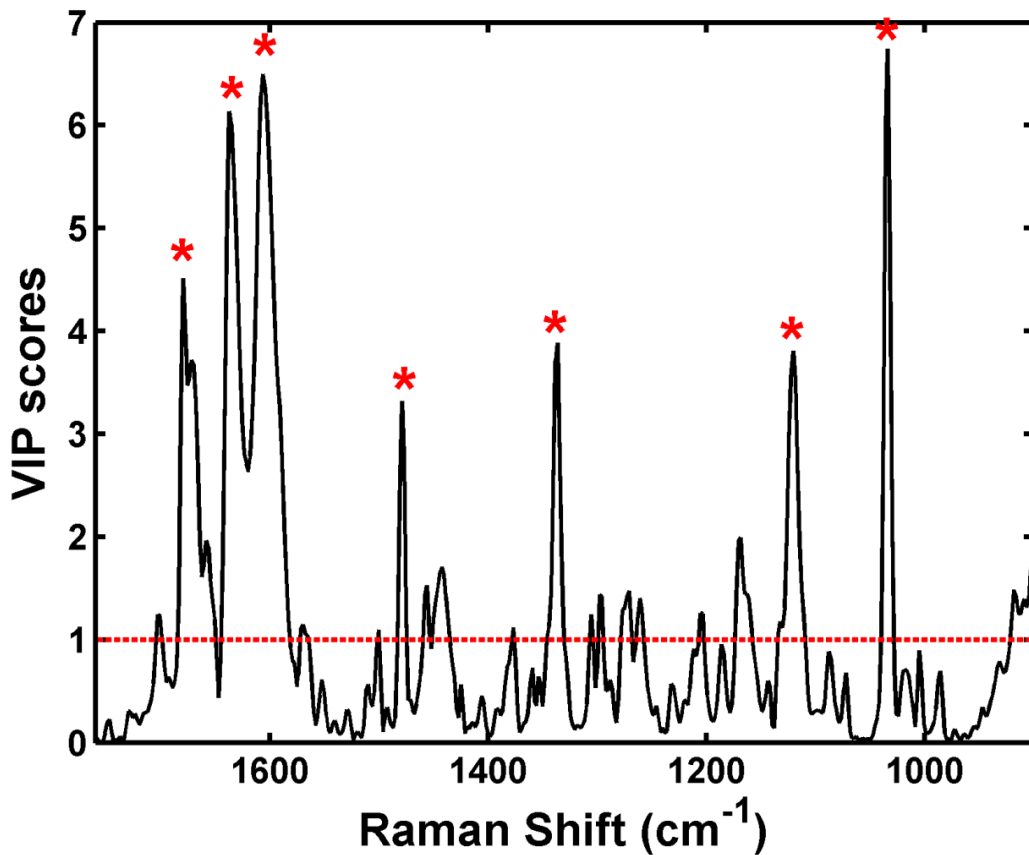
of the green coffee beans from different types of processing, a supervised analysis was performed using PLS-DA. In the first step, samples were used to train, thereby obtaining the parameters of the model. In the second step, a new set of samples was used to test the model. In Figures 4 and 5, the results of the supervised analysis are shown.

Figure 4. Result from the PLS-DA model for the calibration and validation samples. The samples above the red line are classified as natural coffee (●) and below the line are classified as pulped natural coffee (●).



Source: from the author (2018).

Figure 5. Primary VIP scores for the PLS-DA model showing the Raman bands responsible for the separation of the coffee with respect to dry and wet processing.



The supervised analysis enabled the identification of samples according to the processing (dry or wet) method. The VIP scores of higher intensity are responsible for the separation. The bands at 1680, 1637, and 1606  $\text{cm}^{-1}$  are related to the presence of chlorogenic acid and are attributed to a coupled mode of the C=C and C=O bonds present in the acid structure (El-Abassy et al., 2011; Eravuchira et al., 2012). The vibrational band present at 1479  $\text{cm}^{-1}$  is attributed to the kahweol (Rubayiza & Meurens, 2005) and can be used to identify kahweol in the structure of the coffee beans. The band observed at 1336  $\text{cm}^{-1}$  is attributed to a deformation mode of the CH group, which is related to the cellulose (Adapa, Karunakaran, Tabil, & Schoenau, 2009). The bands at 1120 and 1034  $\text{cm}^{-1}$  are attributed to the vibrational modes of the COH and CO groups.

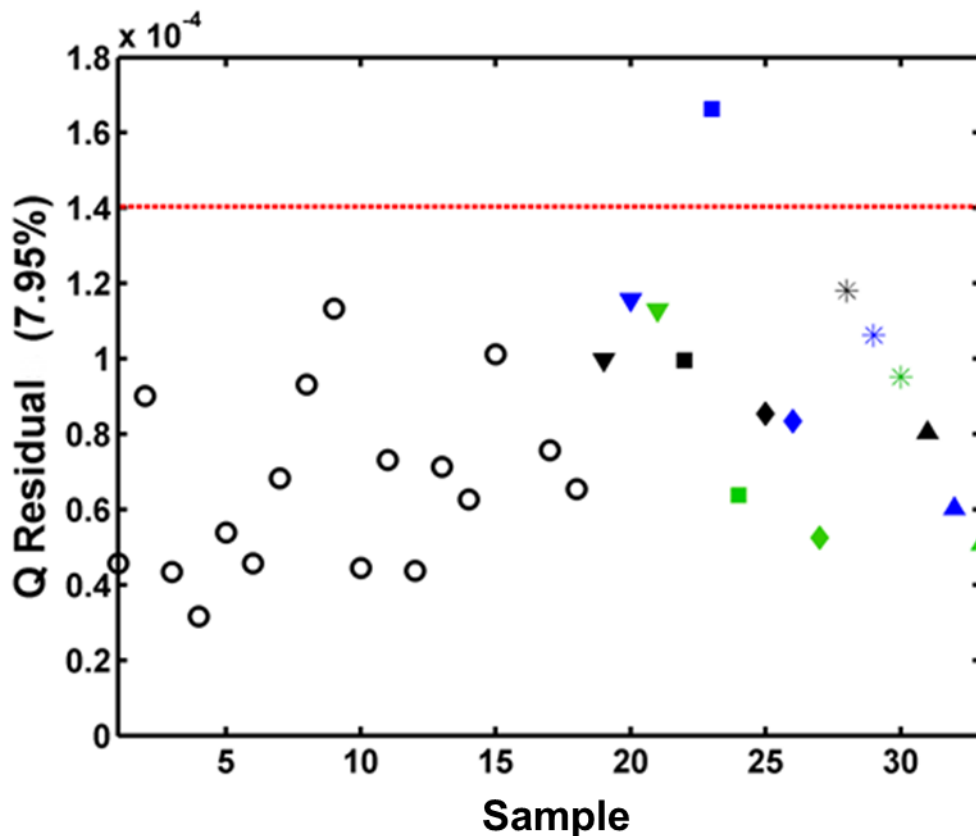
After the supervised analysis of the data and the separation of the samples according to the coffee processing method, the behaviours of the natural coffee and the pulped natural coffee during storage were analysed separately.

## Multivariate control charts

### Natural coffee

To construct the control charts, PCA was performed for samples of the coffee beans prior to the storage period (zero storage time), used as the control. Four principal components were chosen, which explain 92.05% of the data variance. In Figure 6, the results for the Q control charts for the control samples and for the green coffee bean samples stored in different packaging for 3, 6, 9, 12, and 18 months is shown.

Figure 6. Q control chart for the natural coffee. Control samples ( $\circ$ ) used for construction of the threshold (red line), and beans stored in P (black), PHB (blue), and V (green) packaging during the storage periods of 3 months ( $\blacktriangledown$ ), 6 months ( $\blacksquare$ ), 9 months ( $\blacklozenge$ ), 12 months (\*), and 18 months ( $\blacktriangle$ ).



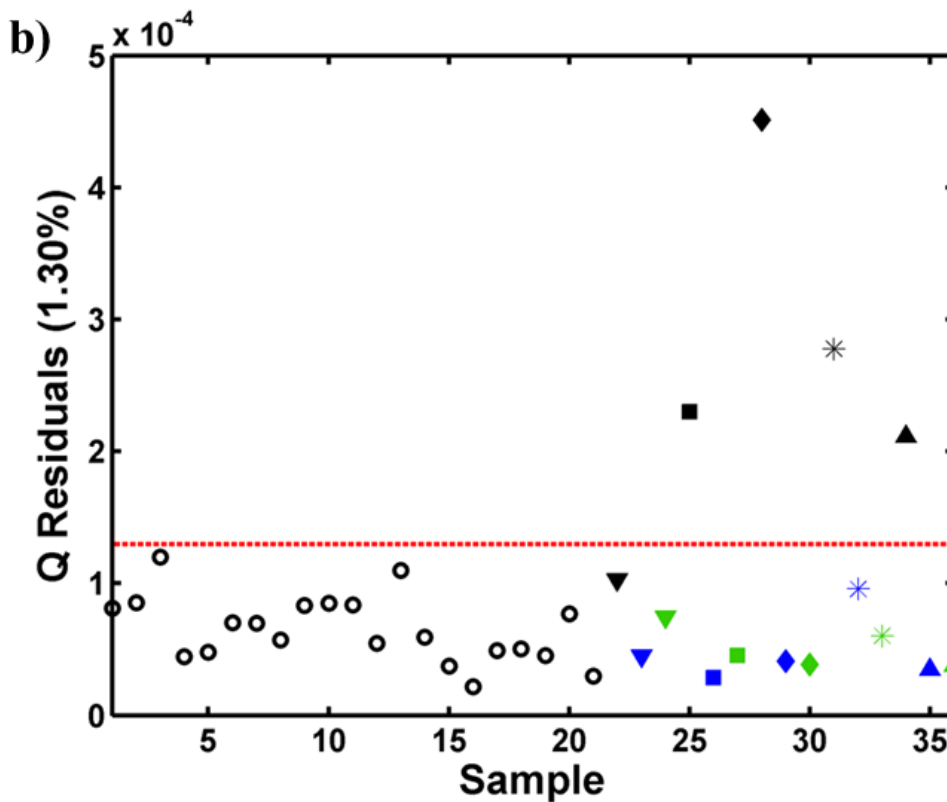
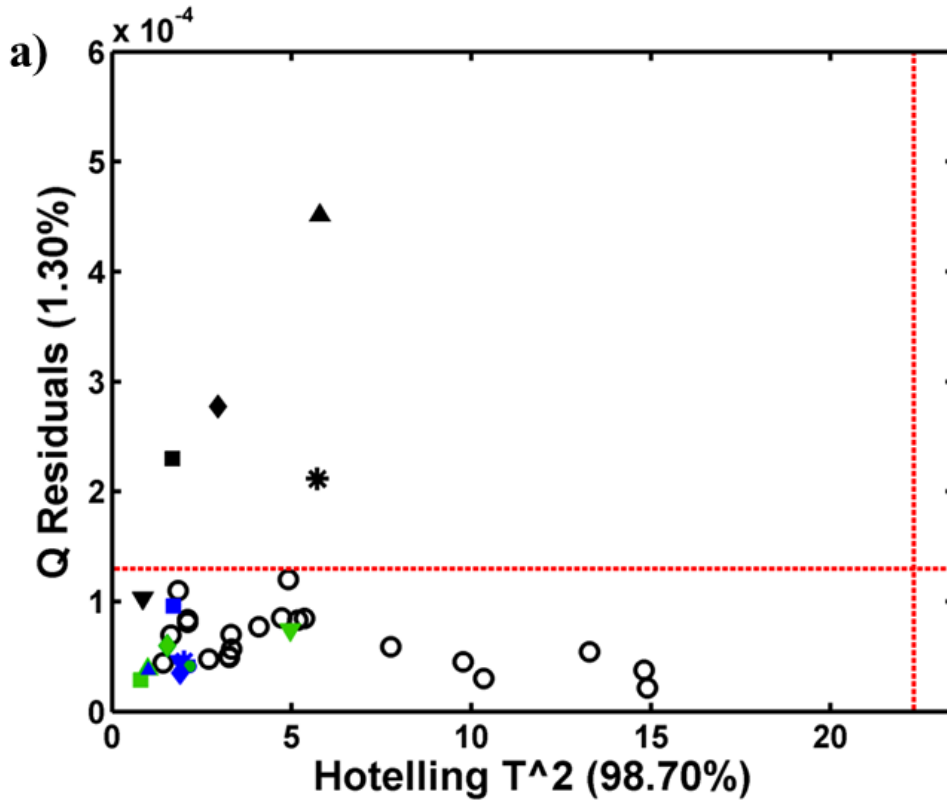
Source: from the author (2018).

From the Q chart, nearly all the samples were within the region considered to be the control region. The Q chart was not able to indicate how far outside the quality control boundaries the stored samples were; in the sensory analysis, these samples scored less than 80 points and, therefore, were outside the specialty coffee category.

Pulped natural coffee

To construct the control charts, PCA was performed for samples of the coffee beans before the storage period (zero storage time) for the control. Six primary components were chosen, which explain 98.7% of the data variance. The number of components was chosen to describe the variance in the control samples and to minimise the results outside the quality control region for the control dataset; i.e., to minimise the false results. In Figure 7a, the  $T^2$  and Q control charts are shown for the control samples and for samples of green beans from pulped natural coffee stored in different packaging for 3, 6, 9, 12, and 18 months. In the  $T^2$  chart, all of the samples were similar to the control samples. Therefore, the  $T^2$  chart was not able to indicate how far outside the quality control boundaries the stored samples became. In the sensory analysis, these samples received scores lower than 80 points and thus were classified as being outside the specialty coffee category. However, the Q chart, shown in more detail in Figure 7b, is capable of detecting changes in the spectra of the green coffee beans from the storage time while indicating that the samples are outside of the quality control region.

Figure 7. (a) T2 control chart and (b) Q control chart of the pulped natural coffee. Control samples ( $\circ$ ) used for construction of the threshold (red line). The beans were stored in P (black), PHB (blue), and V (green) packaging for 3 months ( $\blacktriangledown$ ), 6 months ( $\blacksquare$ ), 9 months ( $\blacklozenge$ ), 12 months (\*), and 18 months ( $\blacktriangle$ ).

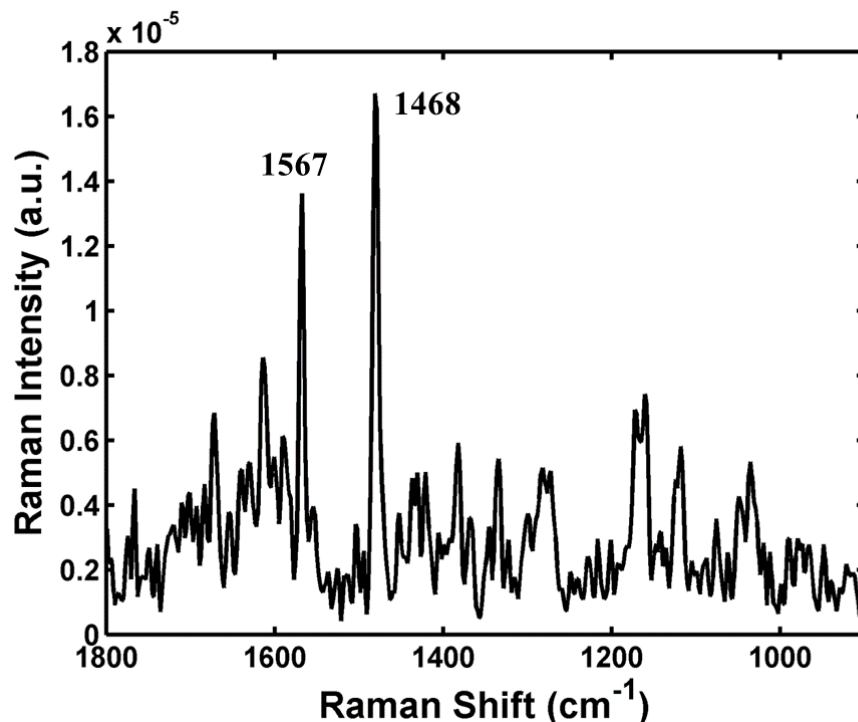


Source: from the author (2018).

Other works in the literature show that the Q chart is more suitable when the objective is to identify changes that are not covered by the defined spaces of the principal components used in the  $T^2$  chart. The Q chart indicates that the Raman spectra for the coffee beans stored in P packaging, permeable to gases and to water vapour, show differences that cannot be modelled by the principal components, which indicates a loss of quality in these samples, and therefore, they are classified as outside the quality control region.

The beans stored in the PHB and V packaging retained the initial chemical characteristics for a period of 18 months. From 6 months of storage onward, the beans stored in the P packaging were outside the quality control region, with the primary changes observed at 1567 and 1468  $\text{cm}^{-1}$  in the Raman spectra of the green beans. In Figure 8, the Raman spectra that were not modelled by the six principal components are shown. These signals appear in the residuals (Q values) and are related to the regions of the Raman spectra in which changes occurred with respect to storage time, enabling distinction of the control samples.

Figure 8. Region of the Raman spectrum related to the changes in the green beans from pulped natural coffee during storage.



Source: from the author (2018).

The literature attributes these bands to vibrational modes of the kahweol molecule; the bands at 1567  $\text{cm}^{-1}$  and 1468  $\text{cm}^{-1}$  are related to the C=C stretching of the 1,3-cyclohexadiene ring and the C=C stretching in the furan ring, respectively (Rubayiza & Meurens, 2005;

Wermelinger et al., 2011). Cafestol and kahweol are examples of diterpenes associated with the lipid fraction of plants of the *Coffea* genus. However, kahweol is more present in the *Coffea arabica* species, i.e., only traces of this compound are found in *Coffea canephora* (El-Abassy et al., 2011; Rubayiza & Meurens, 2005; Scholz et al., 2014; Wermelinger et al., 2011). The levels of these diterpenes present in the Arabica coffee beans vary primarily according to the genetic material, in the range of 1.3 to 1.9 g per 100 g of beans. The level of cafestol usually found in Arabica coffee is in the range of 0.18–1.39 g per 100 g, while the level of kahweol is between 0.18–1.08 g per 100 g (Kitzberger, Scholz, Pereira, Silva, & Benassi, 2016; Scholz et al., 2014).

Recent studies have evaluated the level of kahweol and cafestol in coffees from different geographic origins and several species of the *Coffea* genus, seeking to relate the levels of these compounds to coffee quality (El-Abassy et al., 2011; Kitzberger et al., 2016; Rubayiza & Meurens, 2005; Scholz et al., 2014; Sridevi & Giridhar, 2016). The levels of cafestol and kahweol are higher in coffee beans grown at low altitudes than at high altitudes (Sridevi & Giridhar, 2016). The consensus in the literature is that high-altitude coffees are of superior quality to low-altitude coffees (Figueiredo et al., 2013; Ribeiro et al., 2016). Therefore, these compounds can be used as indicators of coffee quality.

There are no reports in the literature that relate the presence of kahweol with the chemical change in green coffee beans during storage. However, when compared to beans stored in an appropriate environment, an increase of up to 16% in the level of free cafestol was found in coffee beans stored at 25 and 40 °C. The highest values were observed at 12 months of storage. After this period, the degradation of the diterpenes becomes pronounced. The changes were related to the activity of the lipases, i.e., the increase in water content in the stored beans. The high temperatures of the storage environment favour the hydrolysis of fatty acid esters and the decomposition of diterpenes, with a resulting negative effect on the sensory quality of the coffee (Speer & Kölling-Speer, 2006).

The structural difference with cafestol is in the presence of an additional double bond in the kahweol structure. When compared to cafestol, kahweol is more sensitive to heat, oxygen, light, and acids (Flament, Gautschi, Winter, Willhalm, & Stoll, 1968; Wermelinger et al., 2011). Therefore, techniques that require extractions for quantification can hydrogenate the kahweol molecule, transforming it into cafestol and causing the level of cafestol to be underestimated. Raman spectroscopy is indicated for the identification of target compounds because it does not require extraction or pretreatment of samples. This method can also detect compounds present at lower levels, which can be used to separate the samples.



The results obtained with the control Q Chart corroborate the sensory analysis of the green beans from pulped natural coffee stored in the different types of packaging (Figure 1b). Beans stored in packaging without a barrier to gases and water vapour had a greater reduction in quality, i.e., at 12 months they were no longer considered specialty coffee beans. Raman spectroscopy detected a chemical change in the green beans from pulped natural coffee at 6 months of storage that was likely too low to affect the sensory quality of the beans. Therefore, the results show that Raman spectroscopy is more sensitive than sensory analysis in the detection of chemical changes that will later compromise the sensory quality of the green beans from pulped natural coffee. The results obtained in this work indicate that changes in the chemical composition of coffee beans occur during storage and that kahweol can be used as a chemical indicator of the ageing of green Arabica coffee beans.

Although Raman spectroscopy with multivariate control charts was effective in detecting changes during storage in the spectra of the green beans from pulped natural coffee, the technique was not effective for the natural coffee. The processing of the coffee has an influence on the chemical, physiological, and biochemical quality of the beans (Joët et al., 2010; Taveira, Rosa, Borém, Giomo, & Saath, 2012). The removal of the parts that constitute the fruit favours the embryo germination process because the exocarp and mesocarp of the fruit have germination inhibitors (Bytof et al., 2007; Selmar, Bytof, Knopp, & Breitenstein, 2006). Therefore, the husking of the coffee triggers reactions related to germination; e.g., the consumption of reserve substances and changes in compounds such as organic and bioactive acids that are present in lower concentrations. This results in different metabolic profiles compared to the natural coffee (Bytof et al., 2007; Knopp, Bytof, & Selmar, 2006; Ribeiro et al., 2016). Because the chemical matrix is different from that of the pulped natural coffee, it exhibits distinct chemical changes during storage. This activity may have compromised the identification of the chemical changes related to the storage of the green beans of natural coffee via Raman spectroscopy with multivariate control charts.

#### **4 CONCLUSIONS**

The important conclusions of this study are the following:

- The use of Raman spectroscopy with PCA-based multivariate control charts was not effective in the identification of chemical changes in green coffee beans from natural coffee stored in different types of packaging.

- The use of Raman spectroscopy with Q multivariate control charts enabled the identification of chemical changes in the green beans from pulped natural coffee stored in different packaging. The results corroborate the sensory analysis.
- Raman spectroscopy is more sensitive than sensory analysis in detecting chemical changes in green coffee stored from the pulped natural coffee that would subsequently affect the quality of the beverage. The analysis showed that samples stored 6 months in P packaging were outside the quality control region.
- The V and PHB packaging are suitable for the storage of specialty green beans from pulped natural coffee over long periods of time.

## 5 ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Brazilian Federal Agency for the Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES), the Minas Gerais Research Foundation (FAPEMIG), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), and the Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café (National Institute for Coffee Science and Technology; INCT-CAFÉ) for financial aid; and to the companies Bourbon Specialty Coffee and CarmoCoffees for supplying the raw materials. The authors also would like to thank the Brazilian Specialty Coffee Association (BSCA), Brazilian Trade and Investment Promotion Agency (Apex-Brasil), Videplast, and Klabin for supporting the project.

## 6 BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

- Abreu, G. F., Pereira, C. C., Malta, M. R., Clemente, A. C. S., Coelho, L. F. S., & Rosa, S. D. (2015). Alterações na coloração de grãos de café em função das operações pós-colheita. *Coffee Science*, 10(4), 429–436. <https://doi.org/10.25186/cs.v10i4.919>
- Abreu, G. F., Rosa, S. D. V. F., Cirillo, M. A., Malta, M. R., Clemente, A. C. S., & Borém, F. M. (2017). Simultaneous optimization of coffee quality variables during storage. *Bras. Eng. Agríc. Ambiental*, 21(1), 56–60. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v21n1p56-60>
- Adapa, P., Karunakaran, C., Tabil, L., & Schoenau, G. (2009). Potential Applications of Infrared and Raman Spectromicroscopy for Agricultural Biomass. *Agricultural Engineering International*, XI, Manuscript 1081.
- Andrade, F. T. (2017). *Qualidade do café natural especial acondicionado em embalagens impermeáveis e armazenado no Brasil e no exterior*. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Borém, F. M., Ribeiro, F. C., Figueiredo, L. P., Giomo, G. S., Fortunato, V. A., & Isquierdo, E. P. (2013). Evaluation of the sensory and color quality of coffee beans stored in hermetic packaging. *Journal of Stored Products Research*, 52, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2012.08.004>

- Boyaci, I. H., Temiz, H. T., Geniş, H. E., Acar Soykut, E., Yazgan, N. N., Güven, B., ... Dudak Şeker, F. C. (2015). Dispersive and FT-Raman spectroscopic methods in food analysis. *RSC Advances*, 5(70), 56606–56624. <https://doi.org/10.1039/C4RA12463D>
- Bytof, G., Knopp, S. E., Kramer, D., Breitenstein, B., Bergervoet, J. H. W., Groot, S. P. C., & Selmar, D. (2007). Transient occurrence of seed germination processes during coffee post-harvest treatment. *Annals of Botany*, 100(1), 61–66. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm068>
- Cagliani, L. R., Pellegrino, G., Giugno, G., & Consonni, R. (2013). Quantification of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* var. *robusta* in roasted and ground coffee blends. *Talanta*, 106, 169–173. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.12.003>
- Chitarra, M. I. F., & Chitarra, A. B. (1990). *Pós-colheita de frutas e hortaliças : fisiologia e manuseio*. Lavras: ESAL/FAEPE.
- Coradi, P. C., Borém, F. M., & Oliveira, J. A. (2008). Qualidade do café natural e despulpado após diferentes tipos de secagem e armazenamento. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola E Ambiental*, 12(2), 181–188. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662008000200011>
- El-Abassy, R. M., Donfack, P., & Materny, A. (2011). Discrimination between Arabica and Robusta green coffee using visible micro Raman spectroscopy and chemometric analysis. *Food Chemistry*, 126(3), 1443–1448. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.132>
- Eravuchira, P. J., El-Abassy, R. M., Deshpande, S., Matei, M. F., Mishra, S., Tandon, P., ... Materny, A. (2012). Raman spectroscopic characterization of different regioisomers of monoacyl and diacyl chlorogenic acid. *Vibrational Spectroscopy*, 61, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2012.02.009>
- Figueiredo, L. P., Borém, F. M., Cirillo, M. Â., Ribeiro, F. C., Giomo, G. S., & Salva, T. D. J. G. (2013). The Potential for High Quality Bourbon Coffees From Different Environments. *Journal of Agricultural Science*, 5(10), 87–98. <https://doi.org/10.5539/jas.v5n10p87>
- Figueiredo, L. P., Borém, F. M., Ribeiro, F. C., Giomo, G. S., Taveira, J. H. da S., & Malta, M. R. (2015). Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions. *African Journal of Agricultural Research*, 10(35), 3484–3493. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.9697>
- Flament, I., Gautschi, F., Winter, M., Willhalm, B., & Stoll, M. (1968). Les composants furanniques de l'arôme de café: quelques aspects chimiques et spectroscopiques. In *3rd International Scientific Colloquium on on Green and Roasted Coffee Chemistry - Analytical Methods and Chemical Composition. ASIC* (pp. 197–215). Paris.
- Giomo, G. S., & Borém, F. M. (2011). Cafés especiais no Brasil: opção pela qualidade. *Informe Agropecuário*, 7–16.
- Joët, T., Laffargue, A., Descroix, F., Doubeau, S., Bertrand, B., Kochko, A. de, & Dussert, S. (2010). Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. *Food Chemistry*, 118(3), 693–701. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.048>
- Keidel, A., Von Stetten, D., Rodrigues, C., Máguas, C., & Hildebrandt, P. (2010). Discrimination of green arabica and Robusta coffee beans by Raman spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(21), 11187–11192. <https://doi.org/10.1021/jf101999c>
- Kitzberger, C. S. G., Scholz, M. B. dos S., Pereira, L. F. P., Silva, J. B. G. D. da, & Benassi, M. T. (2016). Profile of the diterpenes, lipid and protein content of different coffee cultivars of three consecutive harvests. *AIMS Agriculture and Food*, 1(3), 254–264. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2016.3.254>
- Knopp, S., Bytof, G., & Selmar, D. (2006). Influence of processing on the content of sugars in green

- Arabica coffee beans. *European Food Research and Technology*, 223(2), 195–201.  
<https://doi.org/10.1007/s00217-005-0172-1>
- Lingle, T. R. (2011). *The Coffee Cupper's Handbook: Systematic Guide to the Sensory Evaluation of Coffee's Flavor*. (2011 Specialty Coffee Association of America, Ed.) (4, revisad ed.).
- Liu, Y. J., André, S., Saint Cristau, L., Lagresle, S., Hannas, Z., Calvosa, É., ... Duponchel, L. (2017). Multivariate statistical process control (MSPC) using Raman spectroscopy for in-line culture cell monitoring considering time-varying batches synchronized with correlation optimized warping (COW). *Analytica Chimica Acta*, 952, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.11.064>
- Oliveira, K. S., de Souza Callegaro, L., Stephani, R., Almeida, M. R., & de Oliveira, L. F. C. (2016). Analysis of spreadable cheese by Raman spectroscopy and chemometric tools. *Food Chemistry*, 194, 441–446. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.039>
- Oliveira, L. F. C. (2001). Espectroscopia Molecular. In *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola* (Vol. 4, pp. 24–30).
- Ramos, M. F., Ribeiro, D. E., Cirillo, M. Â., & Borém, F. M. (2016). Discrimination of the sensory quality of the *Coffea arabica* L. (cv. Yellow Bourbon) produced in different altitudes using decision trees obtained by the CHAID method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(10), 3543–3551. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7539>
- Rendón, M. Y., Salva, T. de J. G., & Bragagnolo, N. (2014). Impact of chemical changes on the sensory characteristics of coffee beans during storage. *Food Chemistry*, 147, 279–286. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.123>
- Ribeiro, D. E., Borém, F. M., Cirilo, M. A., Prado, M. V. B., Ferraz, V. P., Alves, H. M. R., & Taveira, J. H. da S. (2016). Interaction of genotype, environment and processing in the chemical composition expression and sensorial quality of Arabica coffee. *African Journal of Agricultural Research*, 11(27), 2412–2422. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.10832>
- Ribeiro, F. C., Borém, F. M., Giomo, G. S., De Lima, R. R., Malta, M. R., & Figueiredo, L. P. (2011). Storage of green coffee in hermetic packaging injected with CO<sub>2</sub>. *Journal of Stored Products Research*, 47(4), 341–348. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2011.05.007>
- Rubayiza, A. B., & Meurens, M. (2005). Chemical Discrimination of Arabica and Robusta Coffees by Fourier Transform Raman Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 4654–4659. <https://doi.org/10.1021/jf0478657>
- Saath, R., Biaggioni, M. A. M., Borém, F. M., Broetto, F., & Fortunato, V. A. (2012). Alterações na composição química e sensorial de café (*Coffea arabica* L.) nos processos pós-colheita. *Revista Energia Na Agricultura*, 27(2), 96–112.
- Saath, R., Broetto, F., Biaggioni, M. A. M., Borém, F. M., Rosa, S. D. V. F. da, & Taveira, J. H. da S. (2014). Activity of some isoenzymatic systems in storage coffee grains. *Ciência E Agrotecnologia*, 38(1), 15–24.
- Sala, O. (2008). *Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho* (2nd ed.). Editora Unesp.
- Scholz, M. B. S., Pagiatto, N. F., Kitzberger, C. S. G., Pereira, L. F. P., Davrieux, F., Charmetant, P., & Leroy, T. (2014). Validation of near-infrared spectroscopy for the quantification of cafestol and kahweol in green coffee. *Food Research International*, 61, 176–182. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.008>
- Selmar, D., Bytof, G., & Knopp, S. E. (2008). The storage of green coffee (*Coffea arabica*): Decrease of viability and changes of potential aroma precursors. *Annals of Botany*, 101(1), 31–38. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm277>

- Selmar, D., Bytof, G., Knopp, S. E., & Breitenstein, B. (2006). Germination of coffee seeds and its significance for coffee quality. *Plant Biology*, 8(2), 260–264. <https://doi.org/10.1055/s-2006-923845>
- Speer, K., & Kölling-Speer, I. (2006). The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 201–216. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100014>
- Sridevi, V., & Giridhar, P. (2016). Variations in Diterpenes-Cafestol and Kahweol Content in Beans of Robusta Coffee Grown at Different Altitudes. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 86(2), 291–297. <https://doi.org/10.1007/s40011-014-0429-1>
- Stephani, R., Oliveira, K. de S., de Almeida, C. E. R., Perrone, Í. T., de Carvalho, A. F., de Oliveira, L. F. C., & Almeida, M. R. (2017). Raman spectroscopy as a tool to identify modification of whey protein concentrate (WPC) during shelf life. *Food Packaging and Shelf Life*, 11, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.001>
- Taveira, J. H. da S., Borém, F. M., Figueiredo, L. P., Reis, N., França, A. S., Harding, S. A., & Tsai, C. J. (2014). Potential markers of coffee genotypes grown in different Brazilian regions: A metabolomics approach. *Food Research International*, 61(July), 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.048>
- Taveira, J. H. S., Rosa, S. D. V. F., Borém, F. M., Giomo, G. S., & Saath, R. (2012). Perfis proteicos e desempenho fisiológico de sementes de café submetidas a diferentes métodos de processamento e secagem. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 47(10), 1511–1517. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012001000014>
- Trubey, R., Raudales, R., & Morales, A. (2005). Café Britt Hermetic Cocoon Storage Trial - II report. *Mesoamerican Development Institute Corp.* Costa Rica.
- Wermelinger, T., D'Ambrosio, L., Klopprogge, B., & Yeretian, C. (2011). Quantification of the robusta fraction in a coffee blend via raman spectroscopy: Proof of principle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9074–9079. <https://doi.org/10.1021/jf201918a>

**ARTIGO 2 - INDICADORES QUÍMICOS DO ENVELHECIMENTO DE GRÃOS  
CRU DE CAFÉ ARÁBICA DURANTE O ARMAZENAMENTO USANDO  
ESPECTROSCOPIA DE RMN <sup>1</sup>H**

Giselle Figueiredo de Abreu<sup>\*</sup>

Flávio Meira Borém<sup>1</sup>

Antonio Gilberto Ferreira<sup>2</sup>

Maiara da Silva Santos<sup>3</sup>

Fabício Teixeira Andrade<sup>4</sup>

**Artigo redigido conforme a NBR 6022 (ABNT, 2003) e formatado de acordo com o  
Manual da UFLA de apresentação de teses e dissertações.**

---

<sup>\*</sup> gfigueiredoabreu@hotmail.com, UFLA.

<sup>1</sup> flavioborem@deg.ufla.br, UFLA.

<sup>2</sup> giba\_04@yahoo.com.br, UFSCAR.

<sup>3</sup> maiarasantos@gmail.com, UFSCAR.

<sup>4</sup> fabricio@sancoffee.com.

## RESUMO

A maioria dos estudos de armazenamento de café cru utiliza análises específicas para determinados grupos de compostos químicos para explicar o fenômeno do envelhecimento dos grãos, deixando abertas várias questões a respeito dos compostos responsáveis pela alteração do sabor ou do aroma do café. Técnicas que fornecem um panorama completo dos metabólicos possuem elevado potencial para esclarecer o fenômeno. A ressonância magnética nuclear (RMN) é um que atende a esse objetivo pois tem sido utilizada com frequência para estudos de abordagem metabólica e *fingerprint* de alimentos. O objetivo com este trabalho foi utilizar a técnica de RMN  $^1\text{H}$  para identificar alterações metabólicas decorrentes do envelhecimento do café cru armazenado em diferentes embalagens. Grãos crus de café natural e cereja descascado especial foram acondicionados em 3 tipos de embalagens e armazenado em armazém comercial. Foi realizada a análise sensorial e análise de ressonância magnética nuclear nos períodos de 0, 3, 6, 9, 12 e 18 meses de armazenamento. O emprego da espectroscopia RMN  $^1\text{H}$  foi eficiente em identificar alterações químicas nos grãos crus de café natural e cereja descascado armazenados em diferentes embalagens. A embalagem de papel permite maiores transformações químicas nos grãos crus de café durante o armazenamento. O café natural especial é mais sensível as alterações decorrentes do armazenamento quando comparado ao café cereja descascado especial.

**Palavras-chave:** Ressonância magnética nuclear. *Coffea arabica* L.. Armazenamento. Qualidade sensorial. Processamento.

## CHEMICAL INDICATORS OF AGING IN GREEN COFFEE GRAINS DURING STORAGE USING NMR $^1\text{H}$ SPECTROSCOPY

### ABSTRACT

Most studies about coffee storage use specific analyses for certain groups of chemical compounds to explain aging of grains, leaving several questions about the compounds responsible for alteration of coffee flavor and scent unanswered. Techniques that provide a complete overview of metabolism have great potential to explain the phenomenon. Nuclear magnetic resonance (NMR) is a technique that meets this objective, since it has been frequently used in studies on the metabolic approach and food fingerprinting. This work aimed at using NMR  $^1\text{H}$  to identify metabolic alterations due to aging of green coffee grains stored in different packages. Green coffee beans from the natural coffee and pulped natural coffee were conditioned into three types of packages and stored at a commercial warehouse. Sensory analysis and nuclear magnetic resonance analysis were carried out at 0, 3, 6, 9, 12 and 18 months of storage. The use of NMR  $^1\text{H}$  spectroscopy was enough to identify chemical alterations in the green coffee stored in different packages. Paper packages allow greater chemical transformations in green coffee during storage. Natural specialty coffee is more sensitive to chemical transformations related to storage, when compared to pulped natural specialty coffee.

**Keywords:** Nuclear magnetic resonance. *Coffea arabica* L.. Storage. Sensory quality. Processing.

## 1 INTRODUÇÃO

A matriz química dos alimentos é extremamente complexa. Do ponto de vista químico, cada alimento pode ser considerado uma mistura complexa, contendo inúmeros metabólitos amplamente variáveis em concentração e propriedades químicas (CIFUENTES, 2012). Para compreender os diferentes aspectos químicos relacionados à composição original dos alimentos e à dinâmica de transformações metabólicas que podem ocorrer durante os processos que os alimentos são submetidos, são necessárias abordagens modernas na análise de alimentos (CAPOZZI & BORDONI, 2013; CIFUENTES, 2012; MINOJA & NAPOLI, 2014).

Novas áreas da ciência e tecnologia dos alimentos tem ganhado destaque, como a denominada *Foodomics*, por enfatizar a importância de uma visão holística dos compostos químicos presentes nos alimentos (CAPOZZI; BORDONI, 2013; CIFUENTES, 2012; LAGHI; PICONE; CAPOZZI, 2014; TRIMIGNO et al., 2015). As quatro tecnologias "*omics*", ou seja, a genômica (análise gênica), transcriptômica (análise da expressão gênica), proteômica (estudo do conjunto de proteínas) e metabolômica (investiga os metabólitos presente nos sistemas biológicos) são ferramentas potentes para fornecer informações sobre propriedades dos alimentos (CAPOZZI; BORDONI, 2013; CIFUENTES, 2012; D'ALESSANDRO; ZOLLA, 2012; LAGHI; PICONE; CAPOZZI, 2014).

Na abordagem metabolômica, a RMN é reconhecida como uma das principais metodologias que proporcionam panorama amplo dos metabólitos e têm sido aplicada para elucidação estrutural e estudo de transformações químicas nos alimentos (CAPOZZI; BORDONI, 2013; LAGHI; PICONE; CAPOZZI, 2014; LIU et al., 2017; LIU; CHEN, 2016; MANNINA; SOBOLEV; VIEL, 2012; SOBOLEV et al., 2017; TRIMIGNO et al., 2015). Um único espectro de RMN contém os sinais provenientes dos hidrogênios de todas as moléculas presentes na amostra e possíveis de serem detectadas pela técnica, o que permite obter rapidamente informações sobre a composição química (MANNINA, VIEL e SOBOLEV, 2012). Juntamente com o uso de ferramentas quimiométricas, a espectroscopia de RMN fornece resultados relevantes na área de segurança alimentar, controle de qualidade, qualidade sensorial, origem geográfica e *fingerprint* de bebidas e alimentos (FAN et al., 2017; HUO et al., 2017; LI et al., 2017; MALMENDAL et al., 2011; MANNINA; SOBOLEV; VIEL, 2012; MARSEGLIA et al., 2016; MINOJA; NAPOLI, 2014; PALARIC et al., 2018; PRAKASH et al., 2016; ROCHFORD et al., 2010; SOBOLEV et al., 2017).



Por ser umas das bebidas mais consumidas no mundo, são crescentes os estudos de ferramentas modernas para análise de alimentos aplicados em café, especificamente de RMN. As principais pesquisas foram realizadas com o objetivo de identificar compostos químicos capazes de distinguir as espécies *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* P. e assim detectar contaminações e/ou fraudes no café torrado (CAGLIANI et al., 2013; CIARAMELLI et al., 2017; DEFERNEZ et al., 2017; GUNNING et al., 2018; MONAKHOVA et al., 2015); discriminar amostras de café de diferentes origens geográficas (ARANA et al., 2015; CONSONNI, CAGLIANI, & COGLIATI, 2012), estudar os efeitos da bebida na saúde (CIARAMELLI et al., 2018), caracterizar quimicamente os grãos (BOSCO et al., 1999; DEL CAMPO et al., 2010) e avaliar metabólitos relacionados com a qualidade dos grãos crus (KWON et al., 2015).

Devido ao aumento na demanda por cafés diferenciados e ao seu alto valor agregado, os estudos científicos com cafés especiais têm avançado (CHENG et al., 2016; FIGUEIREDO et al., 2013, 2015; PICCINO et al., 2014; RIBEIRO et al., 2016; TAVEIRA et al., 2014; TOLESSA et al., 2016, 2017; WORKU et al., 2018). As perdas de qualidade observadas nos cafés especiais durante o armazenamento, mundialmente realizado em sacos de juta, são superiores quando comparadas às perdas observadas nos cafés commodities (ANDRADE, 2017; BORÉM et al., 2013; RIBEIRO et al., 2011; RIGUEIRA et al., 2009). Mas apesar disto, não há relatos científicos sobre o uso da abordagem *Foodomics*, incluindo a espectroscopia de RMN, para avaliar as alterações químicas dos grãos crus específicas do armazenamento e suas relações com a depreciação de qualidade sensorial do café.

Ao longo do armazenamento do café cru, ocorre oxidação de carboidratos, lipídeos e proteínas, depreciando a qualidade sensorial da bebida (CORADI, BORÉM, & OLIVEIRA, 2008; RENDÓN, SALVA, & BRAGAGNOLO, 2014; SAATH et al., 2014; SELMAR, BYTOF, & KNOPP, 2008). A maioria dos estudos de armazenamento de café cru utiliza análises específicas para determinados grupos de compostos químicos para explicar o fenômeno do envelhecimento dos grãos, deixando abertas várias questões a respeito dos compostos responsáveis pela alteração do sabor ou do aroma do café. Somado a esse fato, as diferenças químicas entre os cafés processados por via seca ou via úmida torna o fenômeno ainda mais complexo. Estudos de armazenamento de cafés naturais e descascados constataram comportamento distinto, sendo que os cafés naturais apresentaram maior redução da qualidade sensorial, fisiológica e bioquímica (ABREU, 2015; CORADI et al., 2007; SAATH et al., 2012, 2014). Mas, não foi completamente elucidada as razões que explicam essas diferenças.

Durante o armazenamento ocorrem inúmeras reações metabólicas nos grãos que irão afetar diversos constituintes químicos (ABREU et al., 2015, 2017; BORÉM et al., 2013; DUSSERT et al., 2006; RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014; RIBEIRO et al., 2011; SAATH et al., 2014; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Para compreender este fenômeno são necessárias técnicas modernas, que forneçam informações sobre todos os metabólitos presente nas amostras, simultaneamente. A espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  já foi utilizada com sucesso para estudar alterações metabólicas no suco de laranja e grãos crus de arroz durante o armazenamento (OLIVEIRA, CARNEIRO, & FERREIRA, 2014; ZHENG et al., 2017). Nos dois estudos, os autores acreditam que a técnica de RMN  $^1\text{H}$  poderia ser aplicada em estudos de degradação de alimentos. No caso de arroz armazenado, os autores revelaram que a técnica auxilia a estimar períodos e condições ótimas de armazenamento. Com base no caso de sucesso da técnica aplicada no estudo de outros alimentos, inclusive de outra espécie de grão, acredita-se no potencial da RMN  $^1\text{H}$  para ajudar a compreender as alterações químicas durante o envelhecimento dos grãos crus de café natural e descascado. Assim, a proposta com este trabalho é o emprego da técnica de RMN  $^1\text{H}$  para identificar alterações metabólicas decorrentes do envelhecimento do café cru armazenado em diferentes embalagens.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os grãos crus de café natural e cereja descascado (*Coffee arabica* L.), provenientes de um lote comercial, foram beneficiados, selecionados e caracterizados quanto à bebida por Juízes Certificados pela Associação de Cafés Especiais (SCA), com nota de 84 pontos para o lote de café natural e 86 pontos para o lote de café cereja descascado.

Após homogeneização e fracionamento, o café foi acondicionado em embalagens permeáveis, impermeáveis e à vácuo, e armazenado por período de 18 meses no armazém comercial da empresa Bourbon Specialty Coffees S/A, na cidade de Poços de Caldas, MG. As análises espectroscópicas e sensoriais foram realizadas nos grãos em seis períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 e 18 meses).

### 2.1 Embalagens

Foram utilizadas três embalagens, com capacidade de 30 kg, para acondicionar os grãos crus de café: (P) embalagem de papel sem barreira, (PAB) embalagem de papel com alta barreira e (V) embalagem à vácuo. As embalagens P e PAB foram fornecidas pela empresa Klabin® e a embalagem V pela empresa Bourbon Specialty Coffee.

A embalagem de papel sem barreira (P) foi utilizada por possuir permeabilidade à gases e vapor de água similar à sacaria de juta, embalagem mais utilizada no armazenamento de café cru. A embalagem de papel com alta barreira (PAB) se refere a impermeabilidade à gases e vapor d'água e representa a técnica de atmosfera modificada. A embalagem a vácuo (V) foi utilizada por ser referência na conservação da qualidade do café cru e representa a técnica de atmosfera hipobárica.

No tratamento a vácuo a pressão parcial de oxigênio foi reduzida empregando-se vácuo parcial nas embalagens por meio do equipamento TecMaq-300. O potenciômetro do tempo de vácuo no equipamento foi ajustado para o nível 3, empregando-se na embalagem vácuo de -540 mmHg, equivalente a aproximadamente 95% do volume total.

### 2.2 Implantação do experimento

As embalagens foram mantidas em ambiente natural sem controle de temperatura e umidade relativa do ar. As amostragens para as avaliações foram realizadas em seis períodos

de armazenamento (0, 3, 6, 12 e 18 meses). A quantidade amostrada para a realização de todas as análises foi de aproximadamente 500 g de grãos em cada embalagem.

## **2.3 Delineamento experimental**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x3x6, correspondendo a dois processamentos (natural e cereja descascado), três embalagens (P, PAB e V) e seis períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 e 18 meses) com três repetições. Totalizando 108 amostras de café.

### **2.3.1 Análise sensorial**

A análise sensorial foi realizada de acordo com o protocolo da Associação de Cafés Especiais (SCA) para avaliação sensorial de cafés especiais (Lingle, 2011). Nesta metodologia, são atribuídas notas para fragrância/aroma, acidez, corpo, sabor, sabor residual, doçura, uniformidade, xícara limpa, balanço e impressão global.

A torra, moderadamente leve foi realizada em 100g de grãos de café peneira 16 acima. Monitorou-se a temperatura para que o tempo de torração não fosse inferior a 8 minutos ou superior a 12 minutos. Para padronizar a torra, evitando que esta influencie a avaliação dos juízes, armazenou-se um padrão de torra da primeira época que era recorrido durante a torra em cada época de avaliação. Todas as amostras foram torradas com antecedência mínima de 12 horas à degustação. Os resultados finais da avaliação sensorial foram constituídos pela soma de todos os atributos.

Um dos desafios com a análise sensorial de amostras de café cru estocadas por longos períodos é fixar uma referência sensorial confiável da amostra original. Assim, em cada período de avaliação do armazenamento, amostras torradas dos melhores cafés de cada processamento foram acondicionadas em tubos tipo falcon e armazenadas em *deep freezer* (-80 °C). Essas amostras foram usadas na calibração dos degustadores no momento das avaliações seguintes permitindo a eles o resgate das referências sensoriais do período anterior de armazenamento. Todas seções de análise sensorial foram realizadas pelo mesmo grupo de degustadores durante 18 meses.

## 2.4 Ressonância Magnética Nuclear

Para realização das análises de RMN  $^1\text{H}$ , em cada período de armazenamento as amostras dos grãos crus de café foram moídas, por cerca de 1 minuto, em moinho 11A basic (IKA, Brasil), adicionando-se nitrogênio líquido para facilitar a moagem e evitar oxidações das amostras. Após a moagem, as amostras foram liofilizadas e acondicionadas em tubos tipo falcon até a realização das análises.

As amostras de 50 mg do café moído foram extraídas com 1,2 ml do solvente deuterado metanol- $d_4$ , referência interna TMPS- $d_4$  na concentração de 0,02% (m/v). Em seguida as amostras foram centrifugadas em temperatura ambiente por 15 minutos a 13.000 rpm. Uma alíquota de 0,6 mL do sobrenadante foi analisada.

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram adquiridos em um espectrômetro Bruker Avance III de 9,4 Tesla (400 MHz para a frequência do hidrogênio) equipado com a sonda PABBI (5 mm) e uma unidade de ajuste automático da sintonia - ATMA (*Automatic Tuning and Matching*), localizado no Laboratório de RMN do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR. Para maior confiabilidade do método, as medidas foram realizadas em quintuplicata.

Todos os espectros foram adquiridos utilizando a sequência de pulso de pré-saturação do solvente zgcprr (denominação Bruker) para suprimir o sinal da água. Os espectros foram adquiridos com 64 promediações (NS), janela espectral de 20.0254 ppm, ganho do receptor (RG) de 128, tempo de espera entre as promediações de 4 s (D1), tempo de aquisição entre cada varredura de 4,09 s (AQ) com atenuação do pulso de pré-saturação de 45.77 dB (PLDB9). O valor da função exponencial utilizada para a apodização espectral (LB) foi de 0,30 Hz, a sonda utilizada é de detecção inversa - BBI (5 mm) com ATMA e a temperatura da amostra de 298,2 K (calibrada com 99,8% MeOD). O tempo total de aquisição de cada espectro foi de 9 minutos e 12 segundos.

## 2.5 Ferramentas estatísticas e quimiométricas

As notas obtidas com a análise sensorial foram submetidas a análise de regressão com auxílio do Software Sisvar® (FERREIRA, 2011).

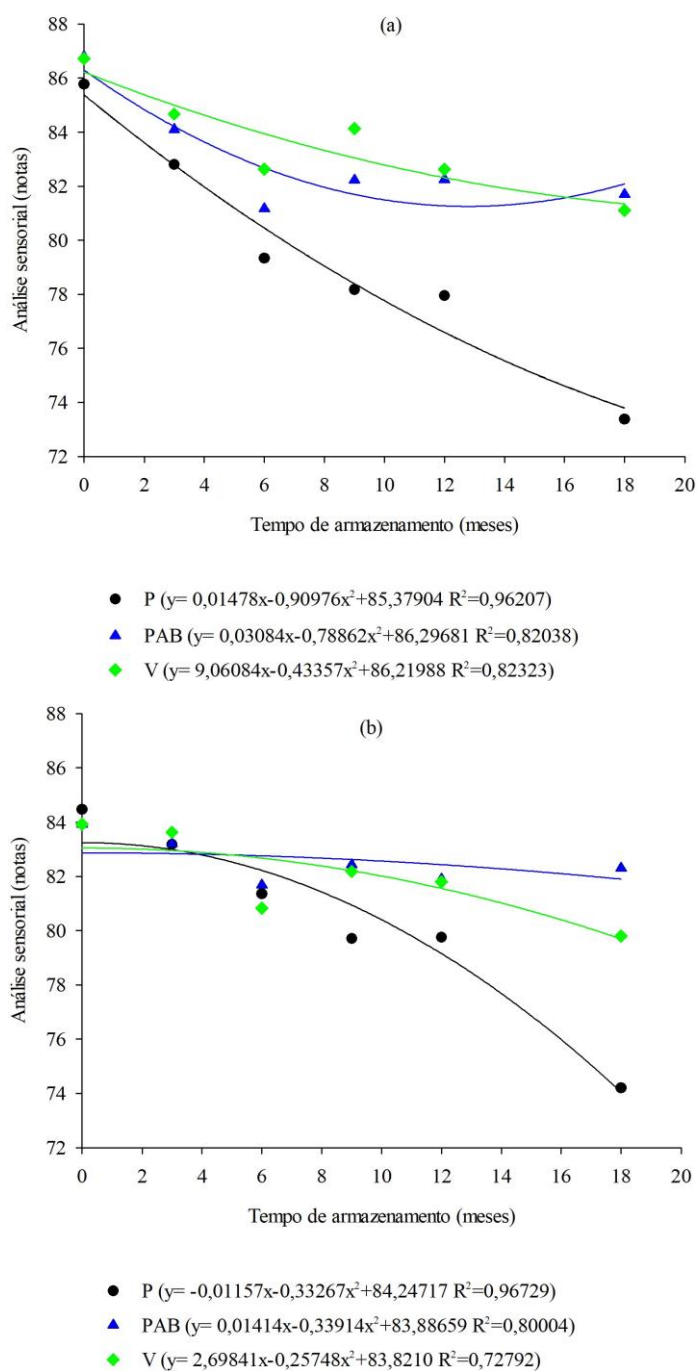
Os dados obtidos com a espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  foram analisados com método de estatística multivariada utilizando o Software Amix® versão 3.9.14 da Bruker®. Os dados foram dispostos em uma matriz com 443 amostras e 196 variáveis (sinais integrados

manualmente), escalonadas pela intensidade total e dividido pelo tamanho da região. Para as análises de PCA todos os dados da matriz final foram pré-processados realizando escalonamento pela unidade de variância a 95% de confiança.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da análise sensorial do café natural e cereja descascado são apresentados na Figura 1.

Figura 1 - Valores médios da nota final da análise sensorial dos grãos de café (a) natural e (b) cereja descascado acondicionados na embalagem papel (●), alta barreira (▲) e à vácuo (◆) durante 18 meses.



Fonte: Abreu et al. (2018).

Os lotes de café natural e cereja descascado foram classificados como especiais de excelente qualidade antes do armazenamento. Observa-se que independentemente da embalagem usada, inclusive a vácuo, a qualidade do café natural e cereja descascado reduziu durante o armazenamento. No entanto, a taxa de redução da qualidade foi estatisticamente diferente entre as embalagens.

A redução mais acentuada ocorreu nos grãos de café acondicionados na embalagem de papel, permeável a gases e ao vapor d'água, tanto para o café natural quanto para o café descascado. O café natural acondicionado em sacos de papel apresentou nota inferior a 80 pontos aos 6 meses, perdendo sua classificação como café especial. Já o café cereja descascado, acondicionado em sacos de papel apresentou nota inferior a 80 pontos aos 12 meses, não sendo mais considerado especial.

Após 12 meses de armazenamento, tanto o café natural quanto o cereja descascado acondicionados na embalagem PAB (papel com alta barreira) apresentaram qualidade sensorial igual ao café armazenado na embalagem V (a vácuo), que é considerada uma embalagem ideal para manutenção dos atributos do café por longos períodos de armazenamento (WATTS, 2013). Após 18 meses de armazenamento grãos de café natural acondicionados nas embalagens de papel com alta barreira (PAB) e à vácuo apresentaram melhor conservação da qualidade sensorial, mantendo-se com notas acima de 80 pontos. Já grãos de café cereja descascado acondicionados na embalagem PAB (papel com alta barreira) apresentaram melhor conservação da qualidade sensorial, com nota acima de 80 pontos.

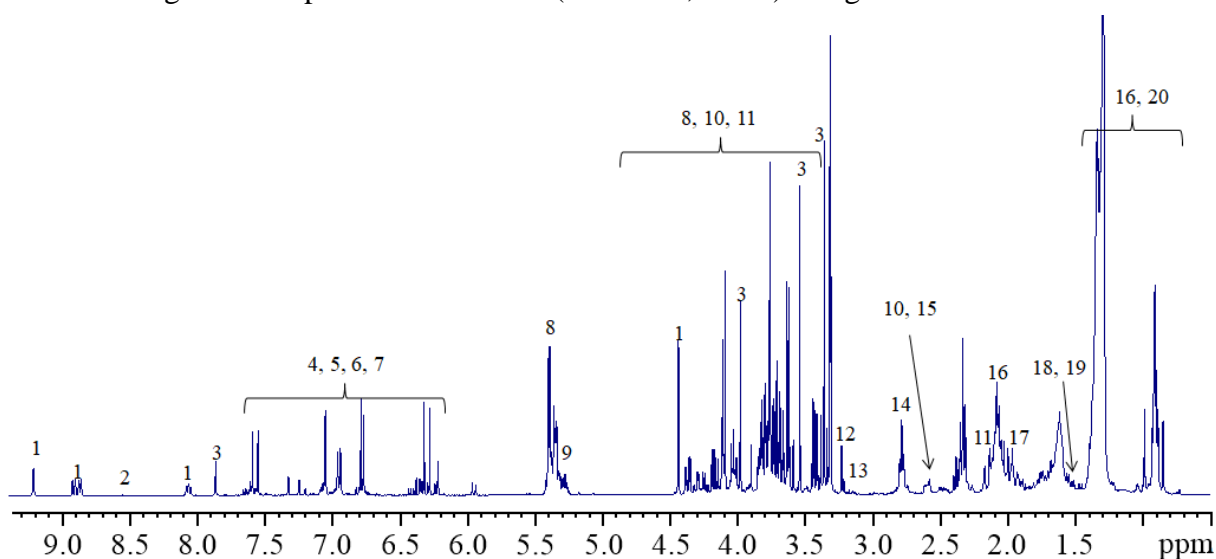
Apesar dos resultados positivos, nenhuma embalagem foi capaz de manter a qualidade sensorial inicial do café. Isso reforça a necessidade do desenvolvimento de metodologias capazes de identificar alterações químicas nos grãos crus de café durante o armazenamento, antes que ocorram mudanças depreciativas na sua qualidade sensorial.

### **3.1 Ressonância Magnética Nuclear $^1\text{H}$**

O espectro médio dos grãos crus de café início do armazenamento (tempo 0) é apresentado na Figura 2. Experimentos 2D detalhados foram realizados para confirmar as atribuições dos sinais.



Figura 2 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, 25 °C) dos grãos crus de café.



Legenda: Os metabólitos identificados foram: 1, trigonelina; 2, ácido fórmico; 3, cafeína; 4, ácidos clorogênicos; 5, ácido cafeico; 6, ácido ferúlico; 7, catecol; 8, sacarose; 9, ácidos graxos insaturados; 10, ácido málico; 11, ácido quínico; 12, glicerofosfocolina; 13, colina; 14, ácido cítrico; 15, ácido succínico; 16, ácidos graxos; 17, ácido acético; 18, ácido lático; 19, alanina e 20, treonina.

Fonte: Abreu et al. (2018).

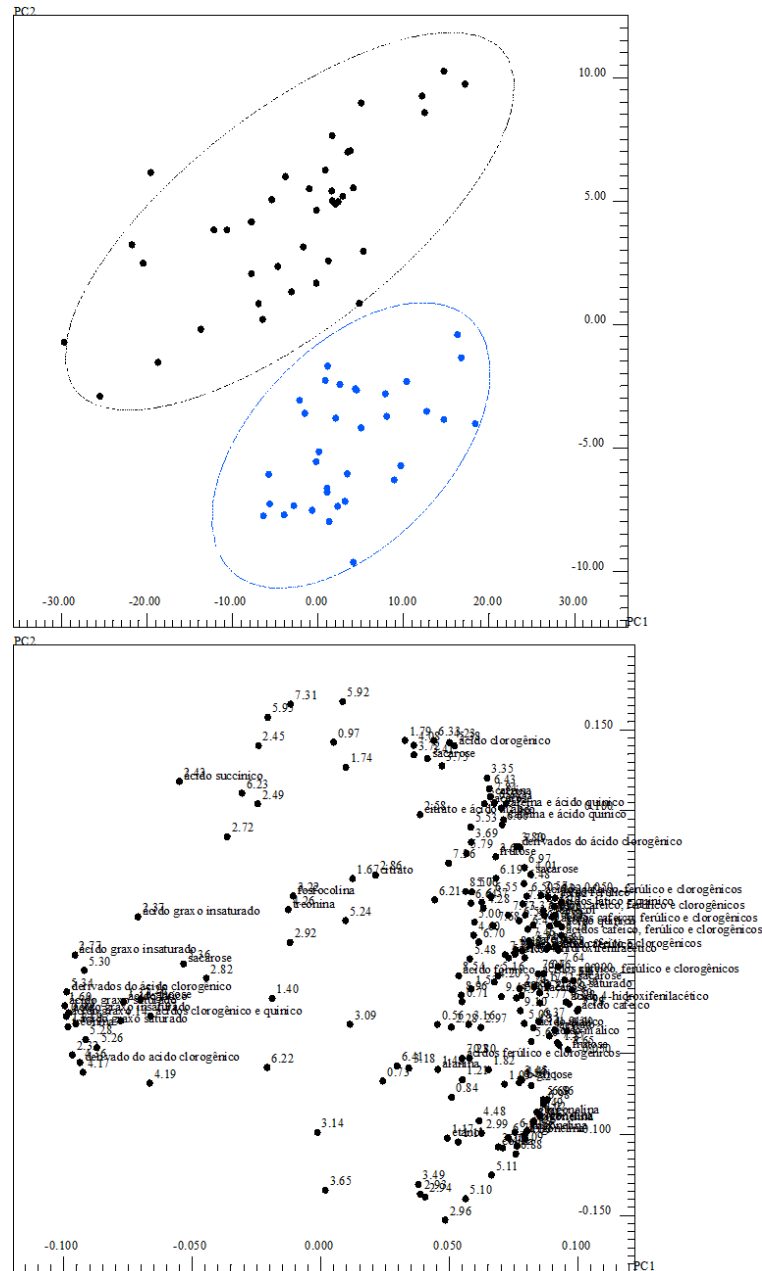
A grande maioria dos compostos químicos identificados no espectro gerado pela técnica de RMN  $^1\text{H}$  foram consistentes com os relatados na literatura científica nos grãos de café (DEL CAMPO et al., 2010; MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000; WEI et al., 2012a, 2012b). A glicerofosfocolina e a treonina não estão claramente documentados na literatura dos grãos crus, mas há relatos de compostos relacionados, como a fosfatidilcolina, responsável pela formação da glicerofosfocolina e outros aminoácidos relacionados a treonina (DUSSERT et al., 2006).

O espectro gerado por essa abordagem metabolômica é mais rico em informações químicas quando comparado com as técnicas convencionalmente utilizadas para avaliar a qualidade do café cru armazenado (RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014; RIBEIRO et al., 2011; SCHEIDIG; CZERNY; SCHIEBERLE, 2007; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Assim, é possível compreender as inúmeras reações metabólicas que podem ocorrer nos grãos durante o armazenamento e não apenas estudar compostos já relatados com frequência na literatura.

### **3.2 Caracterização das amostras de acordo com o processamento do café**

Inicialmente, realizou-se a análise exploratória empregando a análise dos componentes principais (PCA) apenas para as amostras no início do armazenamento com o objetivo de identificar variações metabólicas exclusivas do processamento do café. Na Figura 3 encontra-se o resultado da análise exploratória das variáveis químicas referente ao café natural e cereja descascado.

Figura 3 - Gráfico de escores e pesos do modelo da PCA para as amostras de café natural (●) e cereja descascado (●).



Fonte: Abreu et al. (2018).

Os 3 componentes principais (PC1, PC2 e PC3) explicaram cerca de 68,7% da variância total nas análises realizadas. Analisando o gráfico de pesos obtidos a partir desta PCA, percebe-se que a trigonelina, cafeína, colina e glicerofosfocolina são os compostos que tiveram maior contribuição na discriminação das amostras.

Para identificar variações nos compostos decorrentes apenas do tipo de acondicionamento, realizou-se análise exploratória através do PCA das variáveis químicas dos



A espectroscopia por RMN  $^1\text{H}$  foi capaz de identificar modificações químicas nos grãos crus acondicionados em diferentes embalagens aos 18 meses. O café acondicionado em embalagem de papel alta barreira e a vácuo possuem comportamento químico similar, mas distinto dos grãos acondicionados na embalagem de papel. Ao associar esse resultado com os obtidos na análise sensorial é observada coerência (FIGURA 1). A nota sensorial do café acondicionado na embalagem de papel alta barreira e a vácuo aos 18 meses são relativamente próximas, mas diferentes da nota obtida na análise sensorial do café acondicionado na embalagem de papel, tanto para o café natural quanto para o café cereja descascado (FIGURA 1). Os resultados obtidos reforçam que a embalagem com alta barreira oferece proteção aos grãos crus igual ou superior a embalagem a vácuo.

De acordo com o gráfico de pesos dessa PCA, a sacarose, ácido graxo saturados, treonina, ácidos clorogênicos, glicerofosfocolina e colina são os compostos que tiveram maior contribuição na discriminação das amostras. A sacarose é um dos carboidratos associados à respiração celular. Nesse processo ocorre hidrólise da sacarose, liberando os monossacarídeos glicose e frutose, que se tornam prontamente disponíveis para a respiração. Redução no conteúdo de sacarose durante o armazenamento está relacionada ao aumento no metabolismo dos grãos, indicando rápida deterioração e perda de qualidade (SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Grãos acondicionados em embalagens permeáveis, como o papel, estão mais expostos as modificações ambientais, propiciando aumento da taxa respiratória dos grãos e consequentemente, afetando o metabolismo dos açúcares com redução do conteúdo de sacarose (SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Resultados iniciais, referente a este mesmo estudo já indicaram redução da sacarose e aumento da glicose e frutose nos grãos acondicionados em embalagens permeáveis. Portanto, pode-se afirmar que grãos acondicionados em embalagens com alta barreira e a vácuo conservam melhor o conteúdo de sacarose, quando comparado aos grãos acondicionados na embalagem de papel, confirmado também pela espectroscopia por RMN  $^1\text{H}$ .

Durante o armazenamento do café cru, ocorre oxidação da fração lipídica e liberação de ácidos graxos decorrentes da hidrólise dos triacilgliceróis (DUSSERT et al., 2006; SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006). Estudo do perfil de ácidos graxos em café cru acondicionado em diferentes embalagens detectou aumento mais intenso na liberação dos ácidos graxos saturados, palmítico e esteárico, nos grãos acondicionados em saco de juta e armazenados em condições ambiente após 12 meses. Apenas grãos acondicionados em ambiente controlado preservaram os valores dos ácidos graxos saturados após 12 meses de armazenamento (RIBEIRO, 2013). Como o saco de juta é similar a embalagem de papel, provavelmente os

grãos acondicionados nessa embalagem sofreram maiores oxidações no conteúdo de lipídios promovendo aumento no teor de ácidos graxos saturados.

A treonina é um aminoácido sintetizado a partir do ácido aspártico. Apesar de não haver relatos dessa substância em estudos sobre armazenamento de grãos crus de café, sabe-se que os aminoácidos são suscetíveis à oxidação por espécies reativas de oxigênio (EROs) gerando grupos carbonila, indicador de oxidação proteica (RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014). A oxidação das proteínas durante o armazenamento pode ser acelerada pela oxidação lipídica, devido à proximidade de lipídios e proteínas na célula e à presença de EROs, geradas pela respiração dos grãos (SIMKIN et al., 2006). Estudo de armazenamento de grãos crus de café não detectou mudanças significativas no conteúdo total de aminoácidos proteicos e na concentração da maioria dos aminoácidos individuais (SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Entretanto, a concentração de glutamina diminuiu significativamente durante o armazenamento (SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). De acordo com as informações na literatura, possivelmente ocorreram diversas alterações metabólicas nos grãos acondicionados em sacos de papel permeável que propiciaram respiração dos carboidratos, oxidação dos lipídeos em um nível capaz de afetar até o conteúdo proteico, indicado pelas alterações no aminoácido treonina.

Os ácidos clorogênicos são encontrados em grande quantidade nos grãos de café. Existem diversas subclasses e isômeros dessas substâncias, sendo o 5-CQA o isômero encontrado em maior quantidade no café. (CLIFFORD, 1985, 2000; FARAH; DONANGELO, 2006). Por ser encontrado em grande quantidade no café, são esperadas alterações no conteúdo desses compostos. No armazenamento dos grãos há relatos de redução do conteúdo de ácido clorogênico, principalmente 5-CQA, devido às oxidações enzimáticas e não enzimáticas (RENDÓN; SALVA; BRAGAGNOLO, 2014; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008) que conseqüentemente afetam a qualidade sensorial (SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008). Por estarem mais expostos as oxidações, grãos acondicionados na embalagem de papel possivelmente apresentam maiores alterações no conteúdo dos ácidos clorogênicos aos 18 meses.

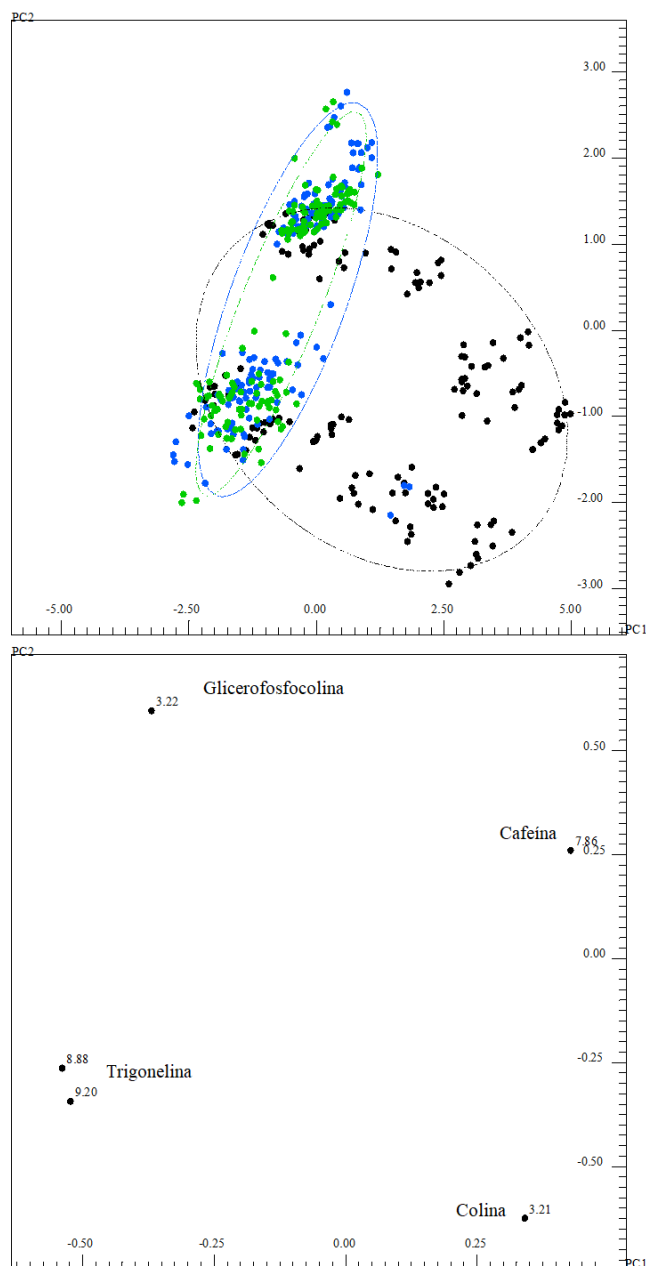
Colina e glicerofosfolina são componentes presentes nas membranas celulares. A colina é uma amina encontrada nos lipídios da membrana celular e no neurotransmissor acetilcolina. A glicerofosfolina é um fosfolípido derivado da fosfatidilcolina e precursor da acetilcolina. A fosfatidilcolina é um glicerofosfolípido que possui como grupo hidrofílico um fosfato ligado à colina e é considerada o fosfolípido mais abundante da membrana celular (MURRAY; DAVIS, 2003). Diversas pesquisas sobre grãos e sementes de café utilizaram

análises indicadoras de danos às membranas celulares para inferir deterioração do produto durante o armazenamento, como os testes de condutividade elétrica, lixiviação de potássio e germinação (ABREU et al., 2017; PAULO CARTERI CORADI, BORÉM, SAATH, & MARQUES, 2007; NOBRE, BORÉM, FERNANDES, & PEREIRA, 2007; RIBEIRO et al., 2011; SAATH, BIAGGIONI, BORÉM, BROETTO, & FORTUNATO, 2012). Resultados iniciais, referente a este mesmo estudo já indicaram maior deterioração das membranas revelado pelos testes de condutividade elétrica, lixiviação de potássio nos grãos crus acondicionados na embalagem de papel (ANDRADE, 2017).

Estudos mais específicos sobre deterioração das membranas durante o armazenamento dos grãos constataram desestruturação das biomembranas e alterações na composição dos fosfolipídios (DUSSERT et al., 2006; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008; ZHENG et al., 2017). Dussert et al. (2006) observaram seletiva redução dos glicerofosfolipídeos presentes nas membranas dos grãos crus de café, com rápida redução do fostatidiletanolamina e declínio da fosfotidilcolina e fosfatidilinositol após 12 meses de armazenamento. Por isso, de acordo com as alterações nesses compostos pode-se entender que possivelmente neste estudo os grãos acondicionados em embalagem com alta barreira e a vácuo apresentam melhor conservação da estrutura das membranas celulares aos 18 meses de armazenamento, quando comparado com os grãos acondicionados na embalagem de papel.

Com o objetivo de identificar marcadores responsáveis pelas alterações decorrentes do armazenamento, realizou-se a PCA das amostras acondicionadas nas diferentes embalagens durante o período de armazenamento apenas para as variáveis colina, glicerofosfocolina, trigonelina e cafeína (FIGURA 5). Apesar da sacarose, ácidos graxos saturados, ácidos clorogênicos e treonina também terem contribuído com a separação das amostras no modelo anterior, as variáveis escolhidas apresentaram sinais mais claro e separadas de outros compostos químicos no gráfico de pesos (FIGURA 4).

Figura 5 - Gráfico de escores e pesos do modelo da PCA para as variáveis glicerosfocolina, colina, trigonelina e cafeína das amostras de café acondicionadas na embalagem de papel (●), alta barreira (●) e vácuo (●) durante o armazenamento.



Fonte: Abreu et al. (2018).

Novamente, observa-se sobreposição das amostras de grãos de café acondicionadas em alta barreira e vácuo. Predominantemente, as amostras de café acondicionadas na embalagem de papel não se agruparam com as amostras acondicionadas em alta barreira e a vácuo. As únicas amostras de papel que se agrupam com as amostras acondicionadas em alta barreira e a vácuo são as amostras referentes ao início do armazenamento, ou seja, que não foram comprometidas com as alterações decorrentes do armazenamento. Isso mostra que no

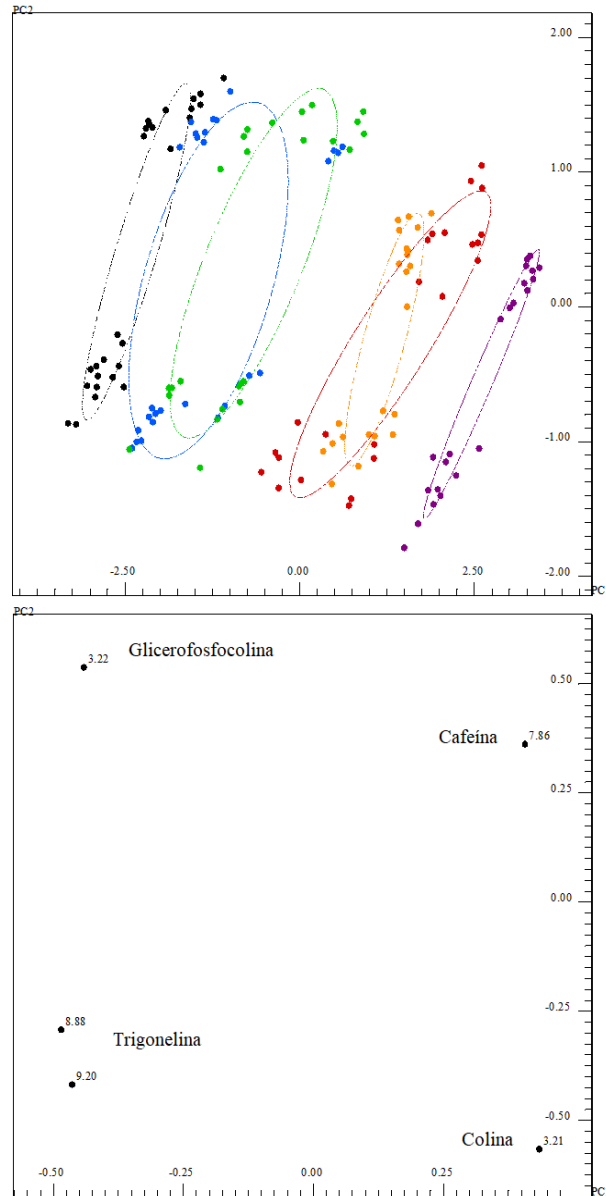


início do armazenamento as amostras apresentavam características químicas similares e com o passar do tempo, grãos de café acondicionados em embalagens de papel apresentam alterações químicas que os distinguem da composição química inicial. Esse modelo enfatiza o potencial da análise de RMN de  $^1\text{H}$  em estudos com o armazenamento de grãos crus de café acondicionados em embalagens com diferentes propriedades de barreira.

Depois de identificada a diferença no comportamento químico entre as amostras de café acondicionadas em embalagens distintas durante o armazenamento, independente do processamento do café, realizou-se a PCA das variáveis em cada embalagem durante o armazenamento, separadamente. Na Figura 6 é apresentado o resultado do modelo da PCA dos grãos de café acondicionados na embalagem de papel.



Figura 7 - Gráfico de escores e pesos do modelo da PCA para variáveis colina, glicerofosfocolina, trigonelina e cafeína das amostras de café acondicionadas na embalagem de papel durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).



Fonte: Abreu et al. (2018).

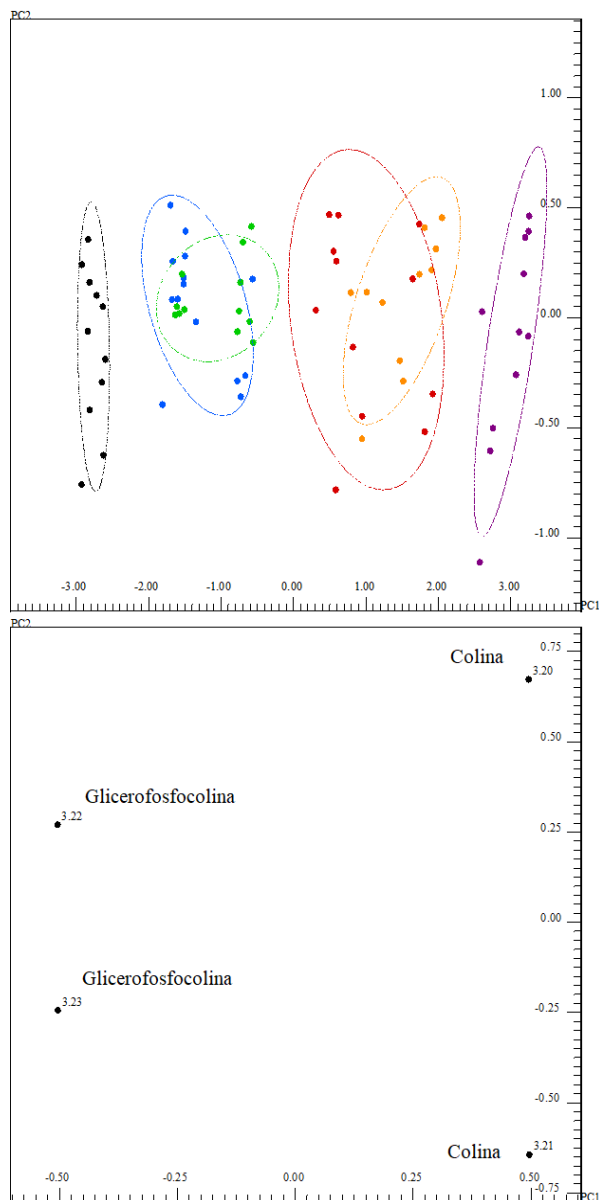
A partir do modelo elaborado apenas para as variáveis colina, glicerofosfocolina, trigonelina e cafeína foi possível observar melhor separação das amostras durante o armazenamento. Em cada período de armazenamento, as amostras de café natural estão localizadas na parte superior da elipse e as amostras do café cereja descascado, na parte inferior. A trigonelina é a substância com maior contribuição nessa separação, apresentando sinais ligeiramente mais intensos no café natural. Apesar de ser um composto amplamente estudado e documentado em estudos de grãos de café, não é clara a contribuição isolada da

trigonelina na diferenciação do café quanto aos diversos fatores que afetam a qualidade. A maioria dos estudos com cafés especiais que avaliaram o comportamento da trigonelina encontraram que, em algumas situações, essa substância em conjunto com outros compostos são capazes de diferenciar origens geográficas, genótipos, ambientes, processamentos e qualidade sensorial do café (ARRUDA et al., 2012; AVELINO et al., 2005; FASSIO et al., 2016, 2017; FIGUEIREDO et al., 2013; OBERTHÜR et al., 2011; RIBEIRO et al., 2016). Sendo assim, pode-se afirmar que apesar dos sinais mais intensos da trigonelina nas amostras de café natural, a interação com outros compostos químicos permitiu a separação entre o café natural e cereja descascado.

Pelo gráfico dos pesos observa-se que as amostras de café início do armazenamento e após 3 e 6 meses estão relacionadas principalmente à presença da glicerofosfocolina; já as amostras armazenadas por 9, 12 e 18 meses estão relacionadas à colina e cafeína. A cafeína é reconhecida por ser um composto com certa estabilidade, desde o desenvolvimento de frutos e sementes (DE CASTRO; MARRACCINI, 2006), processamento (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010; JOËT et al., 2010), e após a torra (CASAL; BEATRIZ OLIVEIRA; FERREIRA, 2000; FRANCA; MENDONÇA; OLIVEIRA, 2005). Devido à estabilidade da substância, não eram esperadas alterações metabólicas desse composto. Existe um composto, junto com os sinais da cafeína com probabilidade de ser xantosina. Para confirmar se o metabólito realmente é a xantosina, estão sendo realizadas investigações.

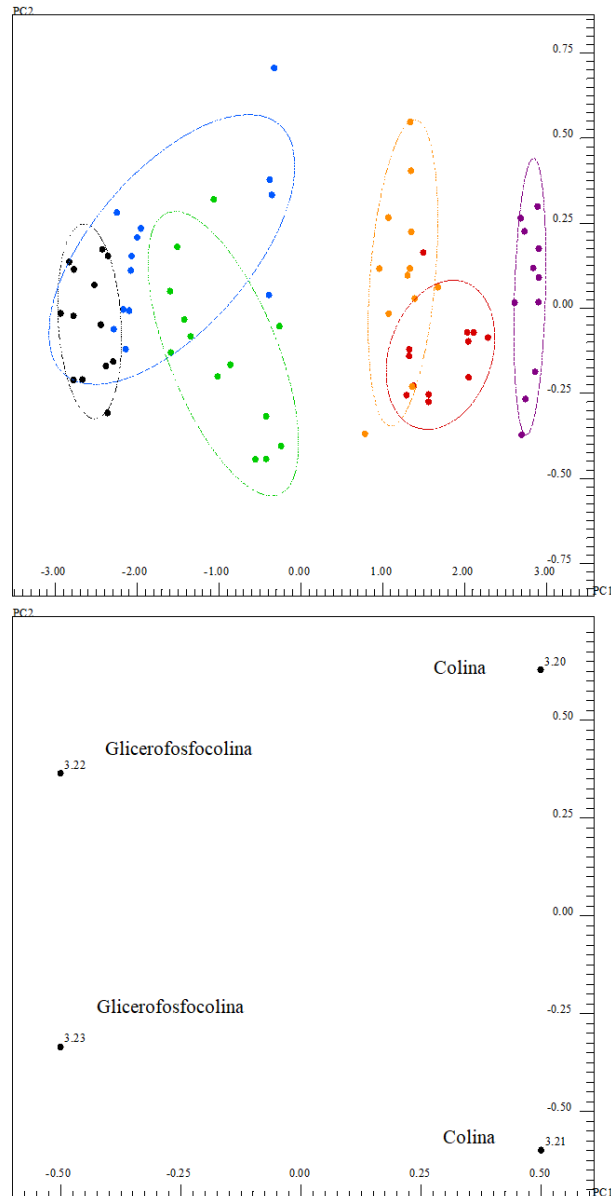
Conforme já apresentado, glicerofosfocolina e colina são compostos relacionados com as membranas celulares. Com a finalidade de verificar se realmente esses são os compostos indicadores do envelhecimento dos grãos e verificar se grãos de café obtidos por via seca e via úmida possuem comportamento diferente no armazenamento, realizou-se a PCA para o café natural (FIGURA 8) e cereja descascado (FIGURA 9) com as variáveis colina e glicerofosfocolina.

Figura 8 - Resultado do modelo da PCA para as variáveis e colina e glicerofosfocolina, das amostras de café natural acondicionadas na embalagem papel durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).



Fonte: Abreu et al. (2018).

Figura 9 - Resultado do modelo da PCA para as variáveis e colina e glicerosfocolina, das amostras de café cereja descascado acondicionadas na embalagem papel durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).



Fonte: Abreu et al. (2018).

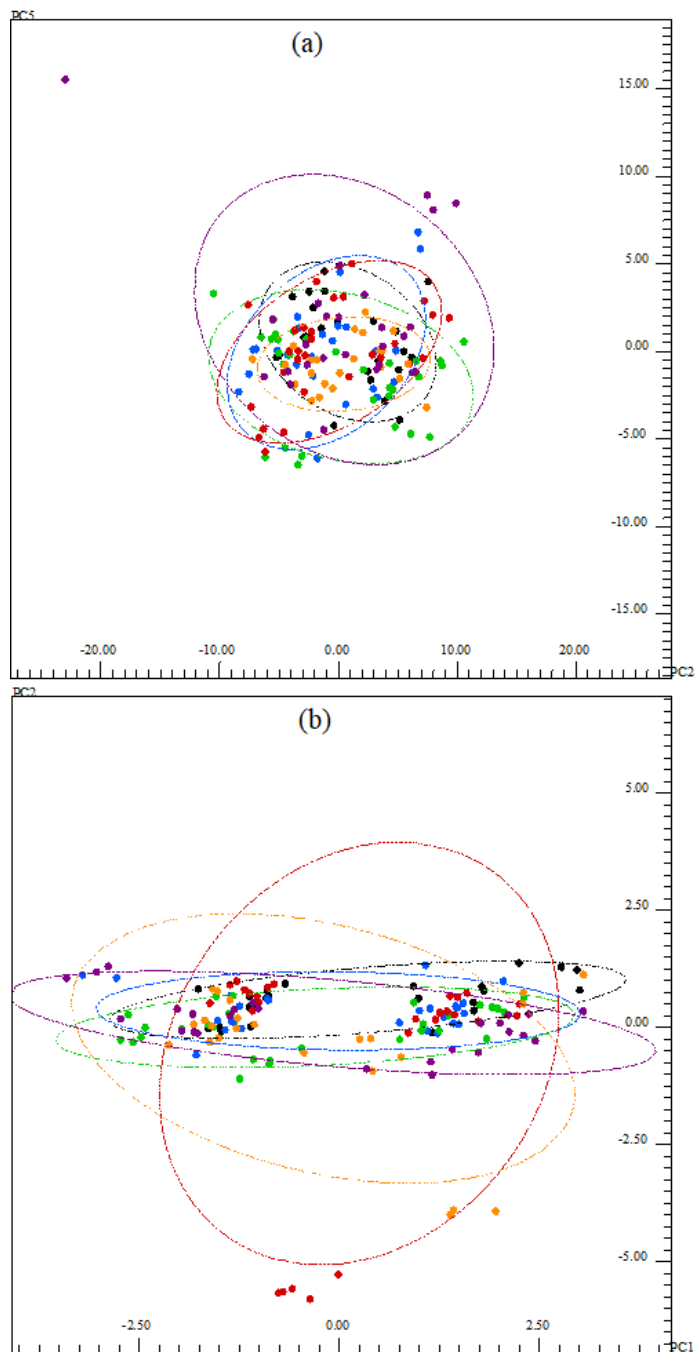
Por meio da RMN  $^1\text{H}$  e ferramentas quimiometria, foi possível separar as amostras de café natural acondicionado na embalagem de papel a partir do 3º mês de armazenamento. Isso permite afirmar que aos de 3 meses de armazenamento ocorrem alterações relacionadas as membranas celulares no café natural precursoras da depreciação sensorial que os degustadores começam a perceber a partir de 3 meses, com forte detecção aos 6 meses de armazenamento. Aos 6 meses o café natural acondicionado não é considerado mais especial (FIGURA 1a).

O comportamento do café cereja descascado foi diferente do café natural. Aos 3 meses de armazenamento, algumas amostras ainda possuem comportamento similar as amostras tomadas no início do armazenamento (tempo 0). A partir dos 6 meses, as amostras se separam com maior clareza das amostras do início do armazenamento. Isso permite afirmar que aos de 6 meses de armazenamento ocorrem alterações relacionadas as membranas celulares no café cereja descascado precursoras da depreciação sensorial que os degustadores começam a perceber a partir de 6 meses, com forte detecção aos 9 meses de armazenamento. Aos 9 meses o café natural acondicionado não é considerado mais especial (FIGURA 1b).

Os resultados permitem afirmar que colina e glicerofosfocolina são indicadores do envelhecimento do café cru. Cafés naturais apresentaram maior transformações químicas, confirmando a hipótese que são mais sensíveis as alterações no armazenamento (ABREU, 2015; CORADI et al., 2007; SAATH et al., 2012, 2014). Além disso, está claro que os resultados obtidos com a espectroscopia RMN  $^1\text{H}$  são mais sensíveis em detectar alterações metabólicas nos grãos crus de café acondicionado que posteriormente depreciarão a qualidade sensorial do café (FIGURA 1).

Abaixo são apresentados os resultados do modelo da PCA das variáveis químicas dos grãos de café acondicionados na embalagem de papel alta barreira (FIGURA 10) e vácuo (FIGURA 11).

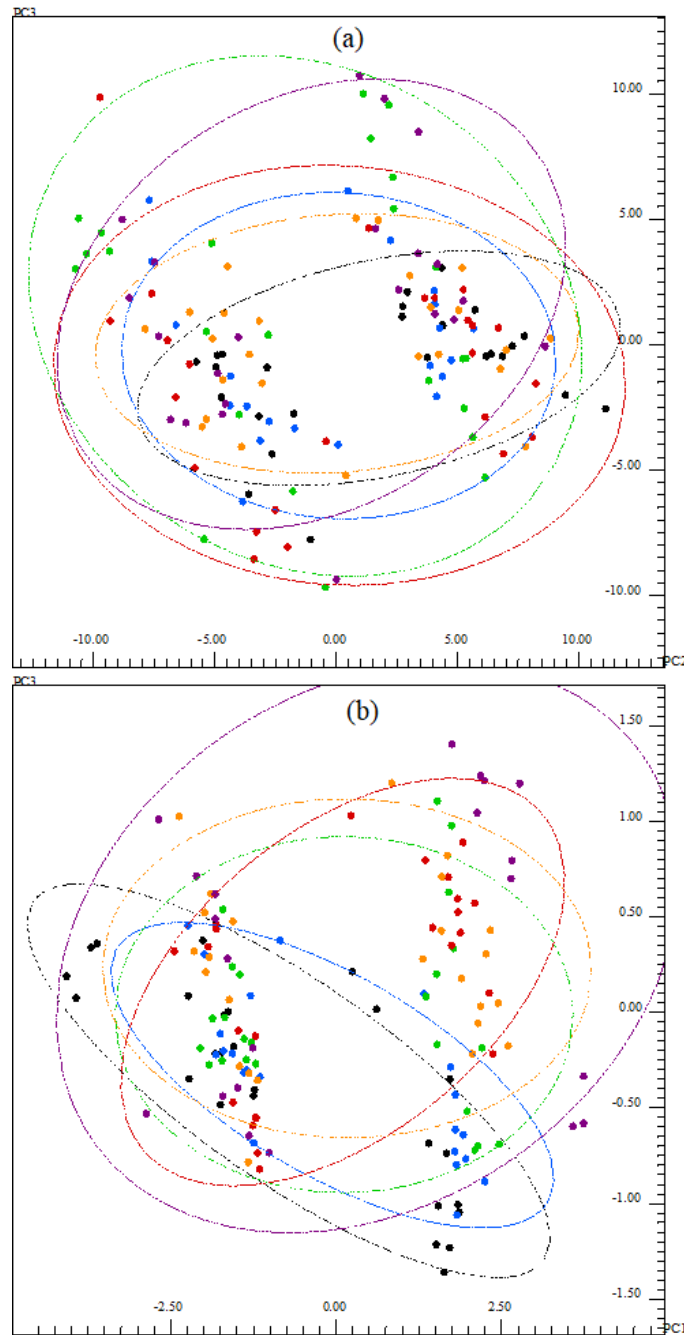
Figura 10 - Resultado do modelo da PCA para (a) todas as variáveis e para (b) colina, glicerofosfolina, trigonelina e cafeína das amostras de café acondicionadas na embalagem de papel alta barreira durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).



Fonte: Abreu et al. (2018).



Figura 11 - Resultado do modelo da PCA para (a) todas as variáveis e para (b) colina, glicerofosfocolina, trigonelina e cafeína das amostras de café acondicionadas na embalagem a vácuo durante o armazenamento. (início do armazenamento (●) 3 meses (●), 6 meses (●), 9 meses (●), 12 meses (●) e 18 meses (●)).



Fonte: Abreu et al. (2018).

O comportamento dos grãos de café acondicionados na embalagem de papel alta barreira e a vácuo durante o armazenamento foi similar, não apresentando alterações químicas observadas nos grãos acondicionados na embalagem de papel. Isso significa que grãos acondicionados em embalagens com alta barreira e a vácuo conservaram as características

químicas iniciais por 18 meses. Os resultados são coerentes com a análise sensorial (FIGURA 1). Após 18 meses de armazenamento grãos de café natural acondicionados nas embalagens de papel com alta barreira (PAB) e à vácuo (V) apresentaram melhor conservação da qualidade sensorial, mantendo-se com notas acima de 80 pontos. Já grãos de café cereja descascado acondicionados na embalagem PAB (papel com alta barreira) apresentaram melhor conservação da qualidade sensorial, com nota acima de 80 pontos.

Os resultados confirmam a hipótese de que é possível manter a qualidade do café durante longos períodos de armazenamento. Além disso, comprova que há tecnologia capaz de conservar os grãos de café com eficiência igual ou superior à embalagem a vácuo, considerada referência na conservação dos grãos crus por exportadores e importadores de café especiais (WATTS, 2013).

## 4 CONCLUSÃO

- a) A abordagem metabolômica com o emprego da espectroscopia RMN  $^1\text{H}$  foi eficiente para compreender o fenômeno do envelhecimento dos grãos crus de café natural e cereja descascado armazenados em diferentes embalagens;
- b) A embalagem de papel permite maiores transformações químicas nos grãos crus de café durante o armazenamento e os compostos químicos associados as alterações são colina e glicerofosfocolina;
- c) Café natural especial é mais sensível às transformações químicas relacionadas ao armazenamento, quando comparado com café cereja descascado especial;
- d) A embalagem de alta barreira oferece a mesma proteção ao café cru que o acondicionamento a vácuo e é adequada para o acondicionamento de grãos crus de café natural e cereja descascado especial por longos períodos de tempo.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, FAPEMIG, CNPq e INCT-CAFÉ pelos auxílios financeiros e às empresas Bourbon Specialty Coffee e CarmoCoffees pelo fornecimento da matéria-prima. Os autores agradecem também à BSCA, à Apex-Brasil, à Videplast e à Klabin pelo apoio ao projeto.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, G. F. **Aspectos sensoriais, fisiológicos e bioquímicos de grãos de café refrigerado**. 2015. 157 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.
- ABREU, G. F. et al. Alterações na coloração de grãos de café em função das operações pós-colheita. **Coffee Science**, v. 10, n. 4, p. 429-436, 2015.
- ABREU, G. F. et al. Simultaneous optimization of coffee quality variables during storage. **Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 56-60, 2017.
- ANDRADE, F. T. **Qualidade do café natural especial acondicionado em embalagens impermeáveis e armazenado no Brasil e no exterior**. 2017. 108 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- ARANA, V. A. et al. Coffee's country of origin determined by NMR: The Colombian case. **Food Chemistry**, v. 175, p. 500-506, 2015.
- ARRUDA, N. P. et al. Correlação entre precursores e voláteis em café arábica brasileiro processado pelas vias seca, semiúmida e úmida e discriminação através da análise por componentes principais. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2044-2051, 2012.
- AVELINO, J. et al. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 11, p. 1869-1876, 2005.
- BORÉM, F. M. et al. Evaluation of the sensory and color quality of coffee beans stored in hermetic packaging. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, p. 1-6, 2013.
- BOSCO, M. et al. High-resolution <sup>1</sup>H NMR investigation of coffee. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 6, p. 869-878, 1999.
- CAGLIANI, L. R. et al. Quantification of Coffea arabica and Coffea canephora var. robusta in roasted and ground coffee blends. **Talanta**, v. 106, p. 169-173, 2013.
- CAPOZZI, F.; BORDONI, A. Foodomics: A new comprehensive approach to food and nutrition. **Genes and Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 1-4, 2013.
- CHENG, B. et al. **Influence of genotype and environment on coffee quality** **Trends in Food Science and Technology**, 2016.
- CIARAMELLI, C. et al. Authenticity of roasted coffee using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 85, n. December 2017, p. 243-252, 2017.
- CIARAMELLI, C. et al. NMR-driven identification of anti-amyloidogenic compounds in green and roasted coffee extracts. **Food Chemistry**, v. 252, n. January, p. 171-180, 2018.
- CIFUENTES, A. Food Analysis: Present, Future, and Foodomics. **ISRN Analytical Chemistry**, v. 2012, p. 1-16, 2012.

CLIFFORD, M. N. **Coffee: botany, biochemistry, and production of beans and beverage**. 1. ed. Nova York: Croom Helms, 1985.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 1033-1043, 2000.

CONSONNI, R.; CAGLIANI, L. R.; COGLIATI, C. NMR based geographical characterization of roasted coffee. **Talanta**, v. 88, p. 420-426, 2012.

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

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

D'ALESSANDRO, A.; ZOLLA, L. **We are what we eat: Food safety and proteomics** **Journal of Proteome Research**, 2012.

DE OLIVEIRA, C. R.; CARNEIRO, R. L.; FERREIRA, A. G. Tracking the degradation of fresh orange juice and discrimination of orange varieties: An example of NMR in coordination with chemometrics analyses. **Food Chemistry**, v. 164, p. 446-453, 2014.

DEFERNEZ, M. et al. Low-field <sup>1</sup>H NMR spectroscopy for distinguishing between arabica and robusta ground roast coffees. **Food Chemistry**, v. 216, p. 106-113, 2017.

DEL CAMPO, G. et al. Quantitative determination of caffeine, formic acid, trigonelline and 5-(hydroxymethyl)furfural in soluble coffees by <sup>1</sup>H NMR spectrometry. **Talanta**, v. 81, p. 367-371, 2010.

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

FAN, S. et al. Classification of Chinese wine varieties using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy combined with multivariate statistical analysis. **Food Control**, v. 88, p. 113-122, 2017.

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

FASSIO, L. DE O. et al. Sensory description of cultivars (*Coffea arabica* L.) resistant to rust and its correlation with caffeine, trigonelline, and chlorogenic acid compounds. **Beverages**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2016.

FASSIO, L. O. et al. Sensory Profile and Chemical Composition of Specialty Coffees from Matas de Minas Gerais, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, n. 9, p. 1916-9760, 2017.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FIGUEIREDO, L. P. et al. The Potential for High Quality Bourbon Coffees From Different Environments. **Journal of Agricultural Science**, v. 5, n. 10, p. 87-98, 2013.

FIGUEIREDO, L. P. et al. Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 35, p. 3484-3493, 2015.

GUNNING, Y. et al. 16-O-methylcafestol is present in ground roast Arabica coffees: Implications for authenticity testing. **Food Chemistry**, v. 248, n. December 2017, p. 52-60, 2018.

HUO, Y. et al. <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics for discrimination of rice from different geographical origins of China. **Journal of Cereal Science**, v. 76, p. 243-252, 2017.

KWON, D.-J. et al. Assessment of green coffee bean metabolites dependent on coffee quality using a <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics approach. **Food Research International**, v. 67, p. 175-182, 2015.

LAGHI, L.; PICONE, G.; CAPOZZI, F. **Nuclear magnetic resonance for foodomics beyond food analysis** TrAC - Trends in Analytical Chemistry, 2014.

LI, B. Q. et al. An approach to the simultaneous quantitative analysis of metabolites in table wines by <sup>1</sup>H NMR self-constructed three-dimensional spectra. **Food Chemistry**, v. 216, p. 52-59, 2017.

LINGLE, T. R. **The Coffee Cupper's Handbook: Systematic Guide to the Sensory Evaluation of Coffee's Flavor**. 4, revisad. ed. [s.l: s.n.].

LIU, Y. J. et al. Multivariate statistical process control (MSPC) using Raman spectroscopy for in-line culture cell monitoring considering time-varying batches synchronized with correlation optimized warping (COW). **Analytica Chimica Acta**, v. 952, p. 9-17, 2017.

LIU, Z. H.; CHEN, H. Z. Biomass-Water Interaction and Its Correlations with Enzymatic Hydrolysis of Steam-Exploded Corn Stover. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 4, n. 3, p. 1274-1285, 2016.

MALMENDAL, A. et al. NMR spectrometers as "magnetic tongues": Prediction of sensory descriptors in canned tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 10831-10838, 2011.

MANNINA, L.; SOBOLEV, A. P.; VIEL, S. Liquid state <sup>1</sup>H high field NMR in food analysis. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, v. 66, p. 1-39, 2012.

MARSEGLIA, A. et al. HR MAS <sup>1</sup>H NMR and chemometrics as useful tool to assess the geographical origin of cocoa beans - Comparison with HR <sup>1</sup>H NMR. **Food Research International**, v. 85, p. 273-281, 2016.

MINOJA, A. P.; NAPOLI, C. NMR screening in the quality control of food and nutraceuticals. **Food Research International**, v. 63, p. 126-131, 2014.

- MONAKHOVA, Y. B. et al. Rapid approach to identify the presence of Arabica and Robusta species in coffee using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 182, p. 178-184, 2015.
- MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; MARIA, C. A. B. DE. Componentes voláteis do café torrado. Parte II. Compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 195-203, 2000.
- OBERTHÜR, T. et al. Regional relationships between inherent coffee quality and growing environment for denomination of origin labels in Nariño and Cauca, Colombia. **Food Policy**, v. 36, n. 6, p. 783-794, 2011.
- PALARIC, C. et al. Combined MS-NMR approach for the quality control of food supplements containing amino acids. **Food Control**, v. 88, p. 217-228, 2018.
- PICCINO, S. et al. Aromatic composition and potent odorants of the “specialty coffee” brew “Bourbon Pointu” correlated to its three trade classifications. **Food Research International**, v. 61, p. 264-271, 2014.
- PRAKASH, S. et al. Quantitative analysis of Bordeaux red wine precipitates by solid-state NMR: Role of tartrates and polyphenols. **Food Chemistry**, v. 199, p. 229-237, 2016.
- RENDÓN, M. Y.; SALVA, T. DE J. G.; BRAGAGNOLO, N. Impact of chemical changes on the sensory characteristics of coffee beans during storage. **Food Chemistry**, v. 147, p. 279-286, 2014.
- RIBEIRO, D. E. et al. Interaction of genotype, environment and processing in the chemical composition expression and sensorial quality of Arabica coffee. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 27, p. 2412-2422, 2016.
- RIBEIRO, F. C. et al. Storage of green coffee in hermetic packaging injected with CO<sub>2</sub>. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 4, p. 341-348, 2011.
- RIGUEIRA, R. J. DE A. et al. Armazenamento de grãos de café cereja descascado em ambiente refrigerado. **Engenharia na Agricultura**, v. 17, n. 4, p. 323-333, 2009.
- ROCHFORT, S. et al. Sensory attributes of wine influenced by variety and berry shading discriminated by NMR metabolomics. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 1296-1304, 2010.
- SAATH, R. et al. Alterações na composição química e sensorial de café (*Coffea arabica* L.) nos processos pós-colheita. **Revista Energia na Agricultura**, v. 27, n. 2, p. 96-112, 2012.
- SAATH, R. et al. Activity of some isoenzymatic systems in storage coffee grains. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 1, p. 15-24, 2014.
- SCHEIDIG, C.; CZERNY, M.; SCHIEBERLE, P. Changes in key odorants of raw coffee beans during storage under defined conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 5768-5775, 2007.
- SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S. E. The storage of green coffee (*Coffea arabica*): Decrease of viability and changes of potential aroma precursors. **Annals of Botany**, v. 101, n. 1, p. 31-38, 2008.

SOBOLEV, A. P. et al. Molecular fingerprinting of food authenticity. **Current Opinion in Food Science**, v. 16, p. 59-66, 2017.

TAVEIRA, J. H. DA S. et al. Potential markers of coffee genotypes grown in different Brazilian regions: A metabolomics approach. **Food Research International**, v. 61, n. July, p. 75-82, 2014.

TOLESSA, K. et al. Prediction of specialty coffee cup quality based on near infrared spectra of green coffee beans. **Talanta**, v. 150, p. 367-374, 2016.

TOLESSA, K. et al. Influence of growing altitude, shade and harvest period on quality and biochemical composition of Ethiopian specialty coffee. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 9, p. 2849-2857, 2017.

TRIMIGNO, A. et al. **Definition of food quality by NMR-based foodomics** *Current Opinion in Food Science*, 2015.

WATTS, G. Coffee Quality. In: THURSTON, R. W.; MORRIS, J.; STEIMAN, S. (Eds.). . **Coffee: A Comprehensive Guide to the Bean, the Beverage, and the Industry**. [s.l: s.n.]. p. 422.

WEI, F. et al. <sup>13</sup>C NMR-based metabolomics for the classification of green coffee beans according to variety and origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 40, p. 10118-10125, 2012a.

WEI, F. et al. Roasting process of coffee beans as studied by nuclear magnetic resonance: Time course of changes in composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 1005-1012, 2012b.

WORKU, M. et al. Effect of altitude on biochemical composition and quality of green arabica coffee beans can be affected by shade and postharvest processing method. **Food Research International**, v. 105, n. March 2017, p. 278-285, 2018.

ZHENG, H. et al. Using NMR to study changes in the characteristic constituents of stored rice. **Journal of Cereal Science**, v. 75, p. 179-185, 2017.



**ARTIGO 3 - COMPOSTOS VOLÁTEIS NO CAFÉ TORRADO INDICADORES DO ENVELHECIMENTO DE GRÃOS CRUS DE CAFÉ ARÁBICA ACONDICIONADOS EM DIFERENTES EMBALAGENS**

Giselle Figueiredo de Abreu\*

Flávio Meira Borém<sup>1</sup>

Luiz Fernando Cappa de Oliveira<sup>2</sup>

Ana Paula de Carvalho Alves<sup>3</sup>

Cláudia Mendes Santos<sup>4</sup>

Fabício Teixeira Andrade<sup>5</sup>

**Artigo redigido conforme a NBR 6022 (ABNT, 2003) e formatado de acordo com o Manual da UFLA de apresentação de teses e dissertações.**

---

\* gfigueiredoabreu@hotmail.com, UFLA.

<sup>1</sup> flavioborem@deg.ufla.br, UFLA.

<sup>2</sup> luiz.oliveira@ufjf.edu.br, UFJF.

<sup>3</sup> anapaula.quimica@hotmail.com, UFLA.

<sup>4</sup> claumsantos@yahoo.com.br, UFLA.

<sup>5</sup> fabricio@sancoffee.com.

## RESUMO

Apesar dos avanços nos estudos em tecnologias eficientes para acondicionar os grãos crus de café, não existe embalagem comercial capaz de evitar alterações nos grãos decorrente do armazenamento. Isso significa que ocorrem alterações nos grãos decorrentes do armazenamento em todas as embalagens disponíveis comercialmente. A velocidade com que essas modificações ocorrem é diferente em tipo de acondicionamento do café, sendo que a taxa de redução da qualidade é maior nas embalagens permeáveis, como a sacaria de juta ou papel. A proposta com este trabalho é determinar o período de armazenamento em que ocorre alterações nos compostos voláteis do café torrado indicadores do envelhecimento dos grãos crus de café especial natural e cereja descascado acondicionado em embalagem com alta barreira e impermeável. Grãos crus de café natural e cereja descascado especial foram acondicionados em 2 tipos de embalagens e armazenado em armazém comercial. Foi realizada a análise sensorial e o perfil de compostos voláteis nos períodos de 0, 3, 6, 9, 12 e 18 meses de armazenamento. A análise de compostos voláteis dos grãos torrados foi eficiente em identificar alterações químicas nos grãos crus de café natural armazenados em diferentes embalagens. A embalagem de papel permite maiores transformações químicas dos compostos voláteis nos grãos crus de café natural detectadas a partir do 3º mês de armazenamento e os compostos mais associados às alterações são 1-hidroxi 2-propanona; 2-metil tetrahydro 3-furanona; furfural e piridina. Café natural especial é mais sensível às transformações químicas relacionadas ao armazenamento, quando comparado com café cereja descascado especial.

**Palavras-chave:** Cafés especiais. Embalagens. Deterioração. Qualidade sensorial. Processamento.

## VOLATILE COMPOUNDS IN ROASTED COFFEE THAT INDICATE AGING OF GREEN COFFEE GRAINS CONDITIONED IN DIFFERENT PACKAGES

### ABSTRACT

Despite the advancements in studies about technologies to condition green coffee grains, there is no commercial package able to avoid alterations to the grains due to storage. That means that alterations due to storage occur to coffee grains in any packages commercially available. The speed at which these modifications occur is different depending on the type of coffee conditioning, being that the quality reduction rate is higher at permeable packages, such as paper or jute bags. This work aims at determining the storage period in which there are alterations to the volatile compounds in roasted coffee that indicate aging in green coffee from natural coffee and pulped natural coffee conditioned in permeable packages and high barrier packages. Green coffee beans from the natural and pulped natural coffees were conditioned into two types of packages and stored in a commercial warehouse. Sensory analysis and the profile of volatile compounds were carried out at 0, 3, 6, 9, 12 and 18 months of storage. The analysis of volatile compounds of roasted coffee was able to identify chemical alterations in the green coffee beans stored in different packages. Paper packages allow greater chemical transformations of the volatile compounds in the green grains of coffee detected from the third month of storage and the compounds more directly related to the alterations are 1-hydroxy 2-propanone; 2-methyl tetrahydro 3-furanone; furfural and pyridine. Natural specialty coffee is more sensitive to chemical transformations related to storage, when compared to pulped natural specialty coffee.

**Keywords:** Specialty coffees. Packages. Deterioration. Sensory Quality. Processing.

## 1 INTRODUÇÃO

O armazenamento do café é etapa indispensável para fornecer com consistência e constância cafés especiais ao mercado. Inadequações nesta etapa pode comprometer a sustentabilidade do negócio e inviabilizar a atividade. Estudos têm avaliado diferentes tecnologias para o acondicionamento do café cru eficientes em conservar as características qualitativas iniciais do café por maiores períodos de tempo, com destaque para os resultados positivos das técnicas de atmosfera artificial (BORÉM et al., 2008, 2013; CORADI et al., 2007; NOBRE et al., 2007; RIBEIRO et al., 2011).

Devido a necessidade em oferecer ao mercado embalagens eficientes para o acondicionamento dos grãos crus de café especial foi celebrada recentemente parceria público-privada entre a UFLA (Universidade Federal de Lavras), BSCA (Associação Brasileira de Cafés Especiais), Klabin e Videplast, com o apoio das exportadoras de café especiais Bourbon Specialty Coffees, Carmocoffees e Apex-Brasil. Fruto da parceria foi estudo onde foi avaliada a qualidade do café cru especial acondicionado em embalagens com diferentes propriedades de barreira. No estudo constatou-se que embalagens com alta barreira são eficazes para o armazenamento do café cru por longos períodos, por proporcionar melhor conservação dos grãos (ANDRADE, 2017). Atualmente, as embalagens estudadas já estão sendo comercializadas e utilizadas por produtores, exportadores e importadores de cafés especiais no mundo.

Embora houve evolução nos estudos em tecnologias eficientes para acondicionar os grãos crus de café, não existe embalagem comercial capaz de evitar alterações nos grãos decorrente do armazenamento. Isso significa que ocorrem alterações nos grãos decorrentes do armazenamento em todas embalagens disponíveis comercialmente (ANDRADE, 2017; BORÉM et al., 2013; RIBEIRO et al., 2011). Contudo, a velocidade com que essas modificações ocorrem é diferente em cada embalagem, sendo que a taxa de redução da qualidade é maior nas embalagens permeáveis, como a sacaria de juta ou papel (BORÉM et al., 2008, 2013; NOBRE et al., 2007; RIBEIRO et al., 2011). A maioria dos estudos realizados de armazenamento de grãos crus utilizaram lotes de cafés com pontuação próxima a 80 pontos, atribuída por juízes certificados. Cafés com essa pontuação são classificados como especiais de acordo com a SCA (*Specialty Coffee Association*). Entretanto, devido a crescente exigência e demanda do mercado de especiais por cafés com perfis sensoriais complexos e exóticos, cafés com pontuação em torno de 80 pontos não são tão valorizados pelo.

Cafés especiais de excelente qualidade possui dinâmica das alterações no armazenamento diferente de cafés qualidade muito boa e principalmente do commodities (ANDRADE, 2017; RIBEIRO, 2013), necessitando de mais estudos científicos para compreender essas transformações. Além disso, o deságio com a redução da qualidade comparativamente é muito maior nos cafés especiais quando comparado com cafés commodities. Por essas razões, justifica-se estudos de armazenamento do café cru com matéria prima de qualidade superior as já documentadas na literatura.

Outro aspecto que necessita de mais informações são as diferenças no comportamento químicos no armazenamento de grãos crus de café especiais processados por via seca e via úmida. As diferenças na composição química inicial dos grãos crus de café natural e cereja descascado faz com que esses cafés se comportem de maneira distinta no armazenamento, com maior redução da qualidade relatada nos cafés naturais (ABREU, 2015; CORADI et al., 2007; SAATH et al., 2012, 2014). Contudo, não está elucidado quais são os compostos ou grupos de substâncias indicadoras do envelhecimento e se são iguais, em qualidade e quantidade, para o café natural e cereja.

Todo o conteúdo abordado, contribui para que o fenômeno do envelhecimento dos grãos crus de cafés especiais seja extremamente complexo, com várias questões abertas a respeito dos compostos responsáveis pela alteração do sabor ou do aroma do café. Com o objetivo de compreender o fenômeno, são necessárias ferramentas instrumentais capazes de estudar os compostos químicos relacionados ao sabor e aroma da bebida do café. Atualmente, a análise de cromatografia gasosa (CG) é considerada a melhor abordagem para compreender questões relacionadas ao aroma do café. Devido aos avanços na técnicas de CG nos últimos anos, o número de publicações sobre café aroma e concomitantemente o número de compostos voláteis identificados no café são elevados (BERTRAND et al., 2012a; CANTERGIANI et al., 2001; CHEONG et al., 2013; DULSAT-SERRA; QUINTANILLA-CASAS; VICHI, 2016; GLOESS et al., 2014; KNYSAK, 2017; PICCINO et al., 2014; POYRAZ et al., 2016; SUNARHARUM; WILLIAMS; SMYTH, 2014; YERETZIAN et al., 2004, 2002). Aproximadamente mil compostos voláteis foram relatados no café cru e torrado (BUFFO; CARDELLI-FREIRE, 2004; FLAMENT, 1989; MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999; MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000). Entretanto, já foi documentado que aproximadamente menos de 30 compostos voláteis são importantes na percepção do aroma do café torrado (BLANK; SEN; GROSCH, 1992; CZERNY; GROSCH, 2000; CZERNY; MAYER; GROSCH, 1999; GROSCH, 2001; GROSCH et al., 2000; MAYER; GROSCH, 2001; SEMMELROCH et al., 1995; SEMMELROCH; GROSCH, 1996).

Através da técnica de CG, compostos voláteis marcadores do envelhecimento dos grãos de café foram identificados. Aldeídos formados a partir da oxidação de lipídios, como o hexanal, (Z)-2-nonenal, (E)-2-nonenal, (E,Z)-2,6-nonadienal, (E,E)-2,4-nonadienal e os isômeros do 2,4-decadial, foram relacionados com sabor e aroma de café velho (DART; NURSTEN, 1985; PARLIMENT; CLINTON; SCARPELLINO, 1973). Os enantiômeros de linalol e o acetaldeído trans-2-nonenal são outros compostos oriundos da oxidação lipídica, que também impactam no sabor e aroma do café (BONNLÄNDER et al., 2006). O trans-2-nonenal é considerado um indicador de café velho, pois confere nota sensorial desagradável de papelão e madeira à bebida (BONNLÄNDER et al., 2006; BONNLÄNDER; COLOMBAN; LONZARICH, 2005; PARLIMENT; CLINTON; SCARPELLINO, 1973). Esse composto também já foi associado ao sabor desagradável de papelão em cerveja velha (SCHERER et al., 2010; SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

Uma vez identificado esses compostos voláteis no café torrado, já houve a depreciação de bebida. Uma informação inovadora seria identificar o período que os compostos indicadores do envelhecimento dos grãos crus são formados em embalagens com diferentes níveis de proteção aos grãos. Essa informação contribuiria com o controle e gestão da indústria de café devido a possibilidade de destinar lotes de café para o mercado antes de depreciar a qualidade sensorial. Por isso, a proposta com este trabalho é determinar o período de armazenamento em que ocorre alterações nos compostos voláteis do café torrado indicadores do envelhecimento dos grãos crus de café especial natural e cereja descascado acondicionado em embalagem com alta barreira e permeável.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Os grãos crus de café natural e descascado especial (*Coffee arábica* L.) provenientes de um lote comercial, beneficiado, selecionado e caracterizado quanto à bebida por Juízes Certificados pela Associação Cafés Especiais (SCA), com nota de 84 pontos para o lote de café natural e 86 pontos para o lote de café cereja descascado.

O café foi acondicionado em três embalagens e armazenado por um período de 18 meses no armazém comercial da empresa Bourbon Specialty Coffees S/A, na cidade de Poços de Caldas, MG. As análises sensoriais e cromatográficas foram realizadas nos grãos em seis períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 e 18 meses).

### **2.1 Embalagens**

Foram utilizadas duas embalagens, com capacidade de 30 kg, para acondicionar os grãos crus de café: (P) embalagem de papel sem barreira e (PAB) embalagem de papel com alta barreira. As embalagens foram fornecidas pela empresa Klabin®.

A embalagem de papel sem barreira foi utilizada por possuir permeabilidade à gases e vapor de água similar à sacaria de juta, embalagem mais utilizada no armazenamento de café cru. A embalagem de papel com alta barreira se refere a impermeabilidade à gases e vapor d'água e representa a técnica de atmosfera modificada. Neste artigo (Artigo 3) a embalagem a vácuo não foi utilizada, pois nos dois artigos anteriores desta Tese os grãos crus de café acondicionados a vácuo apresentaram comportamento químico similar aos grãos crus acondicionados na embalagem com alta barreira.

### **2.2 Implantação do experimento**

As embalagens foram armazenadas em condição ambiente. As amostragens para as avaliações foram realizadas no início do armazenamento e após 3, 6, 12 e 18 meses. A quantidade amostrada para a realização de todas as análises foi de aproximadamente 500 g de grãos em cada embalagem.

### **2.3 Delineamento experimental**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x2x6, correspondendo a dois processamentos do café (natural e cereja descascado), duas embalagens (P e PAB), seis períodos de armazenamento (0, 3, 6, 9, 12 e 18 meses) com três repetições. Totalizando 72 amostras.

### **2.4 Análises**

#### **2.5 Análise sensorial**

A análise sensorial foi realizada por Juízes Certificados pela SCA com a utilização do protocolo da Associação de Cafés Especiais (SCA), de acordo com a metodologia proposta por Lingle (2011), para avaliação sensorial de cafés especiais. Para padronizar a torra, evitando que esta influencie a avaliação dos juízes, armazenou-se um padrão de torra da primeira época que era recorrido durante a torra em cada época de avaliação. Todas as amostras foram torradas com antecedência mínima de 12 horas à degustação. Os resultados finais da avaliação sensorial foram constituídos pela soma de todos os atributos.

Um dos desafios com a análise sensorial de amostras de café cru estocadas por longos períodos é fixar uma referência sensorial confiável da amostra original. Assim, em cada período de avaliação do armazenamento, amostras torradas dos melhores cafés de cada processamento foram acondicionadas em tubos tipo falcon e armazenadas em *deepfreezer* (-80 °C). Essas amostras foram usadas na calibração dos degustadores no momento das avaliações seguintes permitindo a eles o resgate das referências sensoriais do período anterior de armazenamento. Todas seções de análise sensorial foram realizadas pelo mesmo grupo de degustadores durante 18 meses.

#### **2.6 Cromatografia gasosa**

As análises cromatográficas foram realizadas após o término da condução do experimento. Nesse momento, só havia disponíveis grãos crus de cada amostra armazenadas no *deepfreezer* (-80 °C). Por isso, foi necessário realizar novamente a torra dos grãos para conduzir as determinações cromatográficas.

Oito grãos crus de café de cada amostra foram colocados em *vials* e submetidos a torra em estufa de circulação forçada (modelo Nova Ética N480) à 200 °C por 20 minutos para as amostras de café natural e 19 minutos para as amostras de café cereja descascado (metodologia adaptada de Craig et al., 2015). O tempo de permanência na estufa foi determinado após testes em que a coloração dos grãos torrados e moídos apresentava a mesma coloração do padrão para a degustação (LINGLE, 2011).

As amostras torradas foram maceradas em almofariz de porcelana adicionando-se nitrogênio líquido para facilitar a moagem e evitar oxidações. As partículas das amostras apresentavam diâmetros entre 1 e 0,125 mm. Após a moagem, 1 grama de cada amostra foi colocado em *vials* hermeticamente fechados.

Os compostos voláteis foram extraídos utilizando o *headspace* estático do equipamento GC-MS modelo QP - 2010 SE (Shimadzu) equipado com uma coluna NST- 100 (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) com fase de polietilenoglicol similar a Carbowax®. Os *vials* contendo as amostras foram colocados no equipamento e após o equilíbrio a 70°C durante 30 min, a fase volátil foi injetada no cromatógrafo gasoso (GC) com posterior detecção utilizando espectrômetro de massa (MS).

A temperatura do injetor foi ajustada a 220 °C, e o gás hélio, utilizado como transportador, foi mantido a uma taxa de fluxo de 1 ml / min de velocidade linear. Após testes para determinação da melhor separação, a melhor programação de aquecimento foi: durante 6 min a temperatura do forno foi mantida a 25 °C, logo após a temperatura foi aquecida até 70 °C com a taxa de 10°C / min, até 95°C a 5°C / min, até 115°C a 10°C / min, até 170 °C a 5°C / min e finalmente, até 215 °C a 40°C / min. O tempo total da corrida foi de 35 minutos.

## **2.7 Identificação dos compostos voláteis**

Após a separação por cromatografia gasosa, os compostos voláteis foram identificados por um detector de massas acoplado ao CG. A identificação dos compostos foi baseada nos espectros obtidos na espectrometria de massas com ionização por elétrons a 70 eV de 50 a 350 *m/z* e comparados com os dados da biblioteca de espectros de massa NIST/2014.



## 2.8 Ferramentas estatísticas e quimiométricas

Os dados obtidos na análise sensorial foram submetidos à análise de regressão com auxílio do Software Sisvar® (FERREIRA, 2011). Já os dados obtidos com a cromatografia gasosa foram analisados por meio de técnicas de estatística multivariada.

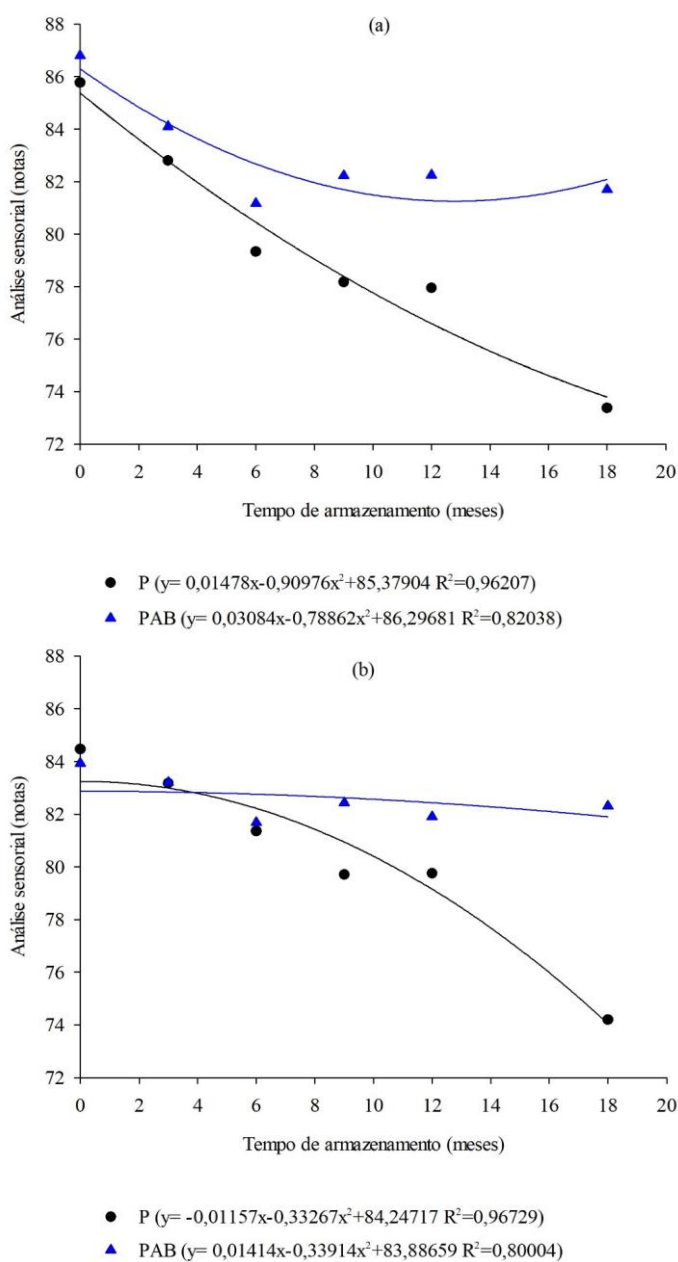
A área relativa do pico de cada composto volátil foi o conjunto de dados estudados. Inicialmente os dados foram centrados na média e em seguida submetidos a análise exploratória por meio da análise de componentes principais (PCA). Depois, o modelo supervisionado foi obtido para classificar os grãos crus de café com relação ao tipo de processamento (natural e cereja descascado) através da análise supervisionada com o uso da análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA). O pré-tratamento e as análises quimiométricas dos dados foram realizados utilizando-se o programa Chemoface versão 1.4 (NUNES et al., 2012).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Análise sensorial

Os resultados da análise sensorial do café natural e cereja descascado são apresentados na Figura 1.

Figura 1 - Valores médios da nota final da análise sensorial dos grãos de café (a) natural e (b) cereja descascado acondicionados na embalagem papel (●) e alta barreira (▲) por 18 meses.



Fonte: Da autora (2018).

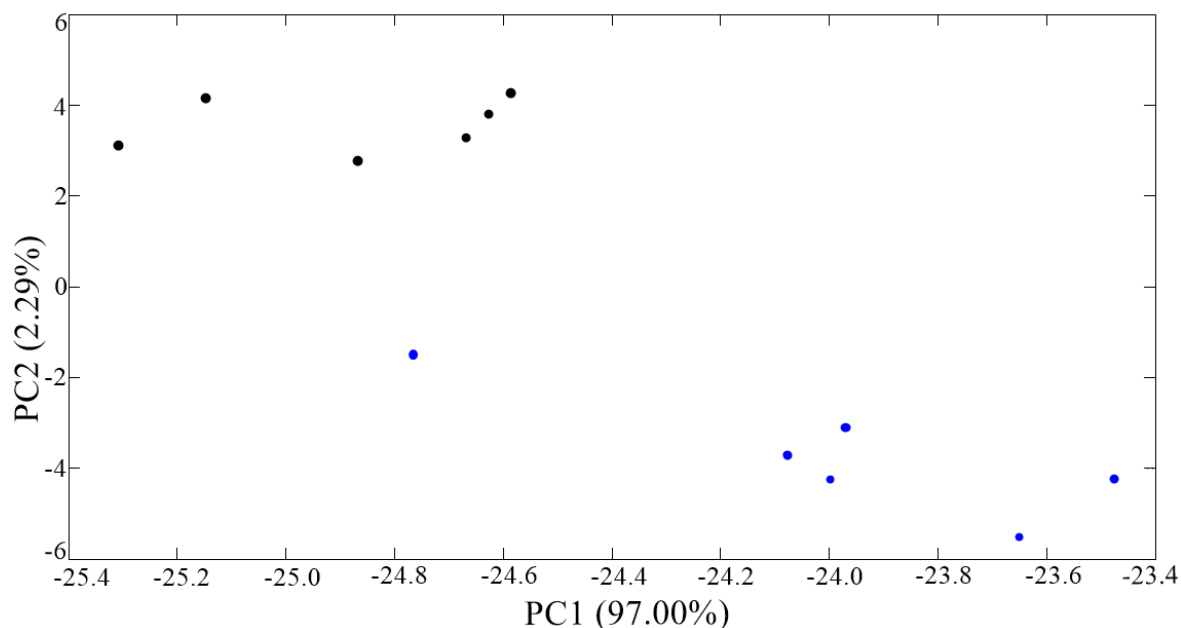
Os lotes de café natural e cereja descascado foram classificados como especiais de excelente qualidade no início do armazenamento (tempo 0). Observa-se redução da qualidade do café natural e cereja descascado durante o armazenamento independente da embalagem utilizada. No entanto, a taxa de redução da qualidade do lote de café acondicionado na embalagem de papel é maior, tanto para o café natural quanto para o café descascado. Esse resultado é coerente com os de outros trabalhos (BORÉM et al., 2008, 2013; NOBRE et al., 2007; RIBEIRO et al., 2011).

O café natural acondicionado em sacos de papel apresentou nota inferior a 80 pontos aos 6 meses, perdendo sua classificação como café especial. Já o café cereja descascado, acondicionado em sacos de papel (P) apresentou nota inferior a 80 pontos aos 12 meses, não sendo mais considerado especial. Após 18 meses de armazenamento grãos de café natural e cereja descascado acondicionados nas embalagens de papel com alta barreira (PAB) apresentaram melhor conservação da qualidade sensorial, mantendo-se com notas acima de 80 pontos.

### **3.2 Compostos voláteis**

Inicialmente, apenas as variáveis químicas das amostras de café cereja descascado e natural no início do armazenamento foram submetidas a análise exploratória por meio da PCA com o objetivo de identificar modificações relacionadas apenas ao processamento do café, sem a influência das alterações durante o armazenamento.

Figura 2 - Gráfico dos escores do modelo da PCA para as amostras de café natural (●) e cereja descascado (●).



Fonte: Da autora (2018).

A análise de componentes principais permitiu a separação das amostras de acordo com o processamento (via seca e via úmida). Inúmeros estudos já investigaram as diferenças entre a composição química do café natural e descascado e verificaram que diferenças no metabolismo dos grãos estão relacionados ao processo germinativo é a base para a explicação (BYTOF et al., 2007; JOËT et al., 2010; KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006; SELMAR et al., 2006; SELMAR; KLEINWÄCHTER; BYTOF, 2014). Ao remover o exocarpo dos grãos e parte do mesocarpo, são removidas substâncias inibidoras da germinação, desencadeando o processo germinativo durante o processamento do café (BYTOF et al., 2007; SELMAR et al., 2006). A germinação é marcada pela maior expressão da enzima isocitratolase (ICL), relacionada ao metabolismo da germinação, e aumento na quantidade de  $\beta$ -tubulina, marcador para a divisão ou alongamento celular, após a remoção de partes do frutos grãos para o processados via úmida (BYTOF et al., 2007; SELMAR et al., 2006).

Este fenômeno implica em consumo das substâncias de reserva em grãos de café processados por via úmida para iniciar o processo de germinação. As substâncias de reservas presentes no endosperma dos grãos de café representam os precursores do sabor e aroma que se formarão no café torrado, influenciando diretamente a qualidade de bebida. Dessa maneira, acredita-se que diferenças sensoriais entre cafés naturais e despulpados pode ser explicada pelo fato de que nos cafés despulpados parte dos açúcares foi consumida no processo de

germinação (BYTOF et al., 2007; SELMAR et al., 2006). Contudo, são necessários mais estudos científicos para elucidar os mecanismos relacionados a germinação durante o processamento do café e seu impacto sobre a qualidade sensorial.

Os açúcares são precursores de uma série de compostos voláteis após a torra do café (ARRUDA et al., 2011, 2012, GONZALEZ-RIOS et al., 2007a, 2007b; RIBEIRO et al., 2016; YERETZIAN et al., 2002). Durante a torra, a sacarose e açúcares redutores reagem com aminoácidos livres e grupos de aminas na reação de Maillard e formam diversos compostos voláteis.

Tabela 1 - Área relativa dos compostos voláteis do café natural e cereja descascado no início do armazenamento.

(Continua)

Compostos voláteis	Processamento	
	Natural	CD
1 acetiloxi 2 propanona	2.7982	2.6262
1 hidroxil 2 butanona	0.5240	0.7706
1 hidroxil 2 propanona	8.0017	12.1741
1 metil pirrol	0.9702	0.7052
1 metil pirrol carbaldeído	0.2324	0.1355
1-(2-furanil) etanona	1.0313	1.1815
2-(metoxi metil) furano	0.1684	0.1302
2,3-Butanodiona	3.5123	4.0830
2,3-dimetil pirazina	0.2411	0.1989
2,3-Pentanodiona	5.0324	6.0770
2,5-dimetil furano	0.5178	0.4338
2,5-dimetil pirazina	1.9916	2.1553
2,5-Furandione, dihydro-3-methylene-	0.1931	0.1849
2,6-dimetil pirazina	1.7529	1.8229
2-Butanona	3.1658	3.3559
2-etil-6-metil- pirazina	0.4139	0.5477
2-Furanmetanol	11.2029	11.6750
2-metil butanal	7.8912	7.3220
2-metil furano	6.6732	6.9048
2-metil tetrahidro 3-furanona	4.1692	4.5517
3 metil butanol	0.1766	0.0000
3,4-hexanodiona	0.1194	0.1140
3-metil 3 butanol	0.1091	0.0488
3-metil butanal	4.8558	4.7999
3-metil fenol	0.2429	0.2743
4-etil 2,2-dimetilhexano	0.0000	0.3104
5-metil 2-furancarboxaldeido	2.3381	2.6232
Acetato de 2 furanmetanol	1.2659	1.4855

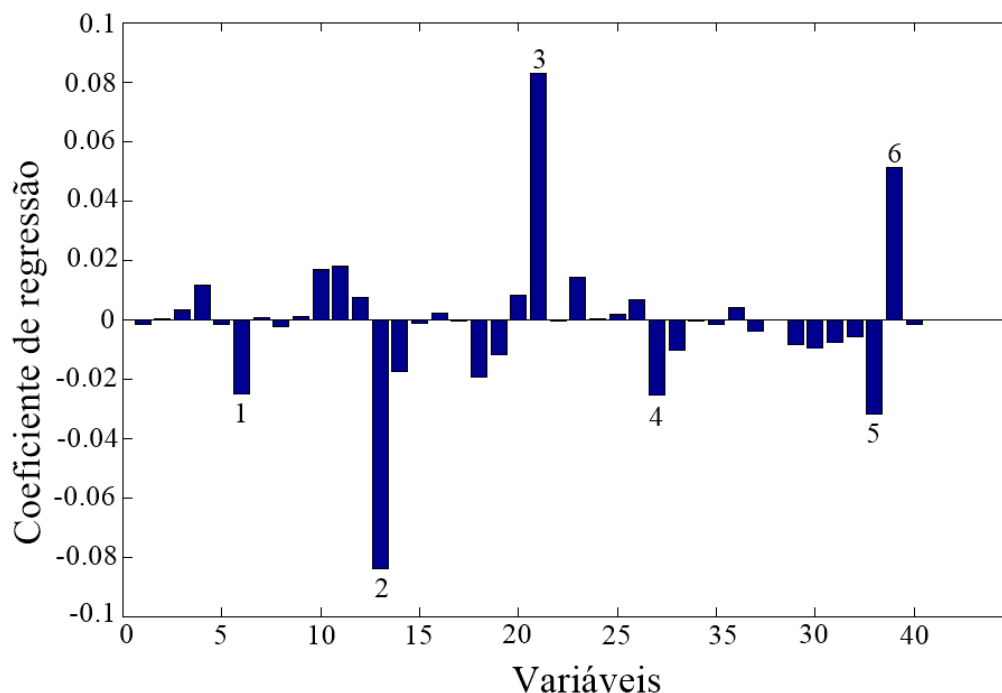
Tabela 1 - Área relativa dos compostos voláteis do café natural e cereja descascado no início do armazenamento.

(Conclusão)

Compostos voláteis	Processamento	
	Natural	CD
Acetato de etil	0.7066	0.0000
Acetoína	1.9532	2.0958
Etanol	5.0649	0.5538
Etil pirazina	0.9321	0.9973
Furfural	4.3478	6.3716
Gama-butirolactona	0.5650	0.3418
Metil pirazina	4.7827	4.7912
Metoxi metil oxirano	0.2787	0.3188
Pirazina	0.6180	0.5850
Piridina	9.8450	6.2831
Pirrole	0.3857	0.2929
Propionato de vinila	0.2502	0.1334

De acordo com a Tabela 1 o composto Hexane, 4-ethyl-2,2-dimethyl-não foi identificado nas amostras de natural e os compostos 3-metil-1-butanole acetato de etil não foram identificados nas amostras de cereja descascado. Para confirmar se esses compostos são importantes na discriminação das amostras de acordo com o processamento, realizou-se o modelo supervisionado por meio da PLS-DA (FIGURA 3). As amostras de café natural foram identificadas como classe 1 e as amostras de café cereja descascado, classe 2. Nesse gráfico, os elementos com as barras mais longas têm os maiores coeficientes de regressão e maior impacto na separação das amostras de café natural e cereja descascado. Os elementos acima da linha central são positivamente relacionados com as amostras de café natural, enquanto os elementos abaixo da linha central estão positivamente relacionados com as amostras de cereja descascado.

Figura 3 - Resultado do modelo do PLS-DA para as amostras de café natural e cereja descascado.



Legenda: 1, 2,3 pentanodiona; 2, 1-hidroxi 2-propanona; 3, etanol; 4, furfural; 5, 2-metilpirazina e 6, piridina.

Fonte: Da autora (2018).

As amostras de café natural apresentaram alta correlação com os compostos; etanol e piridina, enquanto as amostras de café cereja descascado apresentaram alta correlação com os compostos 2,3 pentanodiona; 1-hidroxi 2-propanona; furfural e 2-metilpirazina.

O etanol no café torrado é um dos produtos secundários da degradação oxidativa de lipídios (MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000). Já as piridinas podem ser formadas a partir da degradação térmica da trigonelina, pirólise de aminoácidos, degradação de Strecker ou na reação de Maillard (FLAMENT, 2002).

Os compostos 2,3 pentanodiona e 1-hidroxi 2-propanona são cetonas. As cetonas podem ser provenientes da pirólise de carboidratos e reações de Maillard (CLARK; MACRAE, 1985). A 2,3 pentanodiona já foi associada com o aroma de manteiga e 1-hidroxi 2-propanona, com o aroma de nozes (CANTERGIANI et al., 2001). Outro composto formado a partir de reações que ocorrem durante a torra é a 2-metilpirazina, uma pirazina. As pirazinas são formadas após a degradação térmica e podem ser geradas pela reação de Maillard, degradação de Strecker ou pirólise de hidroxiaminoácidos (FLAMENT, 2002). Esse composto já foi associado com o aroma de café torrado (CANTERGIANI et al., 2001). O furfural é um aldeído heterocíclico e aromático formado através da degradação de açúcares e

aminoácidos pela reação de Maillard durante a torra, este composto já foi relacionado com o aroma de amêndoas (NAKAMA et al., 1993).

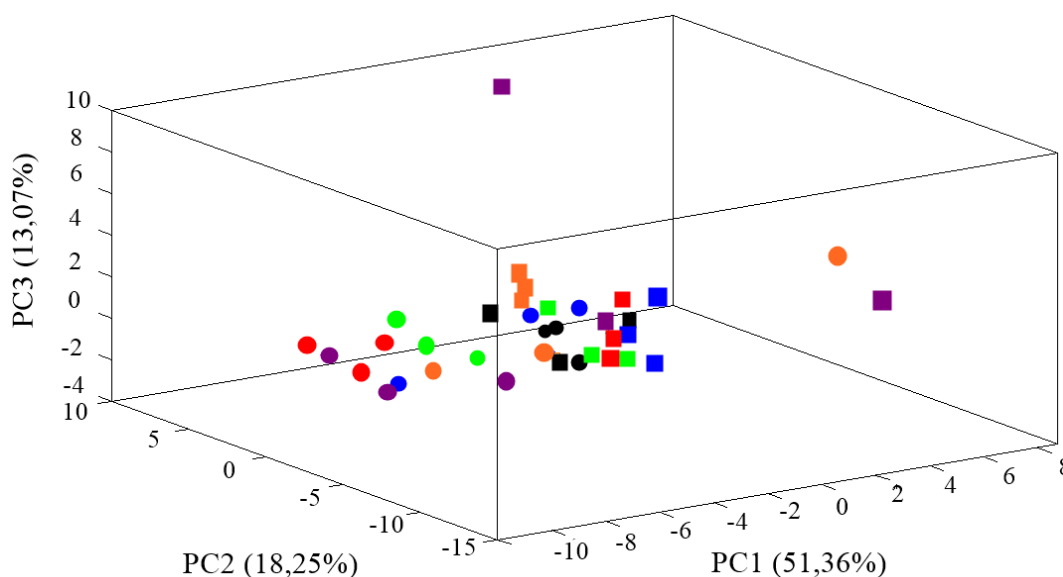
Obseva-se que todos os compostos altamente relacionando com o café cereja descascado são relacionados com mecanismos de degradação de açúcares durante a torra. Resultados similares já foram constatado em outro estudo que verificaram que os compostos derivados da torração mais correlacionados aos cafés cereja descascado (ARRUDA et al., 2011).

Depois de verificada a diferença entre os processamentos do café, analisou-se separadamente o comportamento dos compostos voláteis no café natural e cereja descascado durante o armazenamento.

### 3.3 Café natural

Na análise de compostos voláteis foram encontrados 41 compostos voláteis nas amostras de café natural. A Figura 4 é uma projeção dos resultados obtidos na análise dos componentes principais (PCA), referente à distribuição da embalagem/tempo de armazenamento, em função da área relativa dos compostos voláteis.

Figura 4 - Gráfico de escores do modelo da PCA das amostras de café natural acondicionado na embalagem de papel (círculo) e alta barreira (quadrado).



Legenda: Início do armazenamento (preto), 3 meses (azul), 6 meses (verde), 9 meses (vermelho), 12 meses (laranja) e 18 meses (roxo).

Fonte: Da autora (2018).

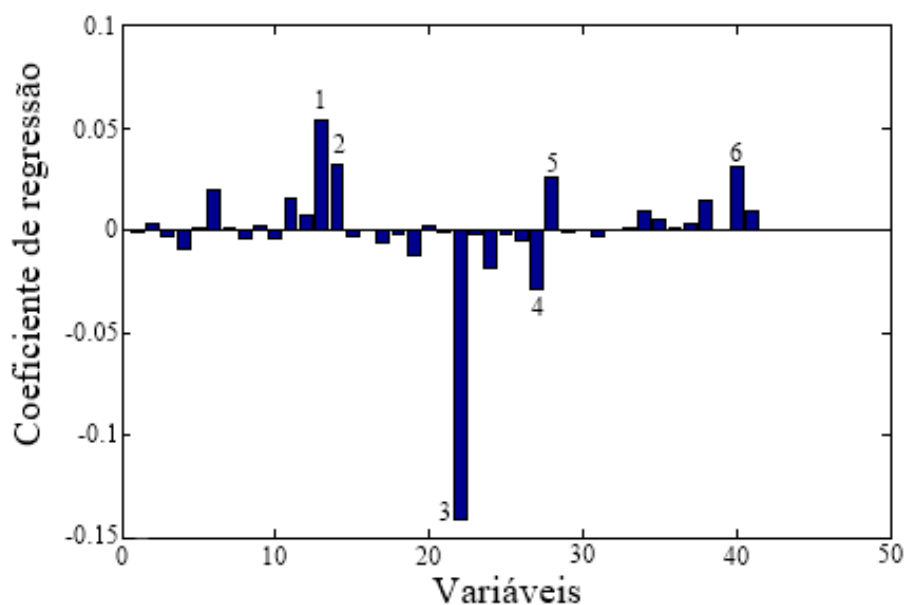


De acordo com o gráfico dos escores, observa-se que as amostras de café no início do armazenamento estão próximas, indicando que o lote de café apresentava características químicas similares. A partir de 3 meses de armazenamento, as amostras de café acondicionadas na embalagem de papel se distanciaram das amostras no início do armazenamento (tempo 0), formando um novo grupo e indicando maiores transformações químicas nessas amostras. Os resultados obtidos comprovam que a partir de 3 meses de armazenamento ocorrem alterações no café cru acondicionado na embalagem de papel constatadas por meio da análise dos compostos voláteis do café torrado. As alterações nos compostos voláteis detectadas aos 3 meses no café torrado, comprometerão a qualidade sensorial do café aos 6 meses de armazenamento (FIGURA 1a).

Com relação as amostras acondicionadas na embalagem com alta barreira, observa-se proximidade das amostras em todos os períodos de armazenamento. Entretanto, a partir de 12 meses de armazenamento as amostras possuem uma leve tendência de se separar das demais. Apesar de não ter sido constatada alteração sensorial suficiente para desclassificar o café como especial (FIGURA 1a), provavelmente a partir de 12 meses de armazenamento iniciam-se alterações no café cru acondicionado em alta barreira que só serão perceptíveis sensorialmente após 18 meses de armazenamento. Como o estudo foi realizado até os 18 meses, não é possível afirmar com segurança.

Para identificar os principais compostos voláteis responsáveis pela separação das amostras acondicionadas em papel a partir de 3 meses de armazenamento realizou-se a análise supervisionada com o uso da PLS-DA (FIGURA 5). Nesse gráfico, os elementos com as barras mais longas têm os maiores coeficientes de regressão e maior impacto na separação das amostras de café natural a partir de 3 meses de armazenamento das demais amostras. Os elementos acima da linha central são positivamente relacionados com as amostras de café natural a partir de 3 meses de armazenamento, enquanto os elementos abaixo da linha central estão positivamente relacionados com as amostras no início do armazenamento (tempo 0) e acondicionadas na embalagem de alta barreira.

Figura 5 - Resultado do modelo do PLS-DA para amostras de café natural acondicionadas na embalagem de papel a partir de 3 meses.



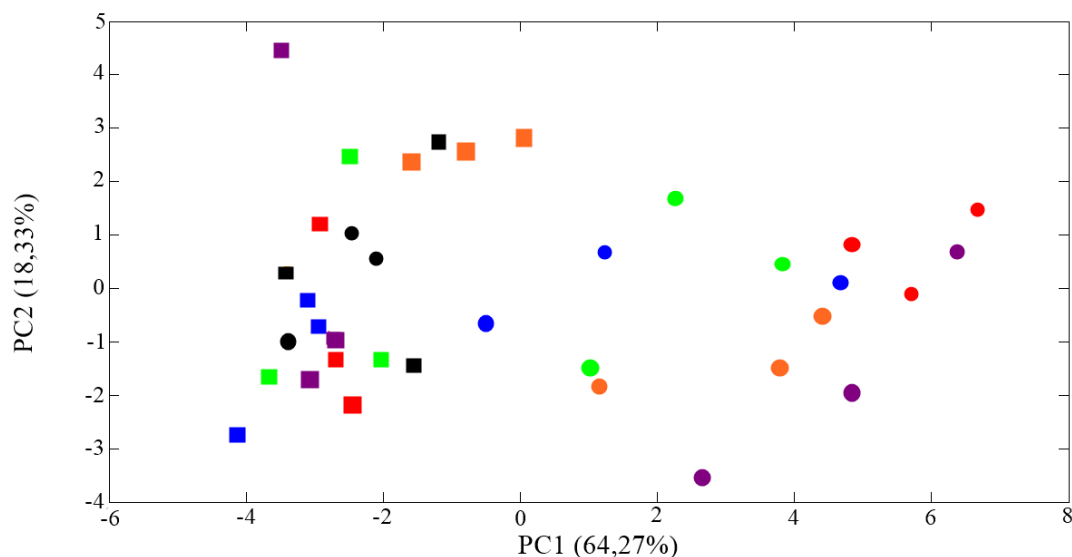
Legenda: 1, 1-hidroxi-2-propanona; 2, 2-metil tetrahydro-3-furanona; 3, etanol, 4, 2-metil furano; 5, furfural e 6, piridina.

Fonte: Da autora (2018).

Os compostos 1-hidroxi-2-propanona; 2-metil tetrahydro-3-furanona; furfural e piridina apresentam alta correlação com as amostras de café acondicionadas nas embalagens de papel a partir dos 3 meses de armazenamento, quando comparada com as demais amostras. Já o etanol e 2-metilfurano estão relacionados com as amostras no início do armazenamento (tempo 0) e acondicionadas na embalagem de alta barreira durante o período de armazenamento.

A partir dessa informação, foi elaborado uma nova PCA com as seis variáveis (FIGURA 6).

Figura 6 - Gráfico de escores do modelo da PCA dos seis principais compostos voláteis responsáveis pela separação das amostras de café natural acondicionado na embalagem de papel (círculo) e alta barreira (quadrado).



Legenda: Início do armazenamento (preto), 3 meses (azul), 6 meses (verde), 9 meses (vermelho), 12 meses (laranja) e 18 meses (roxo).

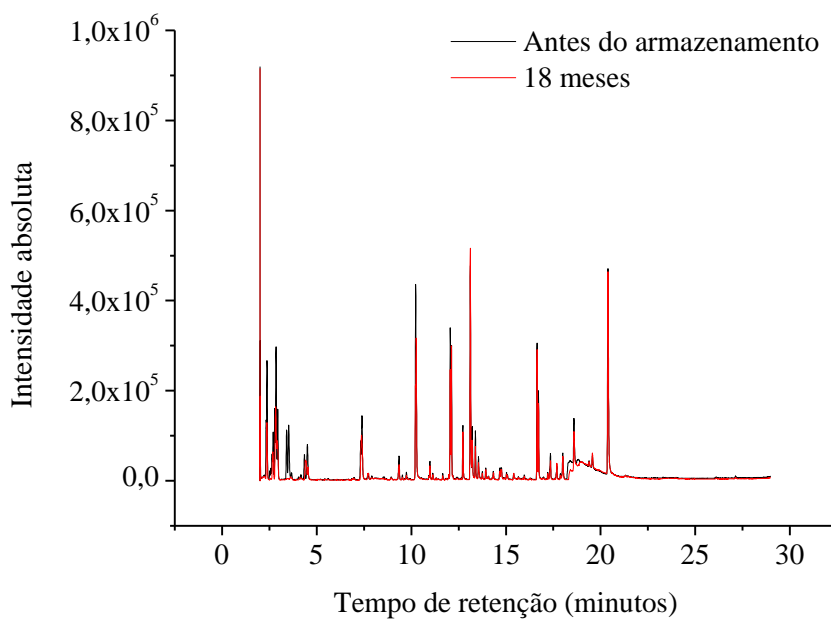
Fonte: Da autora (2018).

Com esse novo modelo, enfatiza-se que a cromatografia gasosa dos compostos voláteis no café natural torrado detectou alterações químicas que ocorrem nos grãos crus acondicionado em embalagem de papel aos 3 meses. De acordo com a análise sensorial, aos 3 meses de armazenamento os degustadores já começam a detectar redução da qualidade sensorial, sendo que aos 6 meses as alterações são tão evidentes que o café não é mais considerado como especial (FIGURA 1a). Assim, pode-se inferir que os compostos 1-hidroxi 2-propanona; 2-metil tetrahidro 3-furanona; furfural e piridina no café torrado são indicadores das alterações nos grãos crus armazenados que comprometerão a qualidade sensorial do café natural aos 6 meses, para as condições desse experimento.

A maioria dos trabalhos descritos na literatura com análises de cromatografia gasosa em amostras de café torrado, utiliza técnica de concentração de amostra (ARRUDA et al., 2011; GLOESS et al., 2014; GONZALEZ-RIOS et al., 2007b; POYRAZ et al., 2016; SOMPORN et al., 2011). O equipamento utilizado neste trabalho é um *headspace* estático Shimatzu® e não utiliza método para concentrar os voláteis da amostra. Sendo assim por diferir da maioria dos relatos da literatura, que usam métodos de concentração de amostras como a fibra de SPME (fibras de micro-extração em fase sólida), os compostos identificados se distinguem dos voláteis tradicionalmente já relatados indicadores do envelhecimento do café.

Na Figura 7 é apresentado o cromatogramas médio dos compostos voláteis do café natural no início e após 18 meses de armazenamento.

Figura 7 - Cromatograma médio dos compostos voláteis do café natural antes (preto) e aos 18 meses de armazenamento (vermelho).



Fonte: Da autora (2018).

Os cromatogramas obtidos apresentaram picos muito semelhantes, sendo possível a diferenciação entre eles somente com auxílio de ferramentas quimiométricas. Na Tabela 2 é apresentada a área relativa dos compostos voláteis identificados no café torrado referente aos grãos de café natural no início do armazenamento e aos 18 meses.

Tabela 2 - Área relativa dos compostos voláteis do café natural no início do armazenamento e aos 18 meses.

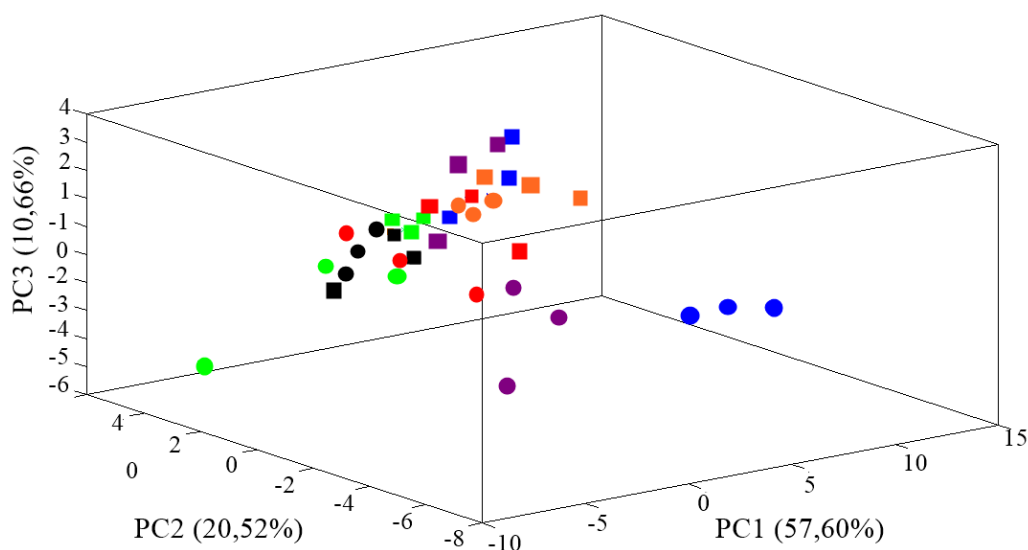
Compostos voláteis	Tempo de armazenamento (meses)	
	0	18
1 hidroxí 2-butanona	0.4613	0.2870
1 metil pirrol	1.0006	1.0901
1 metil pirrol carbaldeído	0.2357	0.0848
1-(2-furanil) etanona	1.0362	0.9577
1-acetiloxi 2-propanona	2.8155	3.3521
1-hidroxí 2-propanona	8.3842	11.9997
2,3-butanodiona	3.4542	3.2301
2,3-dimetil pirazina	0.2349	0.2494
2,3-pentanodiona	4.8966	5.2002
2,5-dimetil furano	0.5407	0.1589
2,5-dimetil pirazina	2.0354	2.1542
2,6-dimetil pirazina	1.7803	1.6633
2-Butanona	3.0688	2.3608
2-etil-6-metil pirazina	0.4087	0.3607
2-metil butanal	7.7339	6.3346
2-metil furano	6.5012	3.8066
2,5-Furandione, dihydro-3-methylene-	0.1926	0.2263
2-metil tetrahidro 3-furanona	4.1135	5.5983
3,4-Hexanodiona	0.1391	0.0000
3-metil butanal	4.6963	3.5661
3-metil fenol	0.2445	0.2515
3-metil-1-butanol	0.1853	0.2305
5-metil 2-furancarboxaldeído	2.2279	2.3336
Acetato de álcool furfúrico	1.2588	1.2451
Acetato de etila	0.7422	0.0000
Acetoína	1.9858	2.3256
Álcool furfúrico	11.1738	14.5692
Etanol	5.6047	0.0000
Etil pirazina	0.9608	1.0095
Furfural	4.2964	5.6093
Furfuril metil éter	0.1671	0.1096
Gama-butirolactona	0.5660	0.9551
Isoprenol	0.1048	0.1523
Metil pirazina	4.8301	4.7905
Metoxi metil oxirano	0.2737	0.2798
Pirazina	0.6358	0.6125
Piridina	10.1219	11.9016
Pirrole	0.4632	0.8202
Propionato de vinila	0.2627	0.0000
Trimetil pirazina	0.1652	0.1234

Fonte: Da autora (2018).

### 3.4 Cereja Descascado

Foram encontrados 39 compostos voláteis nas amostras de café cereja descascado. A Figura 8 é uma projeção dos resultados obtidos na análise dos componentes principais (PCA), referente à distribuição dos processamentos/embalagem, em função da área relativa dos compostos voláteis.

Figura 8 - Gráfico de escores do modelo da PCA das amostras de café cereja descascado acondicionado na embalagem de papel (círculo) e alta barreira (quadrado).



Legenda: Início do armazenamento (preto), 3 meses (azul), 6 meses (verde), 9 meses (vermelho), 12 meses (laranja) e 18 meses (roxo).

Fonte: Da autora (2018).

Com relação ao café cereja descascado, não observou-se clara separação das amostras acondicionadas em diferentes embalagens durante o armazenamento por meio da análise dos compostos voláteis. O café cereja descascado possui diferenças químicas quando comparado com os cafés naturais. Por isso, são esperadas diferenças no comportamento dos grãos durante o período de armazenamento. Estudos já constataram comportamento distinto, sendo que os cafés naturais apresentaram maior redução da qualidade sensorial, fisiológica e bioquímica durante o armazenamento (ABREU, 2015; CORADI et al., 2007; SAATH et al., 2012, 2014). Também já foi relatada maior sensibilidade do café natural na secagem (MOREIRA; TRUGO; MARIA, 2000; SAATH et al., 2012, 2014; TAVEIRA et al., 2012). Assim, pode-se inferir com os resultados obtidos com este estudo que os grãos crus de café cereja descascado são mais resistentes às alterações decorrentes do armazenamento quando comparado com o café natural, não apresentando clara modificação nos compostos voláteis no café torrado.

## 4 CONCLUSÃO

Para as condições realizadas neste experimento, pode-se concluir que:

- a) A análise de compostos voláteis dos grãos torrados foi eficiente em identificar alterações químicas nos grãos crus de café natural armazenados em diferentes embalagens.
- b) A embalagem de papel permite maiores transformações químicas dos compostos voláteis nos grãos crus de café natural detectadas a partir do 3º mês de armazenamento e os compostos mais associados às alterações são 1-hidroxi 2-propanona; 2-metil tetrahidro 3-furanona; furfural e piridina.
- c) Café natural especial é mais sensível às transformações químicas relacionadas ao armazenamento, quando comparado com café cereja descascado especial.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, FAPEMIG, CNPq e INCT-CAFÉ pelos auxílios financeiros e às empresas Bourbon Specialty Coffee e Carmo Coffees pelo fornecimento da matéria-prima. Os autores agradecem também à BSCA, à Apex-Brasil, à Videplast e à Klabin pelo apoio ao projeto.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, G. F. **Aspectos sensoriais, fisiológicos e bioquímicos de grãos de café refrigerado**. 2015. 157 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.
- ANDRADE, F. T. **Qualidade do café natural especial acondicionado em embalagens impermeáveis e armazenado no Brasil e no exterior**. 2017. 108 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- ARRUDA, N. P. et al. Arabica coffee discrimination between maturation stages and post-harvesting processing types, using solid phase microextraction coupled to gas chromatography and principal components analysis. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 819-824, 2011.
- ARRUDA, N. P. et al. Correlação entre precursores e voláteis em café arábica brasileiro processado pelas vias seca, semiúmida e úmida e discriminação através da análise por componentes principais. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2044-2051, 2012.
- BERTRAND, B. et al. Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2575-2583, 2012.
- BLANK, I.; SEN, A.; GROSCH, W. Potent odorants of the roasted powder and brew of Arabica coffee. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, v. 195, n. 3, p. 239-245, 1992.
- BONNLÄNDER, B. et al. Analysis of enantiomeric linalool ratio in green and roasted coffee. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 21, n. 4, p. 637-641, 2006.
- BONNLÄNDER, B.; COLOMBAN, S.; LONZARICH, V. **Lipidomics and the Influence on Quality of Coffee**. ASIC 21st International Conference on Coffee Science. **Anais...Trieste: 2005**
- BORÉM, F. M. et al. Avaliação sensorial do café cereja descascado, armazenado sob atmosfera artificial e convencional. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 6, p. 1724-1729, 2008.
- BORÉM, F. M. et al. Evaluation of the sensory and color quality of coffee beans stored in hermetic packaging. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, p. 1-6, 2013.
- BYTOF, G. et al. Transient occurrence of seed germination processes during coffee post-harvest treatment. **Annals of Botany**, v. 100, n. 1, p. 61-66, 2007.
- CANTERGIANI, E. et al. Characterisation of the aroma of green Mexican coffee and identification of mouldy/earthy defect. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 6, p. 648-657, 2001.
- CHEONG, M. W. et al. Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 388-396, 2013.



CLARK, R. J.; MACRAE, R. **Coffee Chemistry**. [s.l.] Elsevier Applied Science, 1985.

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

CZERNY, M.; GROSCH, W. Potent odorants of raw Arabica coffee. Their changes during roasting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 868-872, 2000.

CZERNY, M.; MAYER, F.; GROSCH, W. Sensory study on the character impact odorants of roasted Arabica coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 695-699, 1999.

DART, S. K.; NURSTEN, H. E. Volatile components of coffee aroma. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Eds.). **Coffee Chemistry**. 1. ed. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1985. v. 1p. 223-265.

DULSAT-SERRA, N.; QUINTANILLA-CASAS, B.; VICHI, S. Volatile thiols in coffee: A review on their formation, degradation, assessment and influence on coffee sensory quality. **Food Research International**, v. 89, p. 982-988, 2016.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FLAMENT, I. **Coffee Flavor Chemistry**. 1. ed. [s.l.] Wiley, 2002.

GLOESS, A. N. et al. Evidence of different flavour formation dynamics by roasting coffee from different origins: On-line analysis with PTR-ToF-MS. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 365-366, p. 324-337, 2014.

GONZALEZ-RIOS, O. et al. Impact of “ecological” post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3-4, p. 289-296, 2007a.

GONZALEZ-RIOS, O. et al. Impact of “ecological” post-harvest processing on coffee aroma: II. Roasted coffee. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3-4, p. 297-307, 2007b.

GROSCH, W. et al. Sensory studies on the key odorants of roasted coffee. **Caffeinated Beverages (ACS 754)**, v. 754, p. 202-209, 2000.

GROSCH, W. Chemistry III : Volatile Compounds. In: **Coffee Recent Developments**. [s.l.: s.n.]. p. 68-89.

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

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

KNYSAK, D. Volatile compounds profiles in unroasted *Coffea arabica* and *Coffea canephora* beans from different countries. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 444-448, 2017.

LINGLE, T. R. **The Coffee Cupper's Handbook: Systematic Guide to the Sensory Evaluation of Coffee's Flavor**. 4, revisad. ed. [s.l: s.n.].

MAYER, F.; GROSCH, W. Aroma simulation on the basis of the odourant composition of roasted coffee headspace. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 16, n. 3, p. 180-190, 2001.

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; MARIA, C. A. B. DE. Componentes voláteis do café torrado. Parte II. Compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 195-203, 2000.

NAKAMA, A. et al. **Formation of furfural derivatives in amino-carbonyl reaction** *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 1993.

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

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

PARLIMENT, T. H.; CLINTON, W.; SCARPELLINO, R. Trans-2-Nonenal: Coffee Compound with Novel Organoleptic Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 485-487, 1973.

PICCINO, S. et al. Aromatic composition and potent odorants of the "specialty coffee" brew "Bourbon Pointu" correlated to its three trade classifications. **Food Research International**, v. 61, p. 264-271, 2014.

POYRAZ, İ. E. et al. Volatile compounds of *Coffea arabica* L. green and roasted beans. **ANADOLU UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY -C Life Sciences and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 31-35, 2016.

RIBEIRO, D. E. et al. Interaction of genotype, environment and processing in the chemical composition expression and sensorial quality of Arabica coffee. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 27, p. 2412-2422, 2016.

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

RIBEIRO, F. C. **Métodos alternativos para armazenamento de cafés especiais**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2013.

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

SAATH, R. et al. Activity of some isoenzymatic systems in storage coffee grains. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 1, p. 15-24, 2014.

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

SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M.; BYTOF, G. Metabolic responses of coffee beans during processing and their impact on coffee flavor. In: SCHWAN, F. R.; FLEET, H. G. (Eds.). . **Cocoa and Coffee Fermentations**. Boca Raton: CRC Press, 2014. p. 73-81.

SEMMELOCH, P. et al. Determination of potent odourants in roasted coffee by stable isotope dilution assays. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 10, n. 1, p. 1-7, 1995.

SEMMELOCH, P.; GROSCH, W. Studies on character impact Odorants of coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 2, p. 537-543, 1996.

SOMPORN, C. et al. Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 11, p. 2287-2296, 2011.

SUNARHARUM, W. B.; WILLIAMS, D. J.; SMYTH, H. E. **Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective** **Food Research International**, 2014.

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

TSUCHIDA, J. E. et al. Nuclear magnetic resonance investigation of water accessibility in cellulose of pretreated sugarcane bagasse. **Biotechnology for Biofuels**, v. 127, n. 7, p. 1-13, 2014.

YERETZIAN, C. et al. From the green bean to the cup of coffee: Investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles. **European Food Research and Technology**, v. 214, n. 2, p. 92-104, 2002.

YERETZIAN, C. et al. Individualization of Flavor Preferences: Toward a Consumer-centric and Individualized Aroma Science. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 3, n. 4, p. 152-159, 2004.