

CONTRIBUTO PARA O ESTUDO DA QUALIDADE DO GRÃO DE CAFÉ DA GORONGOSA

Juliana Marreiros Duarte da Silva

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar

Orientadores: Professora Doutora Maria Manuela Marques Matias Ferreira Pinto
Doutora Paula Cristina da Cruz Oliveira Soromenho de Alvito

Júri:

Presidente: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Associada com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutora Sónia Alexandra de Almeida Martins, Professora Adjunta do Instituto Superior de Engenharia de Lisboa do Instituto Politécnico de Lisboa.

Doutora Maria Manuela Marques Matias Ferreira Pinto, Investigadora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

AGRADECIMENTOS

A colaboração de algumas pessoas permitiu a elaboração da presente dissertação, a quem expresso os meus agradecimentos:

Às minhas orientadoras, Professora Manuela Ferreira Pinto e Doutora Paula Alvito, agradeço todo o acompanhamento ao longo destes meses, a disponibilidade bem como os conhecimentos transmitidos.

À Doutora Elsa Vasco que, apesar de não ser minha orientadora, agradeço a ajuda e prontidão de forma a melhorar o trabalho.

Ao Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge agradeço a oportunidade de colaborar no projeto. Em especial, aos colaboradores do Departamento de Alimentação e Nutrição pela simpatia e pela forma como me acolheram.

Ao Instituto Superior de Agronomia, pelos conhecimentos transmitidos ao longo dos cinco anos em que cá estudei.

Aos meus pais, tia e avós, que sempre me acompanharam ao longo de todas as etapas da minha vida acreditando sempre nas minhas capacidades.

A todos os meus amigos, pela paciência, força e apoio que sempre demonstraram incentivando-me.

RESUMO

O estudo da qualidade do café é de extrema importância dado que constitui uma das bebidas mais consumidas no mundo. Esta dissertação teve assim, como objetivo, o estudo de três parâmetros de qualidade do café: teor de cafeína, potencial antioxidante e contaminação por ocratoxina A, em amostras de café arábica verde e torrado. Este trabalho envolveu uma revisão bibliográfica sobre os trabalhos publicados neste domínio, a nível mundial, na última década.

Os estudos analisados revelaram uma variação dos teores de cafeína em café verde e torrado, entre 0,8 – 38,5 g/kg e 1,3 – 9,9 g/kg, respetivamente, apresentando, no geral uma boa estabilidade térmica. Contudo, esta pode ser afetada pela torra. A concentração de cafeína pode ainda depender das condições em que o cafeeiro se desenvolve, o que poderá explicar a grande variabilidade de teores encontrados.

Quanto à atividade antioxidante, registaram-se grandes variações (62,2 – 71,3%) em grãos verdes provenientes de diferentes origens geográficas, o que evidencia a importância da origem do café. Quanto aos compostos fenólicos totais, estes geralmente diminuem com a torra, variando na gama de concentrações 5,2 – 220,0 g de ácido gálico equivalentes (GAE)/kg e 7,9 – 151,4 g GAE/kg para o café verde e torrado, respetivamente. Contrariamente a esta tendência, registaram-se aumentos da atividade antioxidante em graus de torra reduzidos, provavelmente atribuídos à formação de melanoidinas, com capacidade antioxidante.

Relativamente à contaminação de café por OTA, foram registados valores entre 5,8 e 247,0 µg/kg para café verde e 1,99 e 115,0 µg/kg para café torrado, nas regiões da América e Ásia. O café verde apresentou valores mais elevados de OTA em comparação com o café torrado confirmando-se a redução dos teores de OTA pelo processo de torra.

De entre os grãos defeituosos, os grãos com defeito “preto” da região da América foram os que registaram maior contaminação de OTA (25,7 µg/kg).

Palavras-chave

Café arábica, torra, cafeína, potencial antioxidante, ocratoxina A

ABSTRACT

The study of coffee quality is extremely important since it is one of the most consumed beverages in the world. The objective of this dissertation was to study three parameters of coffee quality: caffeine content, antioxidant potential and ochratoxin A contamination in green and roasted Arabica coffee samples. This work involved a literature review on the works published in this field worldwide in the last decade.

The analysed studies revealed a variation in caffeine content in green and roasted coffee, between 0.8 – 38.5 g/kg and 1.3 – 9.9 g/kg, respectively, generally presenting good thermal stability. However, this may be affected by roasting. The caffeine concentration may also depend on the conditions in which coffee develops, which may explain the great variability of levels found.

Regarding antioxidant activity, there were large variations (62.2 - 71.3%) green beans from different geographical origins, which highlights the importance of the origin of coffee. As for total phenolic compounds, these generally decrease with roasting, ranging in range of concentrations 5.2 – 220.0 g of equivalent cholic acid (GAE)/kg and 7.9 – 151.4 g GAE/kg for green and roasted coffee, respectively. Contrary to this trend, there were increases in antioxidant activity in reduced degrees of roasting, probably attributed to the formation of melanoidins, with antioxidant capacity.

Regarding coffee contamination by OTA, values between 5.8 and 247.0 µg/kg for green coffee and 1.99 and 115.0 µg/kg for roasted coffee in the regions of America and Asia were recorded. Green coffee showed higher OTA values compared to roasted coffee confirming the reduction of OTA contents by roasting process.

Among the defective grains, the "black" defective grains of the Region of America were the ones with the highest OTA contamination (25.7 µg/kg).

Keywords

Arabica coffee, roasting, caffeine, antioxidant potential, ochratoxin A

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
ÍNDICE GERAL.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE TABELAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
1. ENQUADRAMENTO DO TEMA E OBJETIVOS.....	1
2. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	4
2.1. Contexto Histórico.....	4
2.2. Produção e Consumo do Café	4
2.2.1. Produção do Café	4
2.2.2. Consumo do Café	6
2.3. O Cafeeiro.....	7
2.3.1. Caracterização Botânica	7
2.3.2. Principais Espécies	8
2.4. Tecnologias e Processamento do Café	9
2.4.1. Colheita e Seleção	9
2.4.2. Via Úmida	10
2.4.3. Via Seca.....	10
2.5. Caracterização Física, Química e Sensorial.....	12
2.6. Parâmetros de Qualidade do Café	14
2.6.1. Cafeína	15
2.6.1.1. Caracterização.....	15
2.6.1.2. Efeitos na Saúde.....	16
2.6.1.3. Determinação Analítica	16
2.6.2. Potencial Antioxidante.....	17

2.6.2.1.	Caracterização.....	17
2.6.2.2.	Efeitos na Saúde.....	19
2.6.2.3.	Determinação Analítica.....	19
2.6.3.	Ocratoxina A.....	20
2.6.3.1.	Caracterização geral das micotoxinas.....	20
2.6.3.2.	Caracterização da ocratoxina A.....	22
2.6.3.3.	Contaminação do Café.....	22
2.6.3.4.	Efeitos na Saúde.....	23
2.6.3.5.	Determinação Analítica.....	23
3.	METODOLOGIA DE PESQUISA.....	25
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1.	Teor de Cafeína.....	27
4.2.	Potencial Antioxidante.....	34
4.3.	Teor de Ocratoxina A.....	49
5.	CONCLUSÕES.....	54
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Folhas de cafeeiro da espécie <i>C. arabica</i> (A) e <i>C. canephora</i> (B)	7
Figura 2 - Inflorescência do cafeeiro	7
Figura 3 - Fruto do cafeeiro	8
Figura 4 - Grão de <i>C. arabica</i> e <i>C. canephora</i>	8
Figura 5 - Localização do Trópico de Câncer, Equador e Trópico de Capricórnio.....	9
Figura 6 - Diagrama do processamento do café.	11
Figura 7 - Grãos de café Verde e Torrados em diferentes graus	12
Figura 8 - Estrutura Química da Cafeína.	15
Figura 9 – Esquema de um equipamento de HPLC.....	17
Figura 10 - Estrutura Química do Ácido Clorogénico.	18
Figura 11 - Estrutura Química da Ocratoxina A.	22
Figura 12 - Diagrama correspondente à metodologia de pesquisa de resultados.....	26
Figura 13 – Representação gráfica da concentração média de cafeína em grãos de café arábica verdes, incluindo os valores mínimo (9 g/kg) e máximo (13 g/kg) considerados como referência.	29
Figura 14 - Representação gráfica da concentração média de cafeína em grãos de café arábica torrados, incluindo os valores mínimo (11 g/kg) e máximo (13 g/kg) considerados como referência.	30
Figura 15 - Representação gráfica dos teores de cafeína de grãos de café arábica verdes em função da sua origem.....	31
Figura 16 - Influência da torra no teor de cafeína de duas variedades de café arábica (Salinas-Vargas et al., 2014)	32
Figura 17 - Representação gráfica dos resultados de atividade antioxidante em grãos de café verdes pelo método do radical DPPH.....	36
Figura 18 - Representação gráfica dos resultados obtidos de atividade antioxidante em grãos de café torrados pelo método do radical DPPH.	36
Figura 19 - Representação gráfica dos resultados da atividade antioxidante em grãos de café verdes, pelo método do radical ABTS.	37
Figura 20 - Representação gráfica dos resultados da atividade antioxidante em grãos de café torrados, pelo método do radical ABTS.	38
Figura 21 - Representação gráfica dos resultados da atividade antioxidante em grãos de café verdes, por FRAP.....	39
Figura 22 - Representação gráfica dos resultados da atividade antioxidante em grãos de café torrados, por FRAP.	39

Figura 23 - Representação gráfica da influência da torra na atividade antioxidante dos grãos de café (Bobková et al., 2020).....	40
Figura 24 - Representação gráfica dos resultados do teor de compostos fenólicos totais em grãos de café verde.....	44
Figura 25 - Representação gráfica dos resultados do teor de compostos fenólicos totais em grãos de café torrados.....	45
Figura 26 - Representação gráfica da influência da torra no teor de compostos fenólicos totais dos grãos de café (Bobková et al., 2020).	47

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Produção de café arábica e robusta por região e total mundial entre 2015/2018 em milhares de sacas de 60 kg.	5
Tabela 2 - Consumo de café por região e total mundial entre 2015/2018 em milhares de sacas de 60 kg.	6
Tabela 3 - Diferentes classificações de torras e respectivas temperaturas e características da bebida obtida.....	12
Tabela 4 - Composição química do grão de café arábica e robusta verde e torrado.	13
Tabela 5 - Classificação das micotoxinas quanto à sua carcinogenicidade de acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Cancro (IARC).....	21
Tabela 6 - Palavras-chave utilizadas para a pesquisa geral sobre qualidade do café.	25
Tabela 7 - Palavras-chave utilizadas para a pesquisa específica sobre os parâmetros de qualidade do café.....	26
Tabela 8 - Estudos sobre o teor de cafeína em grãos de café Arábica.	27
Tabela 9 – Estudos sobre a atividade antioxidante em grãos de café Arábica.	34
Tabela 10 - Estudos sobre o teor dos compostos fenólicos totais em grãos de café Arábica.	42
Tabela 11 - Estudos sobre o teor de OTA em grãos de café Arábica em função do processamento.....	49
Tabela 12 – Estudos sobre o teor de OTA em grãos de café Arábica em função da origem e dos defeitos.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS, Ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazoline-6-sulfônico)

AFs, Aflatoxinas

DON, Desoxinivalenol

DPPH, 2,2-difenil-1-picrihidrazil

ELISA, Ensaio de imunoabsorção enzimática

FMs, Fumonisinias

FRAP, Poder antioxidante de redução do ferro

GA, Ácido Gálico

GC, Cromatografia gasosa

HPLC, Cromatografia líquida de alta performance

IARC, Agência Internacional de Pesquisa sobre o Cancro

ICO, International Coffee Organization

LC-MS, Cromatografia líquida – espectrometria de massa

ND, Não detetado

OTA, Ocratoxina A

OTs, Ocratoxinas

PDA, Detetor de Diodos

TCTs, Tricotecenos

TLF, Torrador de leito fluidizado

TR, Torrador rotativo

UV, Ultravioleta

ZEN, Zearalenona

1. ENQUADRAMENTO DO TEMA E OBJETIVOS

O trabalho apresentado nesta dissertação insere-se no projeto “Produção Sustentável de Café no Parque Nacional da Gorongosa em sistema agroflorestal integrado no contexto da desflorestação, alterações climáticas e segurança alimentar”. Trata-se de uma iniciativa implementada na Serra da Gorongosa, em Moçambique, iniciada em 2018 e com duração de 5 anos, com base numa cooperação internacional entre instituições de Portugal, Brasil e Moçambique. Tem como principais objetivos a produção de café de forma sustentável, no contexto da desflorestação, alterações climáticas e segurança alimentar, trazendo benefícios socioeconómicos e permitindo a recuperação do coberto vegetal nesta serra (Parque Nacional da Gorongosa, s/ data; Ribeiro *et al.*, 2019).

A desflorestação tem sido um problema bastante presente em Moçambique, verificando-se uma destruição de cerca de 219 000 hectares de floresta por ano da Serra da Gorongosa devido a atividades como a procura de combustível lenhoso (CEAGRE, 2015).

No contexto da desflorestação e das alterações climáticas, o projeto pretende: reflorestar a Serra da Gorongosa com espécies arbóreas nativas e novos cafeeiros; analisar a capacidade de resistência do material vegetal às alterações climáticas previstas para a região e avaliar a possibilidade de introdução de novos genótipos de cafeeiros adequados às condições locais (Ribeiro *et al.*, 2019). Uma vez que a espécie *Coffea canephora* é mais tolerante a temperaturas elevadas do que a espécie *C. arabica* (espécie existente no PNG), pretende-se avaliar a possibilidade de introduzir esta espécie tendo em conta o aquecimento global. Neste momento, este projeto ocupa uma área de 500 hectares na Serra da Gorongosa, mas prevê-se que, até ao fim do projeto, seja plantado um total de 1000 hectares de café (Silva, 2018).

No que respeita à segurança alimentar, este projeto pretende contribuir para o desenvolvimento socioeconómico da região com o objetivo de erradicar a pobreza extrema e a fome bem como promover a igualdade de género. Assim sendo, pretende-se criar empregos, capacitar os diferentes intervenientes moçambicanos em toda a cadeia de valor do café e implementar melhorias na saúde e educação das famílias que residem na Serra. Esta iniciativa permitiu ainda o desenvolvimento de outras atividades agroflorestais como a produção de mel, e a promoção da formação dos pequenos produtores de forma a que estes implementem práticas agrícolas mais sustentáveis, como a rotação de culturas que permite que o nitrogénio seja devolvido ao solo no fim de cada estação.

Este projeto é valorizado através de três vertentes:

- caracterização e implementação de um sistema sustentável de produção de café;
- elaboração de um manual de boas práticas da produção de café em Moçambique, com particular destaque à região da Gorongosa;
- adaptação de um sistema de certificação da qualidade do café e de uma marca registada (*brand name*) do café Gorongosa.

No âmbito do melhoramento dos sistemas de produção de café, será efetuada a análise das características das espécies de café, bem como da restante vegetação que irá proporcionar um sistema de sombreamento aos cafeeiros (tornando assim o terreno mais fértil); estudo do nível de sombreamento mais adequado; da disponibilidade hídrica e do nível de fertilização, sendo esta essencialmente orgânica (limitando-se o uso de fertilizantes químicos e pesticidas).

A elaboração de um manual de boas práticas pretende contribuir para obter um café com melhor qualidade. Deste modo, este manual deverá incluir informação sobre os procedimentos da gestão da cultura, processo de previsão da produção, avaliação do estado de maturação do fruto ótimo para a colheita e processos de colheita e pós-colheita.

Por fim, será desenvolvido um sistema de certificação da qualidade do café que inclui o acompanhamento e melhoramento dos procedimentos pré-colheita; estabelecimento de procedimentos de colheita e armazenamento do café; promoção da marca *Gorongosa Coffee* e procedimentos para a certificação de produção biológica, sustentável e de acordo com os princípios do comércio justo.

No contexto deste projeto foi desenvolvida a presente dissertação de mestrado com vista a contribuir para o estudo da qualidade dos grãos de café produzidos no Parque Nacional da Gorongosa através do estudo de alguns dos parâmetros mais importantes para a qualidade do café nomeadamente, teor de cafeína, potencial antioxidante e contaminação por ocratoxina A (OTA) em grãos de café arábica, nas fases de café verde e torrado.

A análise destes parâmetros é crucial para o estudo da qualidade do café, na medida em que, o teor de cafeína e a presença de compostos com ação antioxidante têm influência, não só no aroma da bebida resultante, mas também na saúde do consumidor. Também a determinação da presença da micotoxina OTA no café é fundamental devido a esta ser o contaminante mais frequentemente detetado neste tipo de alimento, levando a perdas económicas, perdas de valor nutricional e pondo em risco a saúde humana. Neste estudo foi efetuada uma revisão bibliográfica sobre os estudos desenvolvidos, a nível mundial e na última década, sobre a qualidade do café. A dissertação foi dividida em quatro partes principais: fundamento teórico; metodologia de pesquisa; resultados e discussão e

conclusões. No âmbito do fundamento teórico foram abordados vários temas, nomeadamente, contexto histórico; produção e consumo; caracterização botânica; tecnologias e processamento; caracterização física, química e sensorial e parâmetros de qualidade (cafeína, potencial antioxidante e ocratoxina A).

Relativamente à metodologia de pesquisa, são apresentados os motores de busca bem como as palavra-chave utilizadas. É ainda apresentado um esquema que ilustra o processo de seleção da informação.

Quanto aos resultados e discussão, foram analisados os estudos selecionados sobre a qualidade do café de acordo com os parâmetros cafeína, potencial antioxidante e ocratoxina A). Por fim, referem-se as principais conclusões deste trabalho.

Uma vez que esta dissertação foi desenvolvida durante a pandemia, não foi possível realizar a componente prática.

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. Contexto Histórico

O cafeeiro é uma planta, originária da Etiópia, usada na alimentação, em particular as suas sementes, folhas e frutos. A *Coffea arabica* foi a primeira espécie a ser descoberta por volta de 850 d.C. (Herrera *et al.*, 2017). Existem algumas lendas relacionadas com a sua descoberta, estando uma delas relacionada com um pastor que reparou que as suas cabras ficavam mais energéticas ao consumirem as cerejas de café (Rao *et al.*, 2011). Ao observar este comportamento, um monge decidiu torrar alguns grãos para fazer uma infusão com estas e serviu-as à população com a finalidade de a manter atenta durante as orações noturnas. Contudo, as histórias relacionadas com a descoberta deste alimento são apenas lendas não havendo uma certeza quanto à sua descoberta (Teketay, 1999). O café começou por ser inicialmente consumido prensado, de forma a servir de alimento energético durante longas viagens (Teketay, 1999).

De acordo com Wellman (1961) e Herrera *et al.* (2017), foram transportadas algumas sementes da Etiópia para o Iémen, levadas possivelmente pelos próprios Etíopes durante uma viagem em que atravessavam o mar vermelho (Wellman, 1961; Herrera *et al.*, 2017). A partir do Iémen, o café foi então espalhado para outros países como Índia, Sri Lanka, Indonésia e a ilha de Java, onde começaram as plantações comerciais (Teketay, 1999). Presume-se que o hábito de consumir café como uma bebida, tenha surgido na Arábia, por volta do século XV, sendo que este hábito rapidamente se espalhou tendo chegado à Turquia em 1554 e a Veneza em 1560 (Teketay, 1999).

Segundo Herrera *et al.* (2017), relativamente à espécie *Coffea canephora*, esta foi descoberta no Congo, tendo sido plantada, para fins comerciais, apenas em 1870, cerca de 1020 anos depois da descoberta da primeira espécie, tendo chegado ao continente Americano por volta de 1912 (Herrera *et al.*, 2017).

2.2. Produção e Consumo do Café

2.2.1. Produção do Café

A cafeicultura é uma das atividades económicas que mais contribui tanto a nível da sustentabilidade (relativamente às questões ambientais) como a nível dos aspetos sociais para os países em desenvolvimento (ICO, 2018). É o produto alimentar mais comercializado no mundo com mais de 50 países produtores e exportadores de café, estimando-se que cerca de 125 milhões de pessoas dependem desta cultura, 25 milhões dos quais são produtores

(Krishnan, 2017; Avelino *et al.*, 2018). Contudo, e apesar da produção média anual de café aumentar a uma taxa de 3,6% (Osorio, 2002), esta produção é considerada instável devido à safra e contrassafra, isto é, existem anos em que há uma grande colheita em contraste com outros em que a colheita é menor.

Devido à flutuação dos preços do café, a sua produção é um desafio pois, segundo um relatório de 2006, apenas 7% do valor total do mercado do café se destinava aos países exportadores (Krishnan, 2017). Contudo, esta produção tem aumentado ao longo dos anos, apesar das alterações climáticas e da maior incidência de pragas e doenças. Segundo a *International Coffee Organization* (ICO, 2020a), a produção mundial de café entre 2015 e 2018 apresentou uma tendência crescente, como se verifica na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Produção de café arábica e robusta por região e total mundial entre 2015/2018 em milhares de sacas de 60 kg.

Região	2015	2016	2017	2018
África	15 756	16 729	17 376	18 623
Ásia e Oceânia	49 484	45 652	48 408	48 064
México e América Central	17 106	20 322	21 725	21 345
América do Sul	72 651	75 921	75 167	82 191
Total	154 996	158 625	162 676	170 223

Fonte: ICO, 2020a.

Da análise da **Tabela 1**, constata-se, ainda, que a região que maior e menor quantidade de café produz é a América do Sul e África, produzindo, respetivamente 48 e 11% da produção mundial. O Brasil é o maior país produtor, seguido do Vietname, correspondendo, respetivamente a cerca de 33% e 15% da produção total mundial (Al-Abdulkader *et al.*, 2018).

Apesar de existirem cerca de 70 espécies de café, apenas 2 têm importância comercial: a *Coffea arabica* (vulgarmente conhecida por café arábica) e *Coffea canephora* (vulgarmente conhecida por café robusta) (Belitz *et al.*, 2009). A produção de café arábica, apesar de algumas flutuações ao longo dos anos, ultrapassa a produção de café robusta (ICO, 2020a). O café arábica, em consequência da sua qualidade superior, tem ainda um preço mais elevado do que o café Robusta (Avelino *et al.*, 2018).

Devido à situação pandémica em 2020, verificaram-se, também, impactos ao nível da produção de café, uma vez que as medidas rigorosas de comercialização originaram a redução das exportações, assim como dos preços (ICO, 2020b). No entanto, estima-se que a produção mundial de café em 2020/2021 ronde os 176 100 milhares de sacas de 60 kg, continuando o Brasil a ser o maior produtor (USDA, 2020).

Em suma, o mercado de café é um mercado instável devido às alterações climáticas e aos problemas inerentes à cultura, causando a volatilidade dos preços (Krishnan, 2017).

2.2.2. Consumo do Café

O consumo de café é, desde há uns anos, associado não só ao consumo de uma bebida estimulante, mas também a uma experiência, tornando-se assim uma das bebidas mais consumidas desde meados do século XVI (Samoggia *et al.*, 2018). Em quantidades moderadas, esta bebida demonstrou também trazer benefícios à saúde do consumidor devido ao seu teor de compostos com ação antioxidante.

Verifica-se que 65% do café total produzido é consumido por 17% da população mundial existindo assim uma grande oportunidade de expansão de mercado (Krishnan, 2017). O consumo de café tem tendência a aumentar ao longo dos anos, como é possível verificar na **Tabela 2**.

Tabela 2 - Consumo de café por região e total mundial entre 2015/2018 em milhares de sacas de 60 kg.

Região	2015	2016	2017	2018
África	10 951	11 130	11 527	11 724
Ásia e Oceânia	32 863	34 573	35 697	36 470
México e América Central	5 295	5 226	5 321	5 401
Europa	52 147	52 045	53 148	55 731
América do Norte	28 934	29 559	29 941	31 644
América do Sul	25 299	26 111	26 922	27 128
Total	155 491	158 642	162 555	168 099

Fonte: ICO, 2020a.

Analisando a **Tabela 2** constata-se que a região que mais café consome é a Europa, continente que não produz este produto alimentar, e a região que menos consome é o México e América Central. Contudo, o país do mundo que mais consome café são os Estados Unidos da América (Samoggia *et al.*, 2018).

Relativamente ao consumo de café *per capita* em Portugal, verifica-se uma tendência crescente, sendo que, em 2012, o consumo foi de 4,73 kg e, em 2017, foi de 5,5 kg (Lusa, 2018).

De acordo com a Associação Industrial e Comercial do Café (s/ data), 80% dos portugueses consome diariamente café, sendo que deste consumo 80% é feito fora de casa, o oposto do resto da Europa. Contudo, uma vez que o tipo de café mais consumido em Portugal é o café expresso, não somos dos países que mais consomem esta bebida. Como o café consumido nos países nórdicos é o café de filtro, consumido em doses maiores, estes são, por esta razão, os maiores consumidores de café da Europa, sendo que a Finlândia, por exemplo, consome em média 12 kg per capita/ano (Lusa, 2018). Comparativamente, o café expresso é uma bebida mais densa, mais concentrada, menos ácida, com menor teor de cafeína e servida em menor quantidade do que o café de filtro (Koh, 2017). Enquanto que o café de filtro é obtido através da passagem da água pelos grãos moídos por ação da gravidade, no café expresso, a passagem de água pelos grãos é feita sob pressão.

2.3. O Cafeeiro

2.3.1. Caracterização Botânica

O café comercial é a semente do cafeeiro, um arbusto perene da família *Rubiaceae*, do género *Coffea* L. (Oliveira *et al.*, 2012). Este arbusto pode crescer entre os 3 e os 12 m de altura (sendo podado para facilitar a colheita), desenvolve-se a altitudes entre os 600 e os 1200 m e necessitando de uma temperatura anual média entre os 15 e os 25°C. Existem cerca de 70 espécies de café, no entanto as que são cultivadas e são mais importantes, do ponto de vista económico, são: *Coffea arabica* (75% da produção mundial); *C. canephora* (25% da produção mundial); *C. liberica* (menos de 1% da população mundial).

O sistema radicular do cafeeiro é composto por: raízes primárias, ramificações e pelos radiculares. As raízes primárias são geralmente pequenas, grossas e não ultrapassam a profundidade de 0,5 m. Estas raízes possuem ramificações que poderão ser axiais, quando crescem verticalmente abaixo da planta (2 a 3 m de profundidade), ou laterais, quando crescem paralelamente à superfície do solo (no máximo 2 m de profundidade). As ramificações são curtas e possuem pelos radiculares permitindo que se absorvam nutrientes e água.

O sistema radicular pode ser afetado por diversos fatores, como por exemplo a carga de frutos, pragas e doenças, podendo levar à morte radicular (Ferreira *et al.*, 2019).

Assim como o sistema radicular, as folhas do cafeeiro estão dependentes de fatores como o estado de saúde da planta e a espécie. As espécies mais comercializadas, isto é, a *C. arabica* e a *C. canephora*, apresentam folhas elípticas com veios visíveis, finas, brilhantes e enceradas, crescendo em pares simétricos no ramo (Ferreira *et al.*, 2019). Geralmente, as folhas da espécie *C. arabica* são menores e mais escuras que as da espécie *C. canephora* (**Figura 1**).



Figura 2 - Inflorescência do cafeeiro
(Fonte: *Guide to house plants, s/ data*).

Quanto à floração, esta dura geralmente dois dias, contudo poderá ocorrer mais do que uma vez no mesmo período.

O cafeeiro é constituído por inflorescências axilares glomerulares de cor branca ou, raramente, cor-de-rosa (**Figura**



Figura 1 - Folhas de cafeeiro da espécie *C. arabica* (A) e *C. canephora* (B)

(Fonte: Ferreira *et al.*, 2019).

2).

Na maioria das regiões produtoras de café (regiões não equatoriais) ocorre apenas um ciclo anual de crescimento e frutificação, enquanto que em regiões equatoriais poderá ocorrer várias vezes durante um ano (Ferreira *et al.*, 2019).

O fruto do café, é uma drupa com duas sementes sendo constituído por exocarpo, mesocarpo, endocarpo (ou pergaminho), endosperma e embrião (**Figura 3**), sendo que os 3 últimos já constituem a semente. A sua cor pode variar entre o amarelo e o preto, mas geralmente apresenta tonalidades laranja avermelhadas (Teketay, 1999) e é designado vulgarmente por cereja.

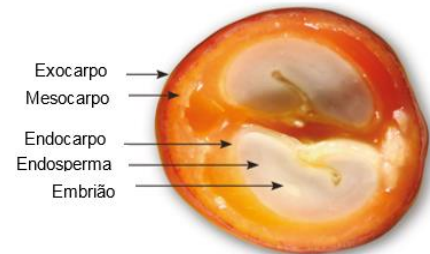


Figura 3 - Fruto do cafeeiro
(Adaptado de: Ferreira *et al.*, 2019).

Entre o endocarpo e o endosperma existe ainda uma camada designada de tegumento ou, mais vulgarmente conhecido como “pele de prata” devido à sua cor prateada (Ximenes, 2010).

2.3.2. Principais Espécies

Como descrito anteriormente, as espécies com maior importância comercial são a *C. arabica* e a *C. canephora*. Estas espécies apresentam algumas diferenças entre elas, tanto a nível da sua composição e aparência, como a nível das condições ideais para o seu desenvolvimento.

Relativamente à *C. arabica*, esta espécie apresenta um total de 44 cromossomas, um teor de cafeína entre 9 e 13 g/kg e as sementes apresentam uma forma mais achatada (Almeida, 2019). As condições ótimas para o desenvolvimento desta espécie são: temperatura entre 15-24 °C, queda pluviométrica anual entre os 1500 e os 2000 mm e terrenos férteis. Esta espécie apresenta floração depois das chuvas, desenvolve-se em maiores altitudes e é mais suscetível a pragas.

Por outro lado, a espécie *C. canephora* apresenta um total de 22 cromossomas, um teor de cafeína entre 15 e 25 g/kg e sementes de forma oval (**Figura 4**). Para o seu desenvolvimento, é essencial que haja uma temperatura média anual entre os 24 e os 30 °C, queda pluviométrica anual entre os 2000 e os 3000 mm e que o solo seja pobre (Almeida, 2019). Trata-se de uma espécie mais resistente a pragas, com floração irregular e que se desenvolve a altitudes inferiores às da espécie *C. arabica*.

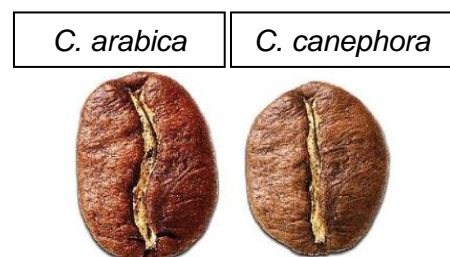


Figura 4 - Grão de *C. arabica* e *C. canephora*
(Adaptado de: Grão Gourmet, 2019).

2.4. Tecnologias e Processamento do Café

2.4.1. Colheita e Seleção

A primeira etapa do processamento é a colheita dos frutos, sendo que esta poderá ser manual (selecionada, a ripar ou de rebusco) ou mecânica (Almeida, 2019). Geralmente, recorre-se à colheita selecionada em que são apenas colhidas as cerejas de café maduras, sendo as verdes deixadas na árvore para uma colheita posterior (Jeavons, s/ data). Apesar de trabalhoso, este método acaba por ser vantajoso na medida em que melhora a qualidade do café produzido. A alternativa a este método é a colheita mecânica que permite que todas as cerejas do cafeeiro sejam colhidas de uma só vez, no entanto, resulta numa colheita com cerejas em diferentes estados de maturação o que vai originar um café de qualidade inferior. Esta etapa é fundamental dado que irá influenciar não só a qualidade da matéria-prima final como também o custo total da produção, uma vez que é na colheita que é utilizada uma grande parte da mão-de-obra total (Ximenes, 2010). Do norte do Equador ao Trópico de Câncer a colheita ocorre de dezembro a fevereiro, enquanto que do sul do Equador ao Trópico de Capricórnio a colheita ocorre de maio a agosto (**Figura 5**) (Belitz *et al.*, 2009).

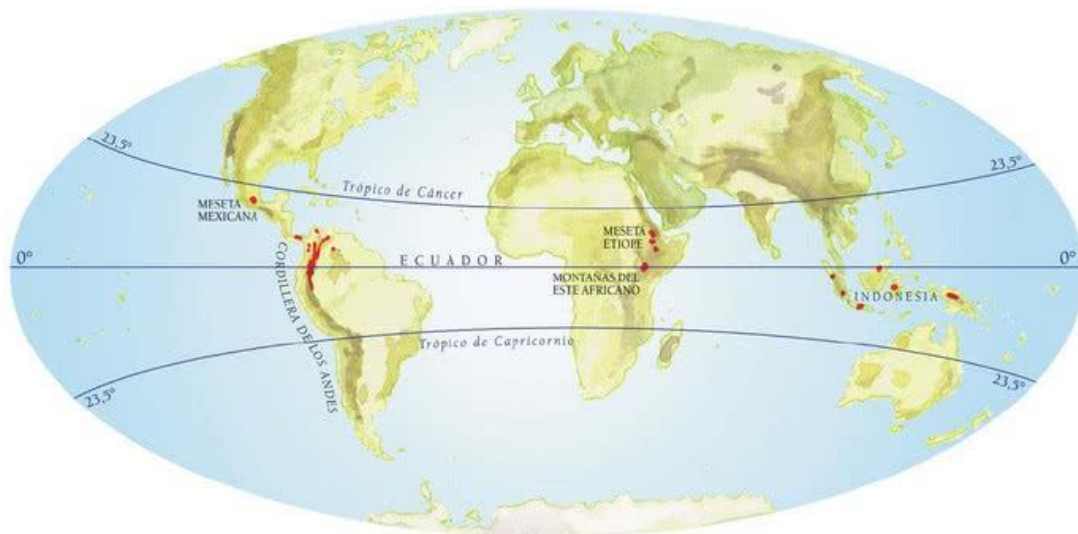


Figura 5 - Localização do Trópico de Câncer, Equador e Trópico de Capricórnio
(Fonte: Toda Matéria, s/ data).

Após a colheita das cerejas de café ocorre uma seleção, de forma a eliminar corpos estranhos que estejam presentes, e estas poderão então ser processadas através de via húmida ou seca resultando, respetivamente, café pergaminho e café coco (Gameiro, 2018).

2.4.2. Via Húmida

Relativamente à via húmida, as cerejas colhidas começam por sofrer uma despulpagem que consiste em remover a polpa do fruto, ou seja, o mesocarpo e o exocarpo com a utilização de um despulpador.

Em seguida, dá-se a etapa desmucilagem em que ocorre a remoção das substâncias mucilaginosas de forma a facilitar a futura lavagem (Almeida, 2019). Esta etapa poderá ser feita com recurso a uma fermentação, por meios mecânicos ou utilizando agentes químicos, como por exemplo a solução de hidróxido de sódio (Ximenes, 2010). Geralmente, recorre-se à fermentação, sendo que a sua duração depende de alguns fatores como a temperatura, a espessura da camada a fermentar, a concentração de enzimas pécticas e o método escolhido para a etapa. O método de fermentação que promove uma remoção rápida das mucilagens consiste em adicionar pectinases comerciais ao café (Almeida, 2019). Relativamente a esta etapa, esta ocorre geralmente entre 24 e 40 horas, contudo deve-se ter em conta que os frutos não deverão ser sujeitos a uma fermentação longa pois poderá reduzir a qualidade da bebida resultante deste café (Ghosh *et al.*, 2014).

Posteriormente, os frutos de café são lavados, durante cerca de 30 minutos, para remover as mucilagens extraídas e assim, obter, apenas, as sementes (grãos) de café (Ximenes, 2010). Procede-se então à sua secagem até se atingir um teor de humidade de cerca de 12% obtendo-se café pergaminho, podendo esta secagem ser solar, artificial ou mista (Almeida, 2019). Contudo, independentemente do método escolhido, deve-se ter em atenção alguns aspetos:

- a secagem deverá ser homogénea;
- a secagem deverá terminar quando for atingido o teor de humidade pretendido;
- deverão ser evitadas reações de fermentação;
- deve-se evitar submeter os frutos a temperaturas demasiado elevadas;
- a cor final dos grãos deverá ser uniforme.

A secagem é uma etapa fundamental, assim como o posterior armazenamento dos grãos, para se evitar o desenvolvimento de microrganismos e de fungos que poderão degradar o grão e/ou produzir toxinas prejudiciais à saúde do ser humano e dos animais (Ximenes, 2010).

2.4.3. Via Seca

Este processo começa pela secagem das cerejas de café, sendo ainda muito utilizado o método de secagem ao sol. Os frutos são espalhados em terreiros onde permanecem até

ser atingido um teor de humidade de cerca de 12%, obtendo-se assim café coco. Contudo, este método tem problemas associados como a deposição de poeiras no café e até mesmo a ocorrência de tempestades imprevisíveis que poderão levar ao aumento do teor de água nos grãos, favorecendo a contaminação por fungos (Ghosh *et al.*, 2014).

Posteriormente, os grãos obtidos por ambas as vias irão, por sua vez, sofrer transformações a partir de um conjunto de operações denominado “benefício”, sendo que este engloba as etapas de armazenamento, limpeza, descasque, calibragem, separação por densidades, escolha e ensacamento (Almeida, 2019). Do benefício, resultarão grãos de café com a denominação “café verde” (sem ser torrado) pronto para consumo ou exportação. A via seca trata-se do processamento mais simples e mais utilizado no Brasil (café robusta) e no Sri Lanka (café arábica) (Ghosh *et al.*, 2014).

As etapas envolvidas no processamento do café, seja por via húmida ou via seca, encontram-se esquematizadas na **Figura 6**.

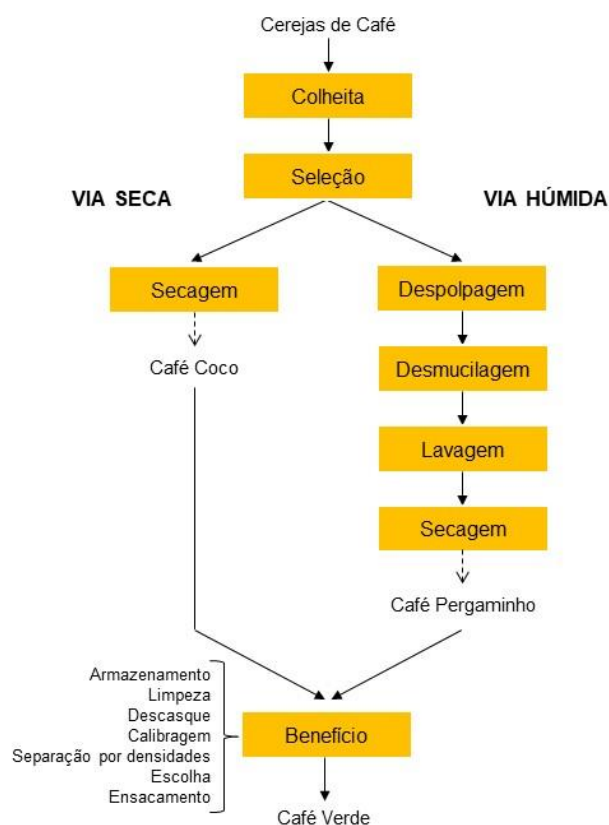


Figura 6 - Diagrama do processamento do café.

Quando chega ao seu destino, o café poderá ser armazenado ou poderá seguir diretamente para a torra. Nesta fase, junto ao café poderão estar presentes alguns corpos estranhos, procedendo-se então à sua remoção através de jatos de ar e de separadores

magnéticos (Rao *et al.*, 2011). A torra é um processo essencial para o desenvolvimento do aroma, sendo os grãos de café sujeitos a uma temperatura entre os 200 e os 205 °C durante 5-10 min, no caso de uma torra contínua, ou durante mais de 20 minutos, no caso de uma torra descontínua. É importante garantir a aplicação de calor de forma rápida e uniforme, de forma a garantir uma torra com o máximo de homogeneidade possível.

Os grãos de café poderão sofrer alguns tipos de torras diferentes consoante o objetivo final pretendido, mas, de uma forma geral, existem os graus de torra exemplificados na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Diferentes classificações de torras e respetivas temperaturas e características da bebida obtida.

Classificação da Torra	Temperatura (°C)	Características da bebida obtida
Muito Clara	180-200	Ácida com pouco aroma
Clara	200-220	Ácida com algum aroma
Média	220-230	Bom aroma e qualidade
Escura	230-240	Baixa acidez com aroma acentuado
Muito Escura	240-250	Baixa acidez e o aroma varia entre agridoce e queimado

Fonte: Rao *et al.*, 2011.

2.5. Caracterização Física, Química e Sensorial

Os grãos de café podem ser caracterizados fisicamente quanto à sua forma, cor, dimensões e teor de humidade.

Relativamente à forma dos grãos, como referido anteriormente, a espécie *C. canephora* apresenta uma forma mais oval enquanto que a *C. arabica* é mais achatada. Quanto à cor dos grãos, verifica-se, na fase de café verde, a espécie *C. arabica* apresenta uma cor mais verde enquanto que a espécie *C. canephora* apresenta uma cor semelhante à cor da palha (Vyas, 2018). A torra leva a um escurecimento desta cor, sendo esta cor mais escura à medida que aumenta o grau de torra (**Figura 7**).



Figura 7 - Grãos de café Verde e Torrados em diferentes graus (Torra Clara, Torra Média e Torra Escura) (Fonte: Bruno, s/ data).

Constata-se, ainda, que os grãos sofrem uma perda de massa com a torra, tendo Edzuan *et al.* (2015) registado uma perda por volta de 28%, estando esta redução relacionada

com a perda de água e de compostos voláteis. Contudo, apesar da massa ser reduzida, o volume aumenta devido à libertação de água, CO₂ e compostos voláteis orgânicos (Dutra *et al.*, 2001). Deste modo, uma vez que a densidade é obtida através da divisão da massa dos grãos pelo seu volume, a torra provoca ainda uma redução da densidade. Quanto ao teor de humidade, de acordo com Dutra *et al.* (2001), o seu valor médio para grãos de café verde é aproximadamente 12,5%, no entanto, com 12 minutos de torra, verificou-se que este valor atingiu os 0,72%.

Comparando as duas espécies, a bebida obtida através da *C. arabica* é mais aromática e ácida, tendo assim uma qualidade superior (Oliveira *et al.*, 2012). Por outro lado, a espécie *C. canephora* origina uma bebida mais amarga e com aroma menos pronunciado.

Quanto à composição química do café, esta depende da espécie e também de outros fatores, como o grau de maturação dos frutos, as condições climáticas, a composição do solo e as condições de armazenamento (Farah, 2012). Verifica-se que a torra potencia alterações, nomeadamente a destruição de determinados compostos e formação de novos (**Tabela 4**), como consequência de reações de pirólise, caramelização e de *Maillard* (Farah, 2012). A pirólise é uma reação que consiste na degradação dos compostos orgânicos quando sujeitos a temperaturas elevadas. Já as reações de caramelização e de *Maillard* consistem, respetivamente, na degradação dos açúcares e na reação química entre um aminoácido ou proteína e um hidrato de carbono redutor, ambas, em condições de temperatura elevada.

Tabela 4 - Composição química do grão de café arábica e robusta verde e torrado.

Constituinte		Concentração (g/100 g)			
		Café arábica		Café robusta	
		Verde	Torrado	Verde	Torrado
Hidratos de Carbono/Fibras	Sacarose	6,0-9,0	Vestigial-4,2	0,9-4,0	Vestigial-1,6
	Açúcares Redutores	0,10	0,3	0,4	0,3
	Polissacáridos	34-44	31-33	48-55	37
	Lenhina	3,0	3,0	3,0	3,0
	Pectinas	2,0	2,0	2,0	2,0
Compostos Nitrogenados	Proteínas/Péptidos	10 - 11	7,5 - 10	11,0-15,0	7,5 - 10
	Aminoácidos Livres	0,50	ND	0,8-1,0	ND
	Cafeína	0,90 -1,3	1,1 - 1,3	1,5 - 2,5	2,4 - 2,5
	Trigonelina	0,60-2,0	0,2-1,2	0,6-0,7	0,3-0,7
	Niacina	-	0,016-0,026	-	0,014-0,025
Lípidos	Triglicéridos com esteróis/tocoferóis insaponificáveis	15-17	17	7,0-10,0	11,0
	Diterpenos (Livres e Esterificados)	0,5-1,2	0,9	0,2-0,8	0,2
Minerais		3,0-4,2	4,5	4,4-4,5	4,7
Ácidos e Ésteres	Ácidos Clorogénicos	4,1-7,9	1,9-2,5	6,1-11,3	3,3-3,8
	Ácidos Alifáticos	1,0	1,6	1,0	1,6
	Ácidos Quínicos	0,4	0,8	0,4	1,0
	Melanoidinas	-	25	-	25

Legenda: ND – Não detetado.
Fonte: Farah, 2012.

Constata-se que o café arábica verde e torrado, em comparação com o café robusta, tem um maior teor de sacarose e de triglicéridos, contudo, apresenta uma concentração inferior de polissacáridos, cafeína e de ácidos clorogénicos.

Verifica-se que, com a torra, uma parte do teor proteico e de hidratos de carbono é degradado. Analisando a **Tabela 4**, verifica-se que a torra não afeta significativamente o teor de cafeína nos grãos de café. Quanto ao teor em compostos fenólicos, nomeadamente em ácidos clorogénicos, constata-se que a torra leva à sua diminuição, sendo que estes destacam-se pela sua elevada atividade antioxidante e também por conferirem aroma à bebida obtida através dos grãos de café (Almeida *et al.*, 2011).

A análise sensorial do café denomina-se “*cup-testing*”, sendo avaliadas as seguintes características básicas: fragrância, aroma, sabor, cheiro, sabor residual, acidez e corpo. Na fragrância é analisado o cheiro dos grãos acabados de torrar e moer, enquanto que no aroma são avaliados os gases libertados da bebida resultante da infusão dos grãos. Quanto ao cheiro e ao sabor residual, estão relacionados, respetivamente, com a sensação obtida ao inspirar enquanto se engole a bebida e com o sabor que fica na boca após a ingestão. Relativamente à acidez, é avaliada a presença de compostos adocicados e, por fim, no corpo, é avaliada a sensação de preenchimento da cavidade bucal bem como a sua adstringência (Willis, 2008).

2.6. Parâmetros de Qualidade do Café

Sendo o café uma das bebidas mais consumidas do mundo, torna-se fundamental garantir que esta tenha qualidade, proporcionando uma experiência agradável ao consumidor e não pondo em risco a sua saúde. O teor de cafeína e a presença de compostos com ação antioxidante nos grãos são os principais responsáveis pelo aroma da bebida resultante. Deste modo, é importante garantir que etapas como a torra e o armazenamento mantenham os níveis destes compostos de acordo com o esperado. Isto é, é expectável que o teor de cafeína não seja muito influenciado pela torra e que o teor de compostos fenólicos diminua com a torra.

É também indispensável determinar a presença de OTA em café, uma vez que esta micotoxina se pode encontrar presente neste tipo de alimento levando a perdas económicas, de valor nutricional e pondo em risco a saúde humana.

2.6.1. Cafeína

2.6.1.1. Caracterização

A cafeína é um alcalóide da família das metilxantinas, incolor à temperatura ambiente, com a designação química 1,3,7-trimetilxantina e a estrutura química da **Figura 8** tendo sido descoberta, no chá e no café, em 1820 (Ashihara *et al.*, 2001; Spiller, 2013). É a substância bioativa mais ingerida no mundo (Mejia *et al.*, 2014). No caso do café, a síntese de cafeína é feita a partir da xantosina, a qual se vai transformando em 7-metil xantosina, 7-metilxantina e teobromina até chegar à forma final de cafeína (Ramalakshmi *et al.*, 1999).

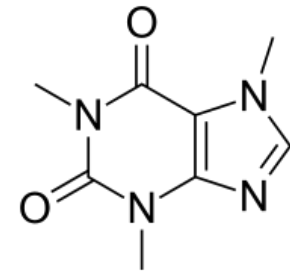


Figura 8 - Estrutura Química da Cafeína.

À temperatura ambiente, a cafeína apresenta a forma de um pó branco, semelhante ao amido de milho, é inodora e amarga (Preedy, 2012; Oestreich-Janzen, 2015). Apesar de ser bastante solúvel em água a ferver, quando esta está à temperatura ambiente o clorofórmio é o melhor solvente (Spiller, 2013). A cafeína atravessa facilmente membranas devido ao facto de ser hidrofílica e lipofílica.

A concentração de cafeína em café verde depende de fatores como propriedades genéticas das cultivares; fatores ambientais (por exemplo: solo e altitude); parâmetros climáticos (por exemplo, chuva e temperatura); maturidade dos grãos; método de colheita e outras práticas agrícolas e tipo de processamento (Yisak *et al.*, 2018).

Alguns fatores, como por exemplo o grau de torra ou as condições e duração do armazenamento dos grãos poderão também influenciar a concentração de cafeína presente no café (Mejia *et al.*, 2014).

Segundo Farah (2012), os valores do teor de cafeína mais frequentemente encontrados em café arábica verde e torrado situam-se, respetivamente, entre 0,9 – 1,3 g/100 g e 1,1 – 1,3 g/100 g, o que corresponde a 9 – 13 g/kg e 11 – 13 g/kg. Assim, foram considerados estes valores para comparações com os resultados obtidos neste estudo.

Sendo a cafeína um dos principais componentes do café, torna-se importante, tanto a nível nutricional como a nível da aplicabilidade farmacêutica, quantificá-la.

2.6.1.2. Efeitos na Saúde

A cafeína tem alguns efeitos na saúde que são perceptíveis, tais como o aumento da atenção e da capacidade de concentração e a redução da fadiga (Preedy, 2012). Contudo, esta poderá ter alguns efeitos negativos como a atenuação do efeito de sedativos, o aumento da ansiedade e tem, também, propriedades aditivas. Uma vez que se trata de uma substância aditiva, a privação do consumo de café poderá levar a que as pessoas sofram de dor de cabeça, stress, fadiga, depressão, ansiedade e alterações na atividade elétrica do cérebro (Preedy, 2012). Estes sintomas poderão também ser experienciados devido ao excessivo consumo de cafeína (Mejia *et al.*, 2014).

Em relação ao consumo de cafeína por mulheres grávidas, alguns estudos demonstraram que a cafeína consegue atravessar a placenta podendo, assim, pôr em risco o desenvolvimento fetal, devido à exposição do feto a este composto (Grosso *et al.*, 2017). É também desaconselhado o consumo de cafeína por parte das crianças, uma vez que esta poderá afetar o desenvolvimento cerebral (Mejia *et al.*, 2014).

Tem sido estudada a influência do consumo de café em doenças do foro neurológico, como o Alzheimer e o Parkinson, mas também em doenças como a diabetes tipo 2. Contudo, uma vez que foram apresentados resultados positivos tanto em café descafeinado como em café com cafeína, concluiu-se que estes resultados não estão relacionados com a presença de cafeína (Mejia *et al.*, 2014).

2.6.1.3. Determinação Analítica

Um dos métodos mais utilizados para a análise de metilxantinas, como a cafeína, em alimentos, é a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Spiller, 2013). Trata-se de uma metodologia relativamente rápida, exata e precisa, que permite a quantificação de compostos simples.

Os métodos de HPLC incluem uma coluna cromatográfica (fase estacionária) onde se separam os componentes a analisar, uma fase móvel que se desloca ao longo da fase estacionária, por efeito da pressão, com o objetivo de separar, identificar e quantificar analitos numa mistura (Mourato *et al.*, 2017). O equipamento de HPLC é constituído por reservatório, bomba, injetor, coluna, detetor e o software para a leitura e tratamento dos resultados (**Figura 9**) (Mourato *et al.*, 2017). O reservatório é onde é colocada a fase móvel. Quanto à bomba e

ao injetor são responsáveis, respetivamente, por promover a passagem da fase móvel pela coluna e por injetar a amostra no início da coluna (Porto, 2014). A coluna utilizada poderá ter diversos comprimentos e diâmetros, sendo constituída por diferentes materiais que permitem a separação cromatográfica dos diferentes analitos. Relativamente ao detetor, este irá identificar e quantificar o analito (existindo diversos tipos de detetores consoante o tipo de analito), sendo os resultados obtidos na forma de um cromatograma.

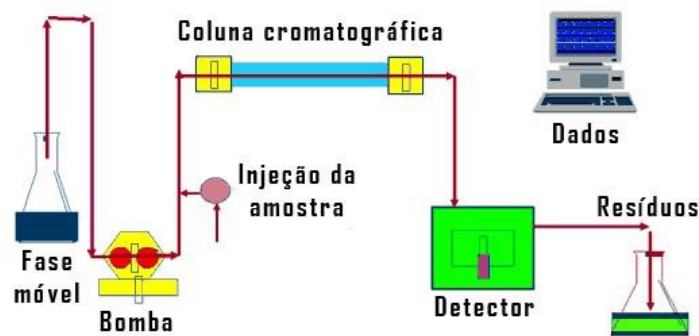


Figura 9 – Esquema de um equipamento de HPLC
(Fonte: Grubert, 2018).

O detetor utilizado é geralmente o de ultravioleta (UV), no entanto o detetor de Diodos (PDA) tem vindo a ser utilizado também pois permite obter dados sob a forma de um perfil tridimensional com o tempo, comprimento de onda e absorvância.

No final obtém-se o cromatograma onde o analito que se pretende analisar corresponde a um pico com um tempo de retenção específico. A identificação de um pico é possível devido à utilização de padrões conhecidos ou ainda recorrendo a outras técnicas, como a espectrometria de massa (Mourato *et al.*, 2017). Para se proceder à análise quantitativa, ou seja, determinar a concentração do analito, é feita a leitura do valor da área ou altura deste pico numa curva de calibração efetuada com várias concentrações do analito.

Existem outros métodos utilizados para analisar a cafeína, nomeadamente a cromatografia de camada fina, cromatografia gasosa (GC) e eletroforese capilar (Spiller, 2013). A cromatografia de camada fina tem uma utilização simples e um baixo custo associado, no entanto é menos exato que a HPLC e GC. Quanto à cromatografia gasosa, trata-se de um método rápido, versátil, preciso e fiável, permitindo separar misturas complexas devido ao facto de ser possível acoplar diversos detetores. Por fim, a eletroforese capilar tem uma maior resolução e um menor consumo de solvente do que a HPLC e permite utilizar volumes para análise muito reduzidos.

2.6.2. Potencial Antioxidante

2.6.2.1. Caracterização

O café destaca-se pela sua elevada atividade antioxidante, isto é, pela sua capacidade de inibir reações de oxidação, estando esta relacionada com a presença de compostos fenólicos e nitrogenados nos grãos (Yashin *et al.*, 2013; Almeida *et al.*, 2011).

Nos grãos de café, apesar de existirem outros compostos fenólicos em quantidades mais reduzidas (como taninos e antocianinas), os compostos fenólicos presentes em maior abundância são os ácidos clorogénicos (Farah *et al.*, 2006). Estes consistem em ésteres de ácido cafeico e ácido quínico, com a estrutura química representada na **Figura 10** (Farah *et al.*, 2006), influenciando a qualidade e o aroma da bebida resultante, contudo o seu teor varia consoante a espécie e o grau de maturação dos frutos. Os estudos realizados por Mullen *et al.*, 2013 demonstraram que a origem geográfica do café poderá, também, ter influência no teor de ácidos clorogénicos, podendo este facto estar relacionado com as características do solo, com as condições climáticas, com o grau de maturação dos grãos e com as práticas agrícolas (Stelmach *et al.*, 2015).

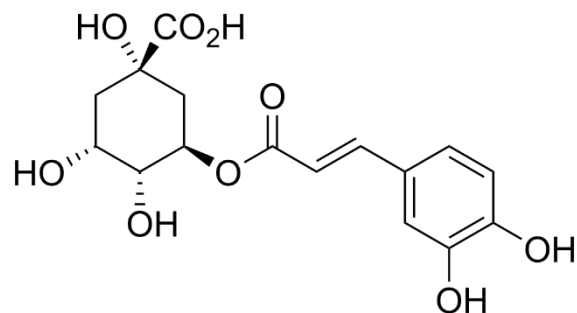


Figura 10 - Estrutura Química do Ácido Clorogénico.

Quanto aos compostos nitrogenados, presentes nos grãos de café, estes são essencialmente trigonelina, cafeína e melanoidinas, sendo estas últimas formadas através das reações de *Maillard* aquando da torra (Almeida *et al.*, 2011; Dybkowska *et al.*, 2017).

Os principais tipos de ácidos clorogénicos presentes em grãos de café verdes são os ácidos cafeoilquínicos, dicafeoilquínicos, feruloilquínicos e p-cumaroilquínicos, todos estes com 3 isómeros, e também seis diésteres mistos de ácidos cafeoil-feruloil-quínicos (Farah *et al.*, 2006).

No entanto, é o ácido cafeoilquínico, nomeadamente o ácido 5-cafeoilquínico, que está presente em maior quantidade, representando 50% do total de ácidos clorogénicos dos grãos de café verdes (Stalmach, 2012).

Tendo em conta que os ácidos clorogénicos são termicamente instáveis, torras intensivas poderão levar a perdas até 95% formando-se outros compostos derivados através de reações como isomerização e hidrólise (Farah *et al.*, 2006). Deste modo, alguns estudos demonstraram que grãos sujeitos a torras claras e médias poderão apresentar atividade antioxidante superior à dos grãos verdes devido à formação de outros compostos, como as melanoidinas e o ácido quínico (Hečimovic *et al.*, 2011; Odžakovic *et al.*, 2016; Król *et al.*, 2020).

Os ácidos clorogénicos contribuem para a acidez, adstringência e amargura da bebida resultante dos grãos de café. Contudo, a torra irá favorecer o aumento da amargura devido a reações como a de *Maillard* (Farah *et al.*, 2006).

2.6.2.2. Efeitos na Saúde

Sendo os ácidos clorogénicos os principais compostos fenólicos presentes no café e visto que esta se trata de uma das bebidas mais consumidas no mundo, é fundamental avaliar o impacto que o seu consumo causa na saúde humana. Atendendo ao efeito antioxidante destes compostos, estes, têm a capacidade de eliminar os radicais livres e também de impedir a oxidação de lipoproteínas (Tajik *et al.*, 2017; Stalmach, 2012).

Os ácidos clorogénicos têm, ainda, a característica de serem capazes de reduzir os mediadores pró-inflamatórios, tendo assim ação anti-inflamatória (Grosso *et al.*, 2017). Verifica-se, também, o seu efeito benéfico na saúde na medida em que estes compostos reduzem as concentrações de glicose no plasma e aumentam a sensibilidade à insulina, tendo assim, um efeito anti-diabetes.

Para além de todos estes efeitos para a saúde, os ácidos clorogénicos tem também efeitos anti-carcinogénicos podendo, no futuro, serem utilizados como tratamento ou prevenção de algumas doenças (Tajik *et al.*, 2017).

2.6.2.3. Determinação Analítica

Os estudos relacionados com os benefícios dos compostos com ação antioxidante na saúde dependem das estimativas da sua ingestão, pela população (Pisoschi *et al.*, 2012). Quanto à determinação da atividade antioxidante, esta poderá ser feita através de métodos de espectroscopia, eletroquímicos ou cromatográficos. Para a determinação da atividade antioxidante recorre-se geralmente aos métodos espectroscópicos do radical DPPH (peroxidação do radical livre 2,2- difenil-1-picrihidrazil), FRAP (Poder antioxidante de redução do ferro) e do radical ABTS (ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazoline-6-sulfónico)) (Sucupira *et al.*, 2012).

Relativamente ao método do radical DPPH, este composto é um radical livre estável com absorção máxima à volta dos 520 nm que, na presença de um antioxidante, se reduz desaparecendo a sua cor violeta (Pisoschi *et al.*, 2012). Ocorre também um decréscimo da absorvância, sendo este decréscimo tanto maior quanto maior for a concentração de antioxidante (Sucupira *et al.*, 2012; Pisoschi *et al.*, 2012). Os resultados obtidos através deste método são normalmente expressos em $\mu\text{mol Trolox equivalentes/g}$ ($\mu\text{mol TE/g}$).

Quanto ao método FRAP consiste, também, numa reação de redução do composto 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (absorção máxima a 593 nm), na presença de um antioxidante (que está presente no grão de café) e em meio ácido, até à obtenção de um complexo de cor

azul intensa (Sucupira *et al.*, 2012). Assim como no método do radical DPPH, os resultados obtidos através deste método são normalmente expressos em $\mu\text{mol TE/g}$.

Em relação ao ensaio do radical ABTS, o método consiste em analisar a capacidade dos antioxidantes presentes na amostra capturarem o catião $\text{ABTS}^{*\cdot}$ (com absorvância a 743 nm). Assim, quando ocorre esta reação, verifica-se um decréscimo da absorvância a esse comprimento de onda (Pisoschi *et al.*, 2012). Também nesta metodologia são utilizadas as unidades $\mu\text{mol TE/g}$ para expressar os resultados obtidos.

Para quantificar os compostos fenólicos totais presentes numa amostra, recorre-se ao método *Folin-Ciocalteu*. O reagente, com o mesmo nome, é constituído por uma mistura de fosfomolibdato e fosfotungstato e, ao ser reduzido, na presença de compostos fenólicos da amostra, forma-se um complexo de cor azul, que absorve a 765 nm (Almeida *et al.*, 2011). Os resultados são normalmente expressos em g ácido gálico equivalentes/kg (g GAE/kg).

2.6.3. Ocratoxina A

2.6.3.1. Caracterização geral das micotoxinas

As micotoxinas são metabolitos secundários tóxicos produzidos maioritariamente por fungos filamentosos dos géneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (Pereira *et al.*, 2012) e que podem ter efeitos tóxicos para os animais e seres humanos mesmo em reduzidas concentrações. Existem vários tipos de micotoxinas, sendo as mais relevantes: as aflatoxinas (AFs), as fumonisinas (FMs), os tricotecenos (TCTs), a zearalenona (ZEN) e as ocratoxinas (OTs) (Pereira *et al.*, 2012).

Relativamente às AFs, estas são produzidas pelos fungos *A. flavus* e *A. parasiticus*, que são responsáveis pela produção das aflatoxinas B₁ (AFB₁) e B₂ (AFB₂). A espécie *A. parasiticus*, no entanto, produz também as aflatoxinas G₁ (AFG₁) e G₂ (AFG₂) (Shephard, 2009). Estas toxinas poderão contaminar alimentos como milho, trigo e arroz.

Quanto ao grupo das FMs, estas são produzidas essencialmente pelo fungo *F. verticillioides*, sendo a principal toxina produzida a B₁ (FB₁), ocorrendo em alimentos como o milho (Gilbert *et al.*, 2009).

Em relação aos TCTs, estes são produzidos pelas espécies *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. culmorum* e *F. graminearum*, estando presente maioritariamente em alimentos como cereais. Estas micotoxinas dividem-se em dois grupos:

- Grupo A – inclui toxinas como a T-2 e HT-2, tratando-se do grupo mais comum, e tem como característica o facto de ter um átomo de hidrogénio ou uma cadeia lateral tipo éster na posição C-8 (Alvito, 2014);

- Grupo B – a toxina mais comum é a desoxinivalenol (DON) e tem como característica o facto de conterem uma cetona (Alvito, 2014).

Relativamente à ZEN, esta é produzida pelos fungos *F. culmorum*, *F. graminearum* e *F. crookwellense* (Gilbert *et al.*, 2009). Encontra-se presente em alimentos como cereais e também nozes.

Dentro do grupo das OTs, inclui-se a ocratoxina A (OTA), ocratoxina B (OTB) e ocratoxina C (OTC), sendo que a primeira é a mais frequente e importante para o estudo da prevalência em alimentos (Nogueira *et al.*, 2006).

A exposição humana a micotoxinas ocorre principalmente através da ingestão de alimentos contaminados (Leitão, 2019) mas também pode ocorrer, em menor escala, através da inalação e contacto dérmico. As micotoxinas podem contaminar uma vasta gama de alimentos como cereais, cacau, café, especiarias e frutos secos (Pereira *et al.*, 2011). Mais recentemente, foi detetada a sua presença em água engarrafada (Mata *et al.*, 2014).

As micotoxinas podem ser classificadas quanto: à sua estrutura química, género do fungo produtor, toxicidade, sintomas e doenças causados em humanos e animais (Pleadin *et al.*, 2019). Relativamente à sua estrutura química, estes compostos poderão ser ciclopeptídeos, policetoácidos, terpenos e metabolitos nitrogenosos (Ferrante *et al.*, 2012). Quanto à sua origem, estes compostos dividem-se em micotoxinas de campo e micotoxinas de armazenamento (como por exemplo a ocratoxina A) (Pleadin *et al.*, 2019). Em relação à sua carcinogenicidade, as micotoxinas dividem-se em três grupos como exemplificado na

Tabela 5.

Tabela 5 - Classificação das micotoxinas quanto à sua carcinogenicidade de acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Cancro (IARC).

Grupos	Definição	Exemplos de micotoxinas
1	Carcinogénica para humanos	Aflatoxinas (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂)
2B	Possivelmente carcinogénica para humanos	OTA, FB ₁
3	Não é classificável quanto à sua carcinogenicidade para humanos	Toxina T-2, DON, ZEN

Fonte: IARC, 2012.

As micotoxinas podem afetar a saúde humana e animal possuindo efeitos nefrotóxicos, neurotóxicos, hepatotóxicos, estrogénicos, citotóxicos, de supressão imunitária e, para além disto, ainda podem provocar problemas respiratórios e induzir à rejeição de comida e vómito (Pleadin *et al.*, 2019).

Apesar de existirem outras fontes de exposição, os cereais e derivados são a principal fonte da exposição humana a micotoxinas, sendo que o grau de contaminação depende de fatores como: a temperatura ambiente, o teor de humidade, a atividade da água, o pH, a

humidade relativa, o conteúdo em oxigénio bem como os danos físicos do alimento (Pleadin *et al.*, 2019).

2.6.3.2. Caracterização da ocratoxina A

A OTA foi pela primeira vez isolada e descrita em 1965, na África do Sul, em farinha de milho (Merwe *et al.*, 1965). É produzida por fungos do género *Aspergillus* (em regiões tropicais e subtropicais) e do género *Penicillium* (em ambientes com temperaturas mais baixas) e trata-se de um composto cristalino incolor, apresentando a estrutura química da **Figura 11**. A OTA consiste no aminoácido fenilalanina e uma di-hidroisocumarina ligados por uma ligação peptídica (Benites *et al.*, 2017). A OTA

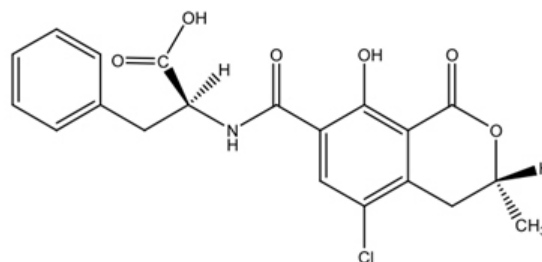


Figura 11 - Estrutura Química da Ocratoxina A.

apresenta normalmente um pKa de 7,1, sendo que esta é solúvel em solventes orgânicos polares, quando presente em meio ácido ou neutro, e é solúvel na generalidade das soluções alcalinas (El Khoury *et al.*, 2010). Esta micotoxina apresenta ainda uma elevada estabilidade em meios ácidos e em meios com temperaturas elevadas, o que dificulta a sua eliminação em alimentos. Elevados teores de humidade (20-25%), elevados teores de humidade relativa (70-90%) e temperaturas elevadas (22-33 °C) são condições ótimas para favorecer o desenvolvimento de fungos produtores destas toxinas (Drunday *et al.*, 2013). A OTA poderá sofrer transformações e originar metabolitos menos tóxicos ou até sem qualquer toxicidade, como por exemplo a Ocratoxina α cuja toxicidade reduziu 100 vezes (Bittner *et al.*, 2015), enquanto que noutras situações, poderá originar metabolitos com maior toxicidade, como por exemplo a OP-OTA (Leitão, 2019).

2.6.3.3. Contaminação do Café

A contaminação de OTA em grãos de café deve-se, essencialmente a fatores como a temperatura e a humidade, nomeadamente deficientes condições de secagem e armazenamento dos grãos. Durante a colheita, o contacto prolongado com o solo favorece também a contaminação com fungos produtores de toxinas (Nogueira *et al.*, 2006). Verifica-se que a torrefação poderá reduzir os teores de OTA, uma vez que a OTA irá sofrer transformações dando origem ao metabolito Ocratoxina α (menos tóxico), contudo não é garantido que se consiga atingir valores inseridos nos limites legais (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para o café torrado na União Europeia) (Bittner *et al.*, 2015).

Desta forma, de modo a evitar-se a contaminação fúngica dos grãos, deve ter-se especial atenção no período da colheita e no pós-colheita. Relativamente à colheita, deve-se evitar colher frutos do solo bem como proceder à separação de frutos danificados dos que estão em boas condições (Vieira *et al.*, 2015). Quanto ao pós-colheita, é necessário evitar o contacto com o solo em etapas como a secagem, devendo esta etapa ocorrer o mais rapidamente possível. No entanto, a etapa crítica para o desenvolvimento de fungos é o armazenamento, devendo-se garantir que a temperatura não exceda os 26 °C e que a humidade relativa se encontre entre 50 e 75% (Vieira *et al.*, 2015).

Uma vez que o consumo de café, a nível mundial, é elevado, convém quantificar a presença de OTA nesta matriz pois 12% dos casos de intoxicação por OTA são causados pelo consumo de café, sendo esta via considerada como a terceira maior fonte de intoxicação por OTA (Benites *et al.*, 2017). Drunday *et al.* (2012) efetuaram análises a 5 amostras de café verde e 24 de café torrado, verificando-se que a concentração de OTA é quase seis vezes superior no café verde.

2.6.3.4. Efeitos na Saúde

A toxicidade da OTA varia consoante a espécie de fungo produtor sendo a exposição a este composto associada a efeitos nefrotóxicos, hepatotóxicos, neurotóxicos, teratogénicos e de supressão imunitária em diversas espécies de animais (El Khoury *et al.*, 2010). Verifica-se que a OTA tem essencialmente efeitos nefrotóxicos e hepatotóxicos, sendo os rins o principal órgão afetado (Gekle *et al.*, 2005). Uma vez que os estudos sobre a relação entre a exposição à OTA e o cancro em humanos não foram conclusivos, a IARC (1993) considerou esta micotoxina possivelmente carcinogénica, estando classificada no grupo 2B (El Khoury *et al.*, 2010).

2.6.3.5. Determinação Analítica

O Regulamento (CE) n.º 1881/2006 estabelece o teor máximo legal para a OTA na União Europeia em café torrado de 5 µg/kg, não estando estabelecido um limite para o café verde. Não existem valores máximos legislados na América, mas existem no Brasil (10 µg/kg) e Ásia (5 µg/kg na China e Coreia em grãos e na Malásia e Indonésia em café torrado) (Romer Labs, 2016). A Norma EN 14132 seleciona a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) como método de referência para a determinação de OTA em café torrado (EN 14132, 2009).

Para além do método de referência para a análise da OTA, poderá recorrer-se ainda a outros métodos. No âmbito dos métodos cromatográficos, inclui-se a cromatografia em camada fina (TLC), contudo o limite de deteção deste método torna-o inadequado (El Khoury *et al.*, 2010). Podem-se utilizar métodos imunológicos como o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), sendo este um método rápido, fácil e que permite processar várias amostras ao mesmo tempo. Este método consiste na interação entre o antigénio e o anticorpo. Contudo, a especificidade do anticorpo poderá levar a que este reaja com moléculas relacionadas com a OTA originando valores sobrestimados (El Khoury *et al.*, 2010). Por fim, pode-se recorrer à cromatografia líquida-espectrometria de massa (LC-MS), sendo que, após a amostra ser vaporizada e ionizada, os iões entram num campo magnético onde irão sofrer um desvio consoante a sua carga e a sua massa. Esta técnica é uma combinação da metodologia HPLC com a espectrometria de massa, contudo, apesar de ser um método sensível, acaba por se tornar um método caro e que necessita de pessoas especializadas para utilizar o equipamento (Labmate, 2014).

3. METODOLOGIA DE PESQUISA

Para contribuir para o estudo da qualidade do grão de café da Gorongosa, foi realizada uma pesquisa bibliográfica inicial baseada em diferentes tópicos e subtópicos gerais associados ao tema do café utilizando como motores de busca *PubMed*, *ScienceDirect*, *Scopus* e *Springer* e aplicando as palavras-chave indicadas na **Tabela 6**.

Tabela 6 - Palavras-chave utilizadas para a pesquisa geral sobre qualidade do café.

Tópicos	Subtópicos	Palavras-chave			
Contexto Histórico	-	<i>coffee history</i>		<i>coffee origin</i>	
Produção e Consumo	Produção	<i>coffee production</i>		<i>coffee economic impact</i>	
	Consumo	<i>coffee consumption</i>		<i>coffee consumption portugal</i>	
O Cafeeiro	Caracterização Botânica	<i>coffee botanical description</i>			
	Principais Espécies	<i>coffee species</i>		<i>coffee arabica</i>	<i>coffee canephora</i>
Tecnologias e Processamento	Colheita e Seleção	<i>coffee technology</i>	<i>processing coffee</i>	<i>coffee dry method</i>	<i>coffee wet method</i>
	Via Húmida				
	Via Seca				
Caracterização Física, Química e Sensorial	-	<i>green coffee/ physical characterization</i>		<i>roasted coffee/ physical characterization</i>	
	-	<i>green coffee/ chemical characterization</i>		<i>roasted coffee/ chemical characterization</i>	
	-	<i>green coffee/ sensory characterization</i>		<i>roasted coffee/ sensory characterization</i>	
Parâmetros de Qualidade	Cafeína	<i>caffeine green coffee</i>		<i>caffeine roasted coffee</i>	
		<i>caffeine health</i>			
		<i>caffeine detection</i>		<i>caffeine method</i>	
	Potencial Antioxidante	<i>antioxidant activity coffee</i>			
		<i>antioxidant activity health</i>			
		<i>antioxidant activity detection</i>		<i>antioxidant activity method</i>	
	Ocratoxina A	<i>mycotoxins</i>			
		<i>ochratoxin A</i>			
		<i>ochratoxin A coffee</i>			
		<i>ochratoxin A health</i>			
<i>ochratoxin A detection</i>		<i>ochratoxin A method</i>			

Foi efetuada posteriormente uma segunda pesquisa, utilizando os mesmos motores de busca, mas desta vez focada nos estudos dos parâmetros de qualidade do café, nomeadamente, teor de cafeína, potencial antioxidante (atividade antioxidante e compostos fenólicos totais) e teor de ocratoxina A em grãos de café Arábica verdes e torrados. Desta forma, pesquisaram-se as seguintes palavras-chave para cada um destes parâmetros (**Tabela 7**).

Tabela 7 - Palavras-chave utilizadas para a pesquisa específica sobre os parâmetros de qualidade do café

Parâmetro		Palavras-chave	
Teor de Cafeína		<i>Caffeine green coffee arabica beans</i>	<i>Caffeine roasted arabica coffee beans</i>
Potencial Antioxidante	Atividade Antioxidante	<i>Antioxidant activity green coffee arabica beans</i>	<i>Antioxidant activity roasted coffee arabica beans</i>
	Compostos fenólicos totais	<i>Total phenolic content green coffee arabica beans</i>	<i>Total phenolic content roasted coffee arabica beans</i>
Teor de Ocratoxina A		<i>Ochratoxin A green coffee arabica beans</i>	<i>Ochratoxin A roasted coffee arabica beans</i>

A **Figura 12** ilustra a metodologia de seleção da bibliografia usada neste trabalho, correspondente aos últimos 10 anos (2010 a 2020), a nível mundial, por forma a garantir a atualização da temática abordada.

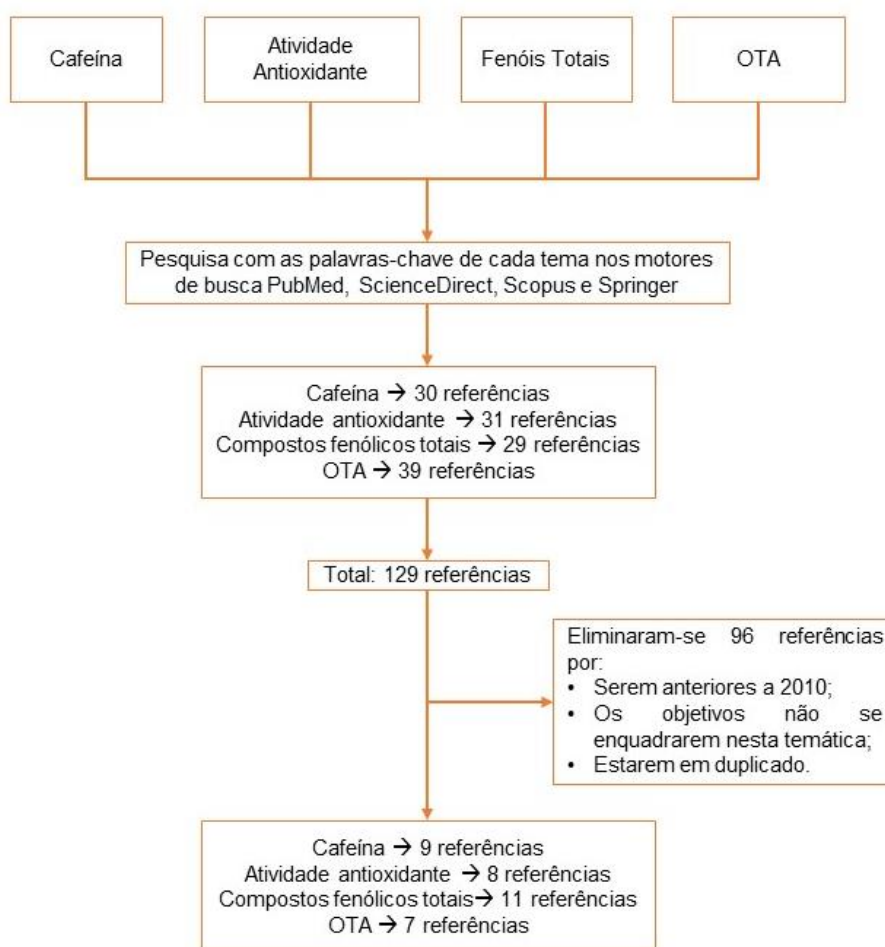


Figura 12 - Diagrama correspondente à metodologia de pesquisa de resultados.

Depois de selecionadas as referências e analisada a informação disponível, agruparam-se os resultados em diferentes tabelas consoante os parâmetros de qualidade analisados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Teor de Cafeína

Relativamente ao parâmetro “Teor de Cafeína”, os resultados encontram-se agrupados na **Tabela 8** referindo as características das amostras, metodologias utilizadas e concentração de cafeína nas amostras para cada estudo identificado na pesquisa efetuada.

Tabela 8 - Estudos sobre o teor de cafeína em grãos de café Arábica.

Amostras		Metodologia	Resultados		Referência	
Origem	Grau de Moenda		Condições das Amostras			Concentração média de cafeína (g/kg)
Indonésia	Em pó	HPLC – UV	Café Verde		0,97±0,09	Acidri <i>et al.</i> , 2020
			Café Torrado		1,30±0,13	
Brasil; Congo; Guatemala; Honduras; Laos; Peru		LC – MS	Café Verde		10,1 - 13,9	Jeszka-Skowron <i>et al.</i> , 2020
			Café Torrado		9,68 - 10,73	
Tailândia		HPLC – PDA	Grãos secos com "Heat pump dryer"	40°C - 23h	12,6±0,2	Kulapichitr <i>et al.</i> , 2019
				45°C - 16h	12,0±1,2	
			Grãos secos com "Tray dryer"		12,2±1,0	
			Grãos secos ao Sol		12,1±0,4	
Brasil, Colômbia, Costa Rica, Etiópia, Guatemala, Honduras, Índia, Quênia, México, Nicarágua, Ruanda, Uganda e Vietname		LC – MS	Café Verde		19,9±5,1	Caporaso <i>et al.</i> , 2018
Etiópia (Abosto, Gedeo e Wendogenet)	0,3 mm	Espectroscopia de Fluorescência	Café Verde	Abosto	9,5±0,04	Yisak <i>et al.</i> , 2018
	Gedeo			10,1±0,04		
	Wendogenet			9,8±0,02		
Brasil		HPLC - PDA	Café Verde		36,2±2,2	Jeszka-Skowron <i>et al.</i> , 2016
Laos					38,5±1,8	
China					34,1±1,7	
Ruanda					34,1±2,5	
Brasil	2 mm	LC – MS	Café Verde		1,20±0,10	Babova <i>et al.</i> , 2016
Colômbia					1,03±0,03	
México					0,99±0,07	
Peru1					1,18±0,06	
Peru2					1,01±0,003	
Guatemala					1,00±0,02	
Honduras1					1,02±0,09	
Honduras2					1,08±0,07	
Honduras3					1,09±0,03	
Honduras4					1,06±0,06	
Honduras5					1,01±0,03	
Quênia1					0,96±0,05	
Quênia2					0,81±0,04	
Quênia3		0,79±0,03				
Etiópia				0,92±0,11		
		HPLC – UV	Café Torrado		9,96±0,08	Belguidoum <i>et al.</i> , 2014
México		Extração em Fase sólida - Injeção em fluxo	Grão Planchuela	Verde	4,23±0,21	Salinas-Vargas <i>et al.</i> , 2014
				Torra Muito Clara	8,00±0,15	
				Torra Clara	6,40±0,12	
				Torra "Italiana"	9,36±0,58	
				Torra "Cuba"	8,04±0,28	
			Torra "Açúcar"	7,11±0,09		
			Grão Caracolillo	Verde	4,06±0,22	
	Torra Clara	6,95±0,53				

Legenda: HPLC – Cromatografia líquida de alta performance; UV – Ultravioleta; LC – MS – Cromatografia líquida – Espectrometria de massa; PDA – Detetor diodos.

A análise da **Tabela 8** revelou que são usados vários métodos de determinação de cafeína, nomeadamente, HPLC-UV, LC-MS, HPLC-Detector de Diodos, espectroscopia de fluorescência e extração em fase sólida – injeção em fluxo. Uma vez que a cafeína é um composto naturalmente presente no café e não é prejudicial para a saúde, não existe legislação relacionada com o teor máximo permitido deste analito nas amostras de café e, consequentemente, a grande maioria das metodologias utilizadas para a determinação da cafeína em estudos científicos não se encontram validadas.

Analisando os resultados dos vários estudos obtidos na pesquisa, verificou-se que as concentrações de cafeína do café verde e do café torrado variaram, respetivamente, entre 0,79-38,5 g/kg e 1,30-9,96 g/kg, valores que diferem em relação aos valores de referência segundo Farah (2012) para a cafeína em grãos arábica verdes e torrados (9-13 g/kg e 11-13 g/kg, respetivamente). Com estes resultados obtidos, construíram-se representações gráficas do teor da cafeína dos diferentes estudos de forma a serem mais perceptíveis as variações (**Figuras 13 e 14**).

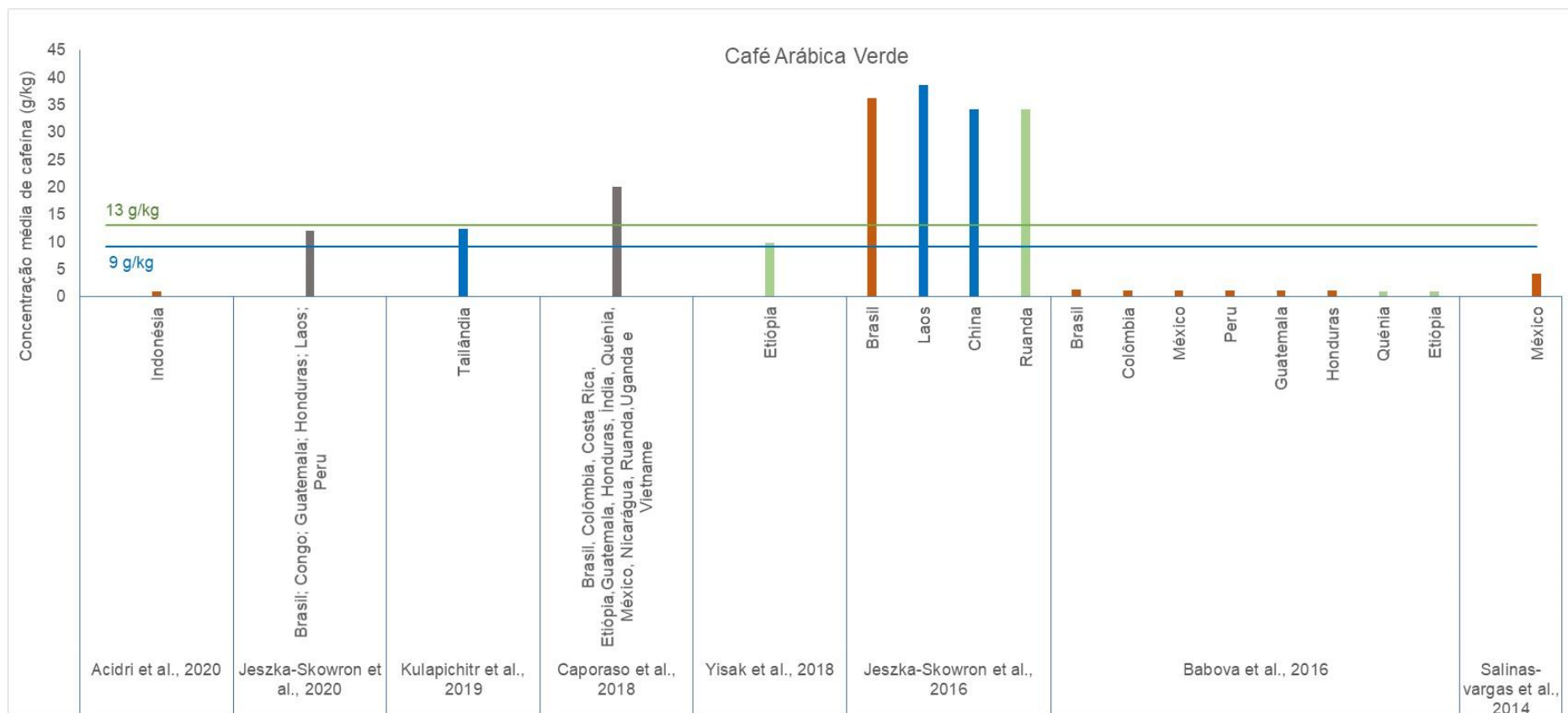


Figura 13 – Representação gráfica da concentração média de cafeína em grãos de café arábica verdes, incluindo os valores mínimo (9 g/kg) e máximo (13 g/kg) considerados como referência.

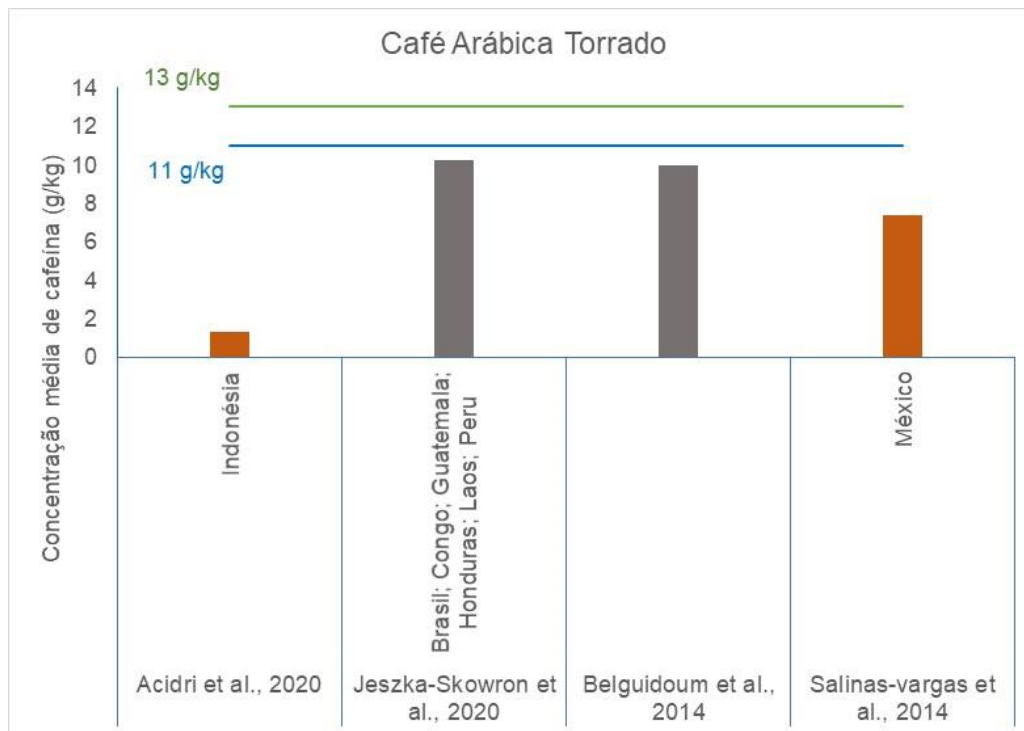


Figura 14 - Representação gráfica da concentração média de cafeína em grãos de café arábica torrados, incluindo os valores mínimo (11 g/kg) e máximo (13 g/kg) considerados como referência.

Através da **Figura 13** verificou-se que apenas os resultados do teor de cafeína obtidos por Jezska-Skowron *et al.* (2020), Kulapichitr *et al.* (2019) e Yisak *et al.* (2018) se encontram dentro dos limites dos valores de referência. Observou-se também que os resultados obtidos por Jezska-Skowron *et al.* (2016) são muito elevados em comparação com os restantes. Caporaso *et al.* (2018) obtiveram também valores superiores aos limites dos valores de referência embora menores do que os autores anteriores. Os restantes resultados encontram-se bastante abaixo do valor mínimo de referência (Babova *et al.*, 2016; Salinas-Vargas *et al.*, 2014).

Quanto aos resultados obtidos para os grãos de café torrados, verificou-se que Acidri *et al.* (2020) obtiveram valores muito abaixo do valor mínimo de referência para os grãos de café torrados (**Figura 14**). Uma vez que o teor de cafeína presente nos grãos depende da gestão da cultura no campo, não se consegue verificar se o café verde tem sempre menor teor de cafeína do que o café torrado se as amostras estudadas não se desenvolveram todas sob as mesmas condições. Para que se pudesse concluir o efeito da torra no teor de cafeína seria necessário efetuar ensaios de determinação utilizando o mesmo lote de café verde, que posteriormente seria torrado.

As diferentes origens dos grãos de café verde referidas na **Tabela 8** são representados na **Figura 15** para melhor análise.

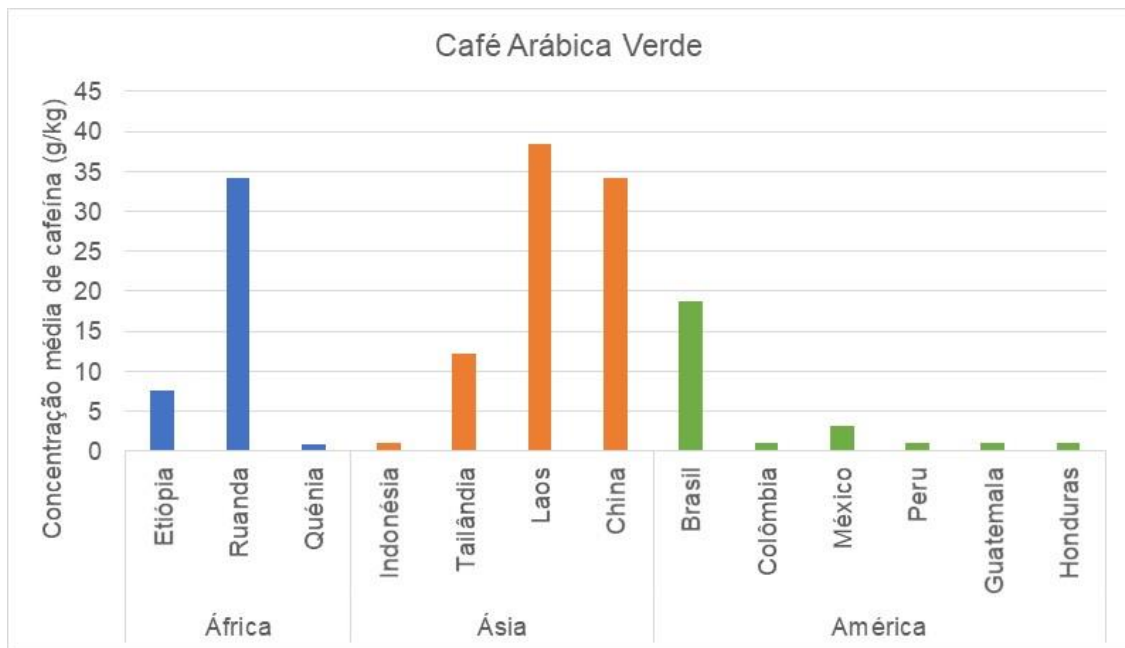


Figura 15 - Representação gráfica dos teores de cafeína de grãos de café arábica verdes em função da sua origem.

De acordo com a **Figura 15**, constatou-se que as amostras de café verde provenientes de África apresentaram uma variação entre 0,79 e 34,1 g/kg, as da Ásia entre 0,97 e 38,5 g/kg e as da América de 0,99-36,2 g/kg. Os estudos de Jeszka-Skowron *et al.* (2020) e Caporaso *et al.* (2018) utilizam misturas de cafés de diferentes origens não permitindo uma caracterização do café segundo a sua origem (valores não apresentados na figura 15). Verificou-se que os grãos provenientes da Ásia foram os que apresentaram maior teor de cafeína. No entanto, uma vez que houve resultados para um mesmo país que apresentaram entre si uma grande discrepância (por exemplo na **Tabela 8**, para o Brasil Babova *et al.* (2016) obtiveram resultados na ordem de 1 g/kg e Jeszka-Skowron *et al.* (2016) na ordem dos 36 g/kg) não é possível tirar conclusões relativamente à influência da origem no teor da cafeína, com base nestes resultados.

Em relação à influência da torra no teor de cafeína, verificou-se que, de acordo com Salinas-Vargas *et al.* (2014), este não sofreu grandes variações provavelmente devido à estabilidade térmica da cafeína (**Figura 16**).

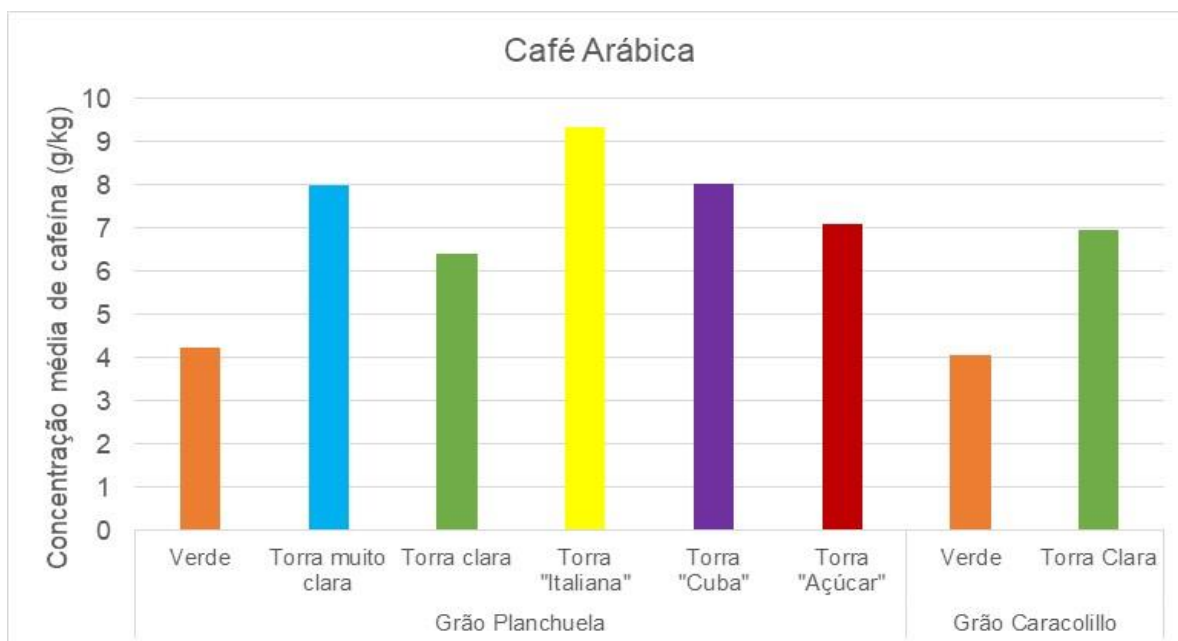


Figura 16 - Influência da torra no teor de cafeína de duas variedades de café arábica (Salinas-Vargas et al., 2014)

(**Legenda:** Torra "Italiana" – Torra intensa; Torra "Cuba" – Torra mais intensa do que a "Italiana"; Torra "Açúcar" – grãos torrados com açúcar, resulta uma torra mais intensa do que a "Cuba").

Constatou-se, também, que não existe uma tendência crescente nem decrescente do teor de cafeína à medida que aumenta o grau de torra (sendo o grau "torra muito clara" o de menor teor de cafeína e "torra Italiana", o maior), notando-se apenas algumas oscilações entre os diferentes graus de torra. Estas oscilações poderão ser justificadas pelo facto de que, com a torra, o grão perde água aumentando assim a concentração da cafeína, como por exemplo, no grão Planchuela, entre a torra clara e a torra "Italiana". Quanto às reduções do teor de cafeína, podem ser justificadas pelo facto de sofrer sublimação a 178°C, como se verifica no grão Planchuela entre a torra "Italiana" e a torra "Cuba" (Spiller, 2013; Preedy, 2012). Salinas-Vargas *et al.* (2014) verificaram ainda, que, a variedade de grão também influencia o teor de cafeína uma vez que, analisando os grãos sujeitos a torra clara, o grão Caracolillo apresentou superior concentração de cafeína do que o grão Planchuela (apesar de se verificar o oposto nos grãos em fase verde). A percentagem de humidade dos grãos verdes também poderá ser um fator de variação no teor de cafeína, visto que a torra leva à perda de humidade.

Os resultados de Acidri *et al.* (2020), apresentados na **Tabela 8** mostraram também que a torra tem pouca influência no teor de cafeína, pois a torra apenas aumentou o teor de cafeína de $0,97 \pm 0,09$ g/kg para $1,30 \pm 0,13$ g/kg, demonstrando assim alguma estabilidade térmica da cafeína. De notar, no entanto, que este estudo não utilizou as mesmas amostras de café verde e torrado, não sendo possível tirar conclusões definitivas sobre a variação do teor de cafeína nos grãos em relação ao grau de torra.

Jeszka-Skowron *et al.* (2020) concluíram que a torra pode favorecer a extração de cafeína devido às perdas de água e à formação de CO₂ e de compostos voláteis, contudo os valores da concentração de cafeína obtidos por esta autor foram superiores para os grãos verdes, o que poderá ser justificado pelo facto de serem utilizados diferentes lotes de café. A perda de cafeína com a torra, ainda que pouco significativa, poderá dever-se à sublimação. Neste estudo obteve-se resultados entre 10,1-13,9 g/kg e 9,68-10,73 g/kg para os grãos de café verdes e torrados, respetivamente.

Através dos resultados de Kulapichitr *et al.* (2019) constatou-se a natureza estável da cafeína, uma vez que os resultados estão de acordo com a bibliografia e variaram entre 12,0 e 12,6 g/kg para os diferentes tipos de secagem.

Os resultados obtidos, para o teor de cafeína, por Yisak *et al.* (2018) estão de acordo com o valor publicado por Farah (2012), e o autor concluiu ainda que a percentagem de recuperação e a reprodutibilidade do método utilizado (Espectroscopia de Fluorescência) são semelhantes às de métodos cromatográficos, como LC-MS e HPLC.

Babova *et al.* (2016) obtiveram resultados para café verde entre 0,79-1,20 g/kg, bastante inferiores aos valores esperados, mesmo utilizando a mesma metodologia que outros autores (LC-MS). Poderá ser uma justificação o grau de moenda dos grãos utilizados pelo autor (2 mm), podendo estas partículas serem demasiado grandes para que toda a cafeína seja extraída.

Quanto aos resultados obtidos por Belguidoum *et al.* (2014), verificou-se um valor de 9,96±0,08 g/kg para grãos de café torrados, valor ligeiramente inferior ao valor de referência (Farah, 2012).

4.2. Potencial Antioxidante

Quanto ao parâmetro de qualidade “Potencial Antioxidante”, selecionaram-se artigos relativamente à determinação da atividade antioxidante (**Tabela 9**) e à determinação dos compostos fenólicos totais (**Tabela 10**).

Tabela 9 – Estudos sobre a atividade antioxidante em grãos de café Arábica.

Amostras		Metodologia	Resultados		Referência		
Origem	Grau de Moenda		Condições das Amostras	Atividade antioxidante total			
Indonésia	Em pó	DPPH	Café verde	199,7±16,1	µmol TE/g	Acidri <i>et al.</i> , 2020	
			Café torrado	337,0±22,2			
		ABTS	Café verde	220,7±22,4	µmol TE/g		
			Café torrado	325,5±81,0			
		FRAP	Café verde	974,2±83,4	µmol TE/g		
			Café torrado	1104,4±323,3			
Colômbia <i>El Colibri Amarillo</i>	Pó fino	DPPH	Grão verde	62,28±0,78	%	Bobková <i>et al.</i> , 2020	
Grão torra clara			75,22±1,34				
Grão torra média			68,48±1,55				
Grão torra escura			61,38±1,33				
Colômbia <i>El Colibri Rojo</i>			Grão verde	62,23±1,27			
Grão torra clara			77,68±0,96				
Grão torra média			70,17±1,07				
Grão torra escura			61,14±0,72				
Índia Bababudangiri			Grão verde	62,25±1,57			
Grão torra clara			75,18±0,69				
Grão torra média			62,98±1,04				
Grão torra escura			55,76±2,30				
Índia Malabar			Grão verde	65,83±0,75			
Grão torra clara			74,53±1,26				
Grão torra média			61,01±0,72				
Grão torra escura			50,17±1,47				
Etiópia Sidamo			Grão verde	63,13±1,70			
Grão torra clara			78,55±0,89				
Grão torra média			72,49±1,75				
Grão torra escura			59,15±1,33				
Etiópia Yirgacheffe			Grão verde	64,95±1,16			
Grão torra clara			76,40±1,34				
Grão torra média			61,00±1,54				
Grão torra escura			55,67±1,23				
Etiópia Yirgacheffe Kochere	Grão verde	71,34±1,42					
Grão torra clara	77,28±0,73						
Grão torra média	65,45±0,83						
Grão torra escura	60,87±1,13						
Brasil	-	ABTS	Grãos torrados a 220°C	Torra clara (17 min)	952,07±7,63	µmol TE/g	Dybkowska <i>et al.</i> , 2017
Colômbia				Torra média (20 min)	963,15±2,74		
				Torra escura (24 min)	973,43±3,63		
				Torra clara (17 min)	1010,62±4,94		
Etiópia				Torra média (20 min)	1083,43±2,37		
				Torra escura (24 min)	1130,87±2,37		
				Torra clara (17 min)	1028,02±3,63		
Índia				Torra média (20 min)	1103,18±11,95		
				Torra escura (24 min)	1160,14±9,88		
				Torra clara (17 min)	1172,01±4,94		
Brasil				Torra média (20 min)	1206,82±6,28		
				Torra escura (24 min)	1210,77±1,37		
	Torra clara (17 min)	1172,01±4,94					
Ruanda	-	ABTS	Café verde	1514,8±27,9	µmol TE/g	Jeszka-Skowron <i>et al.</i> , 2017	
China				1402,1±80,5			
Laos				1548,9±40,7			
Laos				1348,7±8,5			
Brasil		DPPH		222,4±8,2	µmol TE/g		
Ruanda				213,9±14,0			
China				234,1±18,1			
Laos				161,3±25,7			

Tabela 9 - Estudos sobre a atividade antioxidante em grãos de café Arábica (Continuação).

Amostras		Metodologia	Resultados			Referência			
Origem	Grau de Moenda		Condições das Amostras		Total Atividade Antioxidante				
Brasil	-	DPPH	Amostra G1	Café verde	179,23±1,09	µmol TE/g	Odžakovic <i>et al.</i> , 2016		
				Torra clara (167°C e 25 min)	203,38±4,51				
				Torra escura (175°C e 25 min)	176,44±7,74				
			Amostra G2	Café verde	197,12±3,77				
				Torra clara (167°C e 25 min)	212,08±4,10				
				Torra escura (175°C e 25 min)	201,37±4,63				
			Amostra G3	Café verde	185,10±3,83				
				Torra média (171°C e 26 min)	226,14±4,37				
			Amostra G4	Café verde	192,14±4,48				
				Torra média (171°C e 26 min)	229,42±2,29				
			ABTS	Amostra G1	Café verde			160,67±4,18	µmol TE/g
					Torra clara (167°C e 25 min)			211,03±2,40	
		Torra escura (175°C e 25 min)			179,28±2,35				
		Amostra G2		Café verde	172,05±3,54				
				Torra clara (167°C e 25 min)	215,09±4,55				
				Torra escura (175°C e 25 min)	204,61±3,84				
Amostra G3	Café verde	169,19±2,94							
	Torra média (171°C e 26 min)	223,66±2,60							
Amostra G4	Café verde	192,13±1,78							
	Torra média (171°C e 26 min)	228,79±2,38							
Brasil	< 0,2 mm	DPPH	Café verde	Amostra 1	75,2±4,9	%	Stelmach <i>et al.</i> , 2015		
Índia				Amostra 2	75,2±4,1				
Nicarágua				Amostra 3	75,7±7				
El Salvador				Amostra 4	89,4±1,6				
Etiópia				Amostra 5	71,9±5,1				
Peru				Amostra 6	83,1±1,4				
Guatemala				Amostra 7	67,1±5,9				
Costa Rica				Amostra 8	74,1±0,78				
Colômbia				Amostra 9	59,7±5,2				
Guatemala				Amostra 10	62,8±3,7				
Tailândia				Café verde (Produção Biológica)	Amostra 11			93,3±0,34	
					Amostra 12			72,0±4,5	
Indonésia (Kopi Luwak)	1,77-2,36 mm	FRAP	Grão verde	Grão verde	493,03±31,36	µmol TE/g	Cheong <i>et al.</i> , 2013		
				Grão torrado	377,32±10,67				
Indonésia (Sidikalang)				Grão verde	Grão verde			589,15±20,78	
					Grão torrado			435,57±20,78	
Tailândia				Grão verde	Grão verde			512,56±22,69	
					Grão torrado			315,31±14,98	
China				Grão verde	Grão verde			571,25±39,47	
					Grão torrado			325,30±21,85	
Indonésia (Kopi Luwak)		DPPH (EC ₅₀)	Grão verde	Grão verde	Grão verde	10,08±1,57		g GAE/kg	
					Grão torrado	8,23±0,81			
Indonésia (Sidikalang)					Grão verde	Grão verde			11,17±1,03
						Grão torrado			9,96±2,00
Tailândia					Grão verde	Grão verde			9,53±0,74
						Grão torrado			9,19±0,53
China					Grão verde	Grão verde			10,21±0,42
						Grão torrado			8,80±0,50
Brasil	-	Extração 1	ABTS	Torra clara	749,9±39,95	µmol TE/g	Vignoli <i>et al.</i> , 2011		
				Torra média	840±89,9				
			FRAP	Torra clara	950,1±9,99				
				Torra média	769,91±89,9				
		Extração 2	ABTS	Torra escura	1000,04±19,98	µmol TE/g			
				Torra escura	1109,91±9,99				
				Torra clara	929,72±0,00				
			FRAP	Torra média	940,11±29,97	µmol TE/g			
				Torra escura	990,05±0,00				
				Torra clara	1000,04±0,00				
	Torra média	1230,17±19,98	µmol TE/g						
	Torra escura	1039,99±19,98							

A análise da **Tabela 9** revela que são usadas várias metodologias na determinação da atividade antioxidante, nomeadamente, os métodos dos radicais DPPH e ABTS e o método FRAP. São analisados grãos verdes e torrados de vários países da região Asiática, Africana e da América do Sul, e analisados vários níveis de torra.

Constatou-se que os resultados obtidos para os grãos de café verde pelo método do radical DPPH variaram entre 161,3-222,4 $\mu\text{mol TE/g}$, 62,23-93,3% e 8,23-11,17 g GAE/kg, de acordo com as diferentes unidades em que alguns resultados estavam expressos. Quanto aos grãos de café torrados para a mesma metodologia, constatou-se uma variação entre 203,38-337 $\mu\text{mol TE/g}$, 50,17-78,55% e 8,23-9,96 g GAE/kg. As **Figuras 17** e **18** representam a variação entre os resultados obtidos através do método do radical DPPH segundo os diferentes autores para os grãos de café verdes e torrados (inclui vários graus de torra), respetivamente.

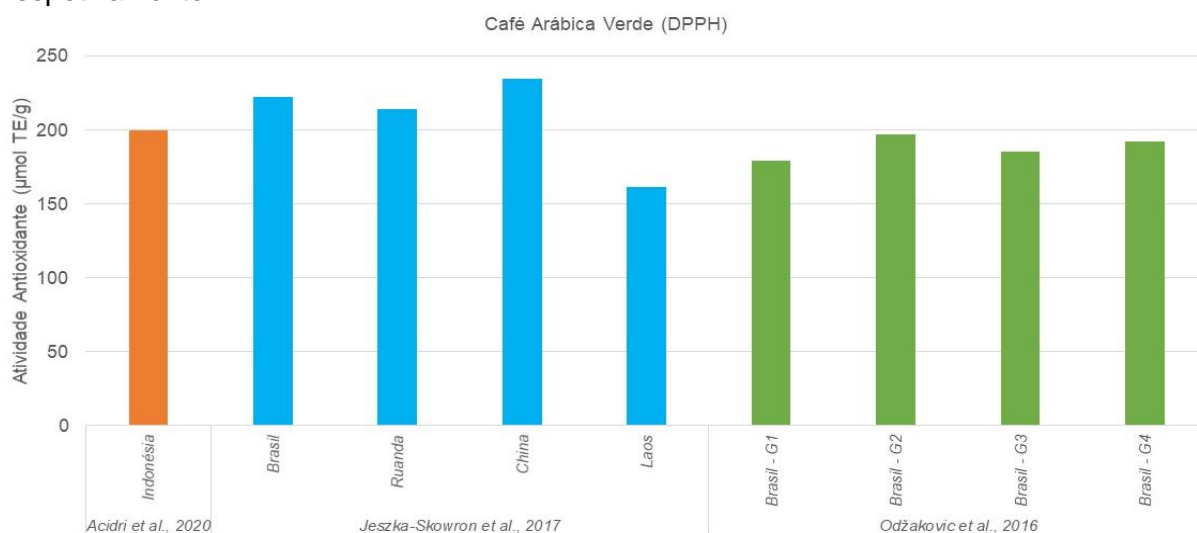


Figura 17 - Representação gráfica dos resultados de atividade antioxidante em grãos de café verdes pelo método do radical DPPH.

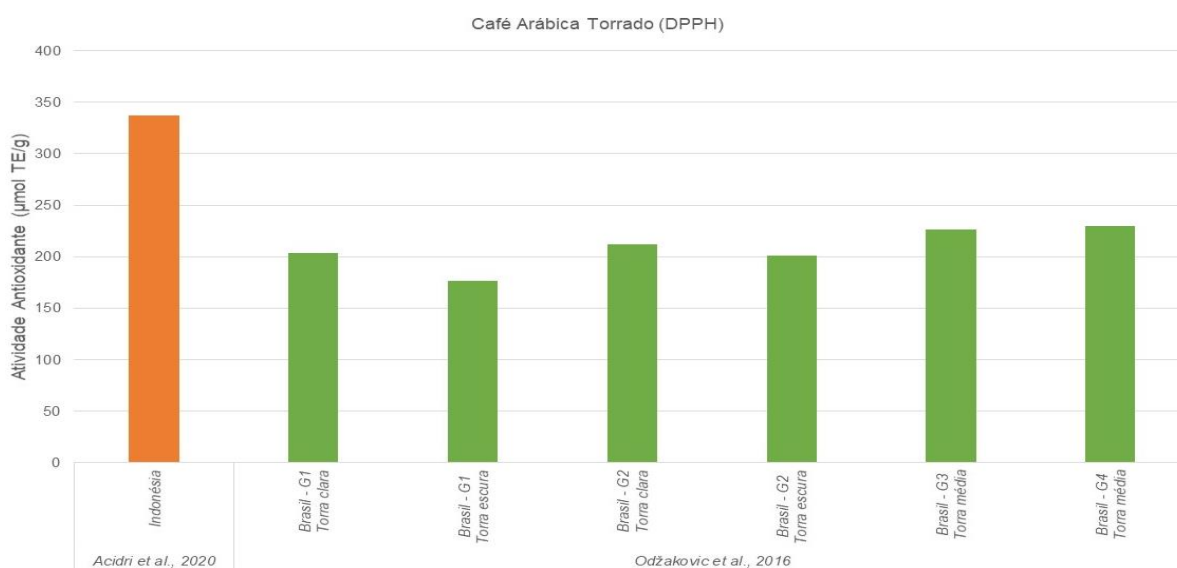


Figura 18 - Representação gráfica dos resultados obtidos de atividade antioxidante em grãos de café torrados pelo método do radical DPPH.

De acordo com as **Figuras 17 e 18**, constata-se que o resultado obtido por *Acidri et al.* (2020) é o que apresenta maior valor antioxidante, para os grãos de café torrados.

Quanto ao método do radical ABTS, verificou-se uma variação de atividade antioxidante entre 220,7-1514,8 $\mu\text{mol TE/g}$ para as amostras de café verde, enquanto que para as amostras de café torrado se registou uma variação situada entre 179,28-1210,77 $\mu\text{mol TE/g}$ (**Figuras 19 e 20**).

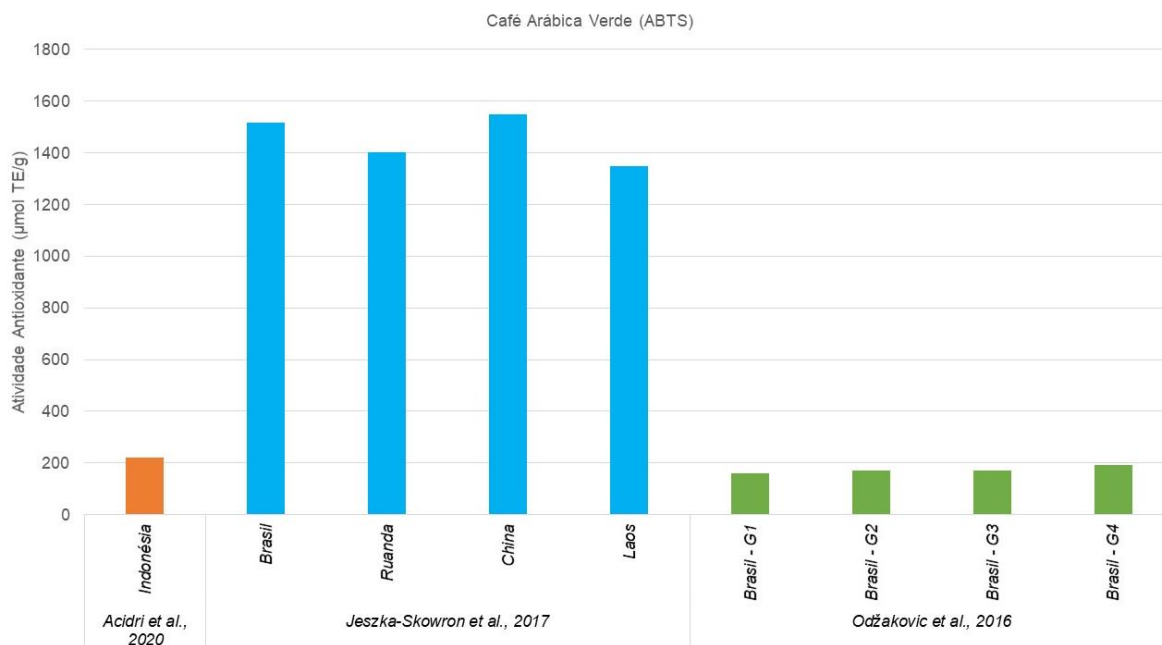


Figura 19 - Representação gráfica dos resultados da atividade antioxidante em grãos de café verdes, pelo método do radical ABTS.

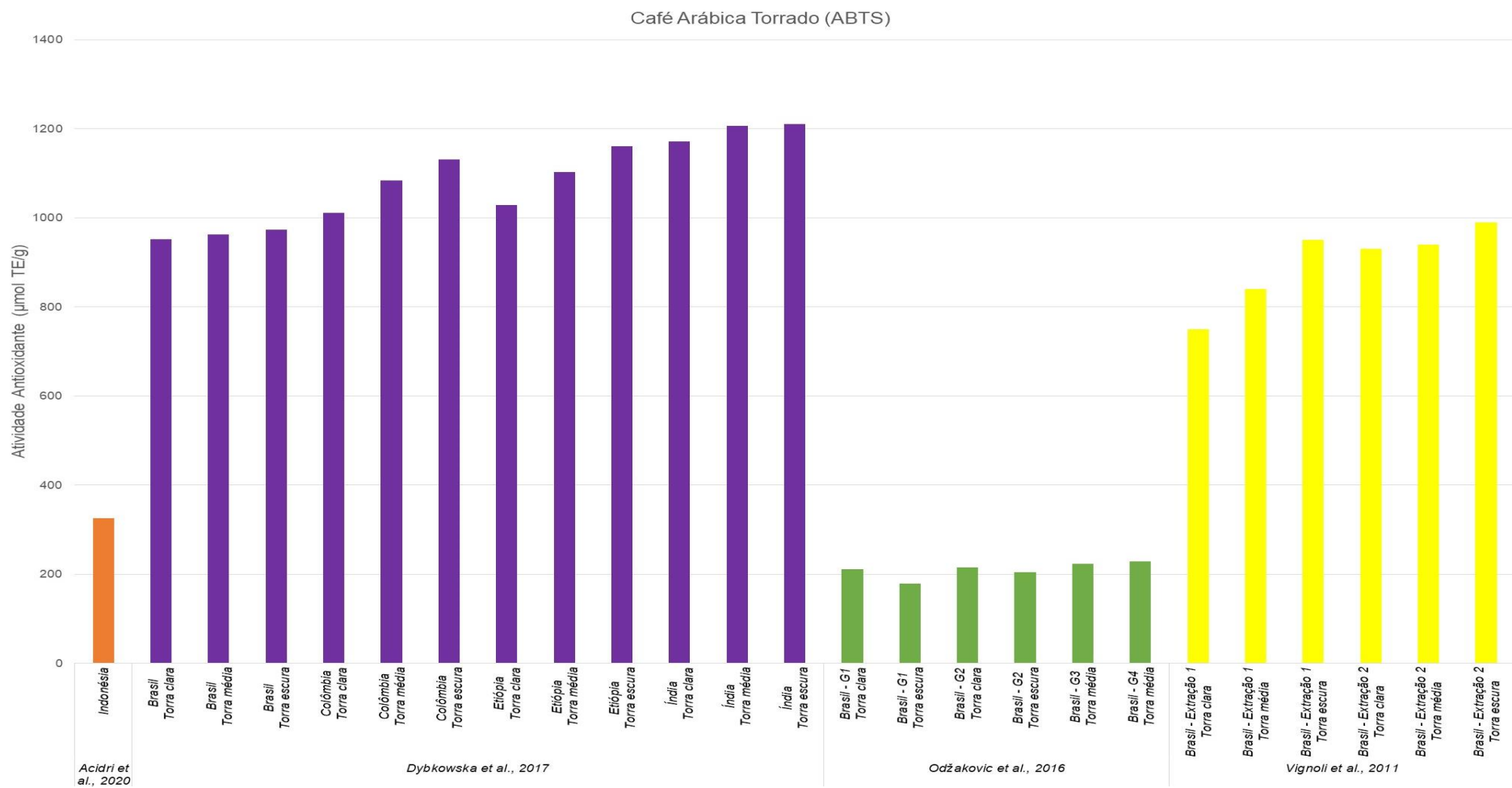


Figura 20 - Representação gráfica dos resultados da atividade antioxidante em grãos de café torrados, pelo método do radical ABTS.

Relativamente aos resultados obtidos para o café verde pelo método do radical ABTS, verifica-se que os obtidos por Jeszka-Skowron *et al.* (2017) são bastante superiores aos restantes (**Figura 19**), enquanto que, para o café torrado, verificaram-se valores superiores nos resultados de Dybkowska *et al.* (2017) e de Vignoli *et al.* (2011) (**Figura 20**).

Quanto ao método FRAP, também em amostras de café verde, verificou-se uma variação entre 493,03-2353,9 $\mu\text{mol TE/g}$ (**Figura 21**) enquanto que em amostras de café torrado se constatou uma variação entre 315,31-1230,17 $\mu\text{mol TE/g}$ (**Figura 22**).

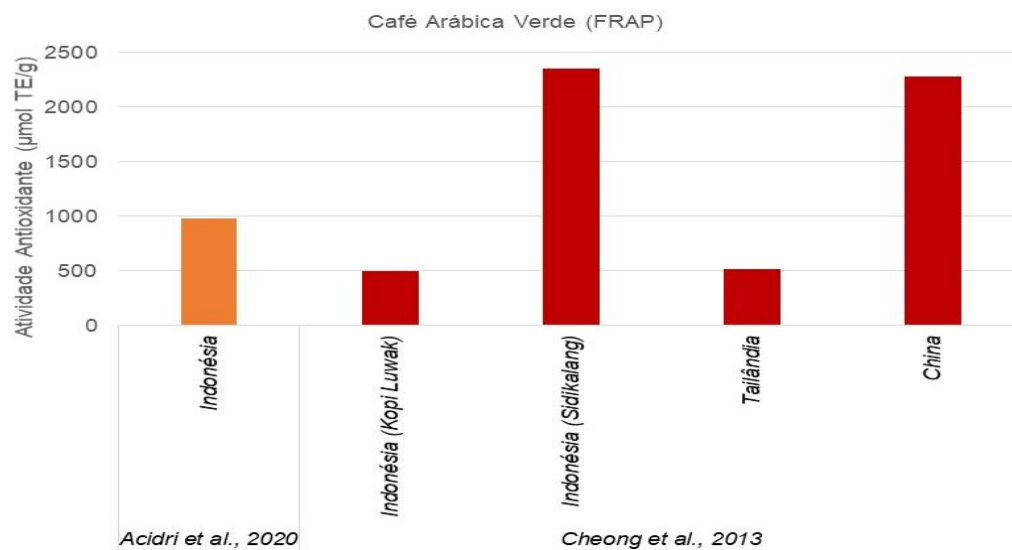


Figura 21 - Representação gráfica dos resultados da atividade antioxidante em grãos de café verdes, por FRAP.

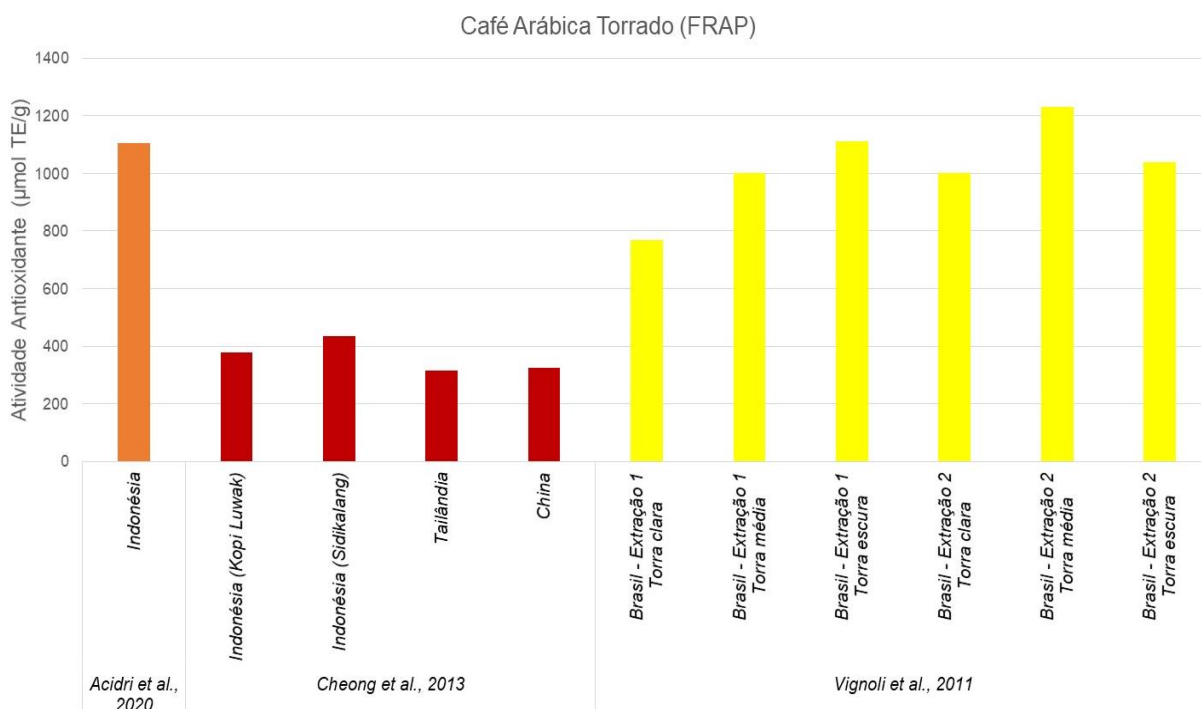


Figura 22 - Representação gráfica dos resultados da atividade antioxidante em grãos de café torrados, por FRAP.

Quanto aos resultados obtidos para os grãos de café verdes por FRAP, verificou-se que Cheong *et al.* (2013) obtiveram dois valores que se destacaram dos restantes (**Figura 21**) e, para os grãos de café torrados, o mesmo autor obteve resultados inferiores aos restantes estudos (**Figura 22**).

De um modo geral verifica-se que a torra tem bastante influência na atividade antioxidante dos grãos de café. Esta etapa, provoca a degradação dos ácidos clorogénicos (principais compostos com potencial antioxidante no café), mas leva à formação de melanoidinas (compostos com ação antioxidante). Assim, verifica-se que se deve optar por um grau de torra que permita manter, ou até elevar, a atividade antioxidante dos grãos, tendo em conta o binómio tempo-temperatura utilizado na torra. Na prática, os graus de torra clara e média demonstraram ser promotores do aumento na atividade antioxidante dos grãos.

De acordo com os resultados obtidos por Acidri *et al.* (2020), verifica-se que, em todas as metodologias utilizadas, a atividade antioxidante foi superior nas amostras torradas. Uma vez que o grau de torra não é especificado, pode-se justificar estes valores devido ao facto de que, apesar da torra favorecer a degradação dos ácidos clorogénicos, esta favorece também a formação de novos compostos como as melanoidinas. Assim, pode-se especular que tenha sido utilizado um grau de torra baixo (como uma torra clara) fazendo com que a taxa de formação de melanoidinas seja superior à taxa de degradação dos ácidos clorogénicos.

Segundo Bobková *et al.* (2020), a torra clara foi a que originou grãos de café com maior atividade antioxidante em todas as amostras analisadas, como se verifica na **Figura 23**.

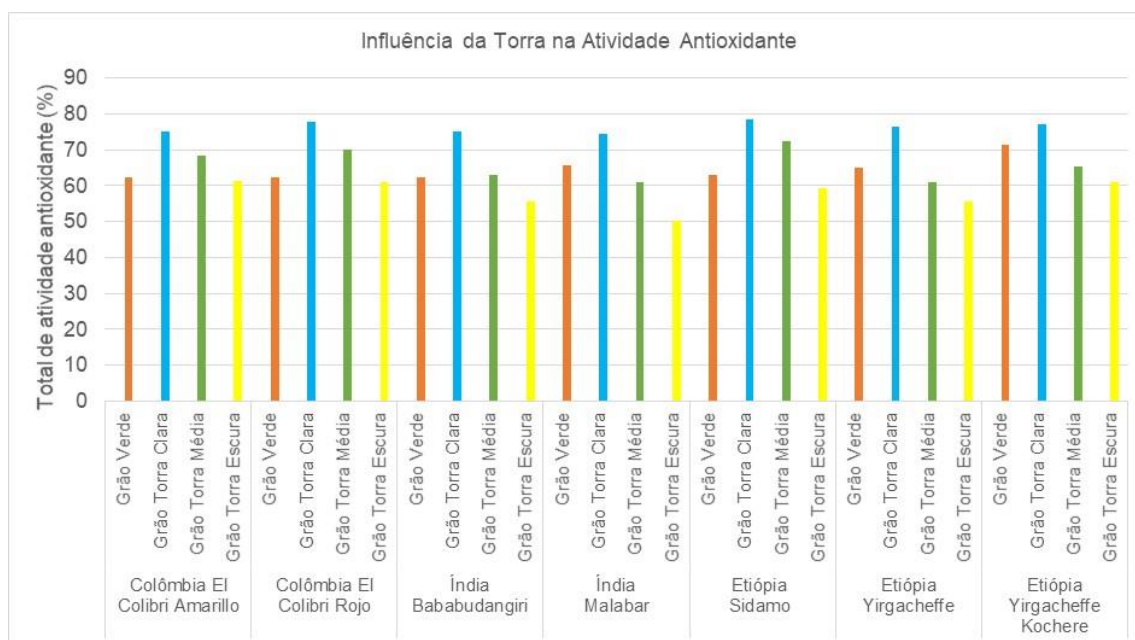


Figura 23 - Representação gráfica da influência da torra na atividade antioxidante dos grãos de café (Bobková *et al.*, 2020).

Verificou-se ainda que a atividade antioxidante nas amostras com as mesmas condições (verde e diferentes graus de torra) apresentavam valores um pouco diferentes, variando entre 62,23-71,34%, 74,53-78,55%, 61,00-72,49% e 50,17-61,38% para os grãos verdes e sujeitos a torras clara, média e escura, respectivamente. Assim, conclui-se que as origens do café poderão ter alguma influência no resultado da atividade antioxidante. Também Dybkowska *et al.* (2017) demonstraram um aumento da atividade antioxidante dos grãos de café estudados com o aumento do grau de torra.

Jeszka-Skowron *et al.* (2017) constataram que as amostras com menor atividade antioxidante, nos métodos dos radicais ABTS e DPPH, foram as provenientes de Laos (1348,7±8,5 e 161,3±25,7 µmol TE/g, respectivamente) e as que apresentaram maior atividade foram as amostras provenientes da China (1548,9±40,7 e 234,1±18,1 µmol TE/g, respectivamente).

Analisando os resultados obtidos por Odžakovic *et al.* (2016), observa-se que as amostras sujeitas a torras a 167 °C (torra clara) e 171 °C (torra média) foram as que apresentaram atividade antioxidante superior, deduzindo-se, assim, que a torra média, a 171 °C, poderá permitir que se preserve a atividade antioxidante do café.

Nos resultados obtidos por Stelmach *et al.* (2015), com o método do radical DPPH, verifica-se que existe uma variação entre 59,7 e 93,3%, constatando-se que a amostra 11 (café obtido através de produção biológica) apresenta o maior valor de atividade antioxidante (talvez devido a ser uma produção mais natural), enquanto que o café proveniente da Costa Rica apresenta o valor mais reduzido.

Cheong *et al.* (2013) utilizaram os métodos FRAP e do radical DPPH, tendo obtido neste último, o EC₅₀ de cada amostra, isto é, a concentração de amostra de café que causa um decréscimo de 50% na absorvância. Deste modo, quanto mais baixo for este valor, maior é a atividade antioxidante. Constatou-se então que, em todas as amostras, a torra potenciou o decréscimo da atividade antioxidante e, uma vez que não é especificado o grau de torra, pode-se admitir que terá sido utilizado um grau de torra elevado fazendo com que a taxa de formação de melanoidinas fosse inferior à taxa de degradação dos ácidos clorogénicos.

Por fim, Vignoli *et al.* (2011) compararam dois métodos de extração:

- método 1 – extração convencional através de percolação;
- método 2 – extração dupla por percolação de dois lotes juntando-se no final 50% de cada extrato obtido.

Estes autores verificaram que os resultados obtidos com os métodos FRAP e do radical ABTS, foram semelhantes para ambas as extrações, contudo, assim como nos resultados de Dybkowska *et al.* (2017), houve um aumento da atividade antioxidante com o aumento do grau de torra, o que poderá ter sido uma consequência dos métodos de extração utilizados (por percolação com água a 180 °C). Estes resultados, parecem contraditórios com

os de Odžakovic *et al.* (2016) que obtiveram um decréscimo da atividade antioxidante obtida através do método do radical ABTS nas amostras com torra escura, contudo, este último autor utilizou uma temperatura de extração bastante inferior (90 °C). Como Vignoli *et al.* (2011) torraram os grãos entre 7-10 min a 214-225 °C podemos deduzir que, uma vez que Odžakovic *et al.* (2016) utilizaram torras mais longas, mas com temperatura mais baixa, e obteve uma inferior atividade antioxidante, talvez o tempo de torra tenha maior influência na atividade antioxidante do que a temperatura. Contudo, teriam que ser realizados mais estudos para se verificar esta hipótese.

Em relação ao teor dos compostos fenólicos totais, os resultados apresentam-se na **Tabela 10**.

Tabela 10 - Estudos sobre o teor dos compostos fenólicos totais em grãos de café Arábica.

Amostras		Metodologia	Resultados		Referência
Origem	Grau de Moenda		Condições das Amostras	Compostos fenólicos totais (g GAE/kg)	
Indonésia	Em pó	Folin-Ciocalteu	Café verde	29,3±1,40	Acidri <i>et al.</i> , 2020
			Café torrado	35,4±1,49	
Colômbia <i>El Colibri Amarillo</i>			Grão verde	53,17±2,99	Bobková <i>et al.</i> , 2020
			Grão torra clara	48,17±1,42	
			Grão torra média	45,26±1,88	
			Grão torra escura	39,10±0,91	
Colômbia <i>El Colibri Rojo</i>			Grão verde	52,30±2,27	
			Grão torra clara	53,31±1,32	
			Grão torra média	43,90±3,07	
			Grão torra escura	41,58±1,41	
Índia Bababudangiri			Grão verde	54,58±0,65	
			Grão torra clara	46,62±6,39	
			Grão torra média	47,30±1,22	
			Grão torra escura	40,53±0,22	
Índia Malabar	Pó fino	Folin-Ciocalteu	Grão verde	59,86±1,06	
			Grão torra clara	38,34±1,26	
			Grão torra média	46,01±3,66	
			Grão torra escura	37,44±0,63	
Etiópia Sidamo			Grão verde	49,19±0,70	
			Grão torra clara	59,79±1,45	
			Grão torra média	50,09±2,45	
			Grão torra escura	47,41±0,69	
Etiópia Yirgacheffe			Grão verde	54,53±1,62	
			Grão torra clara	52,93±1,92	
			Grão torra média	54,40±0,52	
			Grão torra escura	38,82±2,19	
Etiópia Yirgacheffe Kochere			Grão verde	55,45±1,08	
			Grão torra clara	50,15±4,19	
			Grão torra média	51,93±1,21	
			Grão torra escura	42,36±0,97	

Tabela 10 - Estudos sobre o teor dos compostos fenólicos totais em grãos de café Arábica (Continuação).

Amostras		Metodologia	Resultados			Referência				
Origem	Grau de Moenda		Condições das Amostras		Compostos fenólicos totais (g GAE/kg)					
Brasil	0,495 mm	HPLC - UV	Torra clara	Após torra	9,45±0,51	Król <i>et al.</i> , 2020				
				Após armazenamento	1,58±0,003					
			Torra média	Após torra	7,95±0,18					
				Após armazenamento	1,60±0,10					
			Torra escura	Após torra	8,44±1,35					
				Após armazenamento	1,17±0,33					
Brasil	Região Norte	-	Folin-Ciocalteu	Café verde	6,62±0,0083	Neves <i>et al.</i> , 2019				
	Região Sul				6,06±0,0078					
	Região Este				5,15±0,0029					
	Região Oeste				5,46±0,0056					
	Região Central				5,69±0,004					
Brasil	-	Folin-Ciocalteu	Grãos torrados a 220°C	Torra clara (17 min)	39,27±0,13	Dybkowska <i>et al.</i> , 2017				
Colômbia				Torra média (20 min)	34,06±0,69					
				Torra escura (24 min)	29,46±0,45					
				Torra clara (17 min)	39,81±0,37					
Etiópia				Torra média (20 min)	38,43±0,26					
				Torra escura (24 min)	36,89±0,21					
				Torra clara (17 min)	43,00±0,37					
Índia				Torra média (20 min)	36,83±0,64					
				Torra escura (24 min)	29,21±0,37					
				Torra clara (17 min)	41,99±0,45					
Brasil				-	Folin-Ciocalteu		Café verde	Torra média (20 min)	37,98±0,42	Jeszka-Skowron <i>et al.</i> , 2017
								Torra escura (24 min)	34,98±0,38	
	Torra clara (17 min)	15,41±1,39								
	Torra média (20 min)	17,37±1,96								
Ruanda	-	Folin-Ciocalteu	Café verde	Torra escura (24 min)	15,76±0,95					
China				14,17±0,52						
Laos				35,39±3,69						
Brasil	-	Folin-Ciocalteu	Café torrado	24,13±1,45	Affonso <i>et al.</i> , 2016					
Brasil	-	Folin-Ciocalteu	Café verde	191±17	Jeszka-Skowron <i>et al.</i> , 2016					
Ruanda				220±1						
China				196±1						
Laos				198±1						
Brasil	-	Folin-Ciocalteu	Amostra G1	Café verde	31,65±1,84	Odžaković <i>et al.</i> , 2016				
				Torra clara (167°C e 25 min)	29,81±1,43					
				Torra escura (175°C e 25 min)	23,66±0,89					
			Amostra G2	Café verde	32,78±2,07					
				Torra clara (167°C e 25 min)	28,28±0,62					
				Torra escura (175°C e 25 min)	24,54±0,75					
			Amostra G3	Café verde	32,28±0,70					
				Torra média (171°C e 26 min)	28,96±0,47					
			Amostra G4	Café verde	31,19±4,62					
				Torra média (171°C e 26 min)	24,94±0,81					
Indonésia (Kopi Luwak)	-	Folin-Ciocalteu	Grão verde	49,88±3,35	Cheong <i>et al.</i> , 2013					
Indonésia (Sidikalang)			Grão torrado	40,42±1,24						
			Grão verde	48,51±0,82						
Tailândia			Grão torrado	43,13±2,99						
			Grão verde	43,07±1,37						
China			Grão torrado	33,67±0,69						
			Grão verde	53,76±0,71						
Grão torrado			36,17±1,60							
Brasil	-	Folin-Ciocalteu	Extração 1	Torra clara	120,8±5,1	Vignoli <i>et al.</i> , 2011				
				Torra média	130,9±1,7					
				Torra escura	134,3±0					
			Extração 2	Torra clara	149,7±1,7					
				Torra média	151,4±10,2					
				Torra escura	131,0±3,4					

Legenda: HPLC – Cromatografia líquida de alta performance; UV – Detetor de ultravioleta.

A análise da **Tabela 10** mostra que são usadas duas metodologias na determinação dos compostos fenólicos totais, o método Folin-Ciocalteu e o método HPLC-UV. As amostras analisadas são provenientes de diferentes continentes, África, Ásia e América do Sul, e são constituídas por grão verde e grão torrado, com diferentes níveis de torra. Verificou-se que o teor de compostos fenólicos variou entre 5,15-220 g GAE/kg e 7,95-151,4 g GAE/kg para os grãos de café verdes e torrados, respetivamente (**Figuras 24 e 25**).

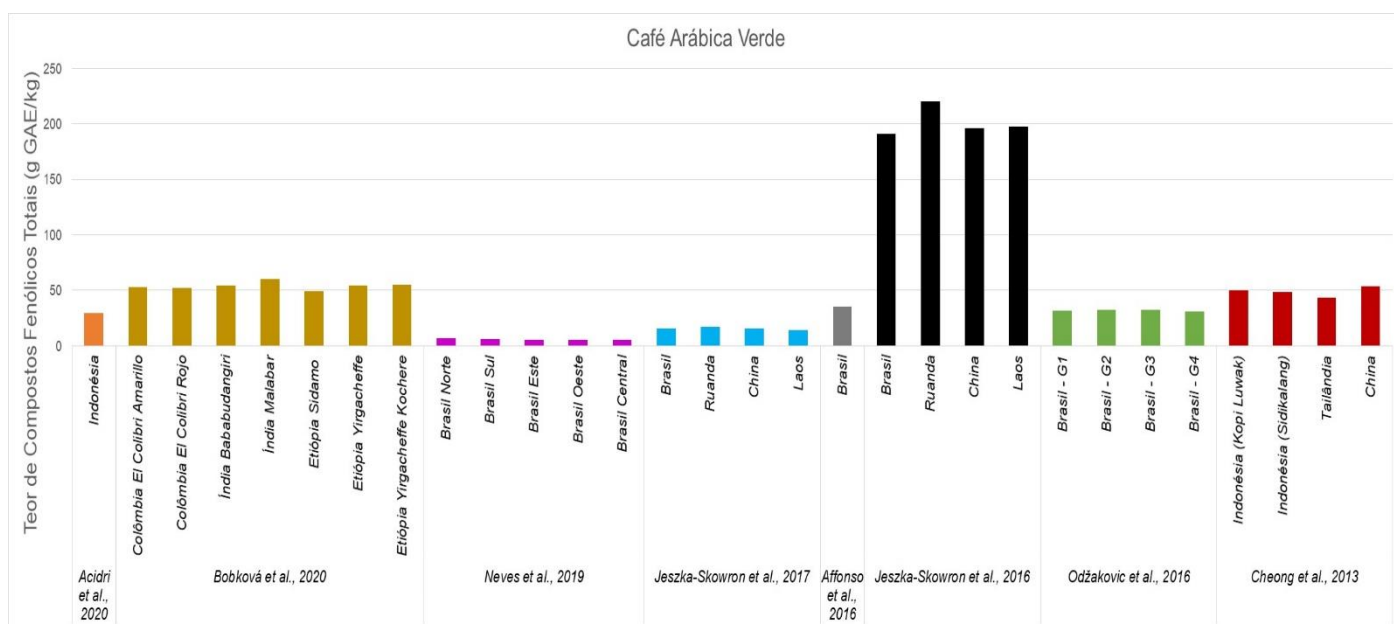


Figura 24 - Representação gráfica dos resultados do teor de compostos fenólicos totais em grãos de café verde.

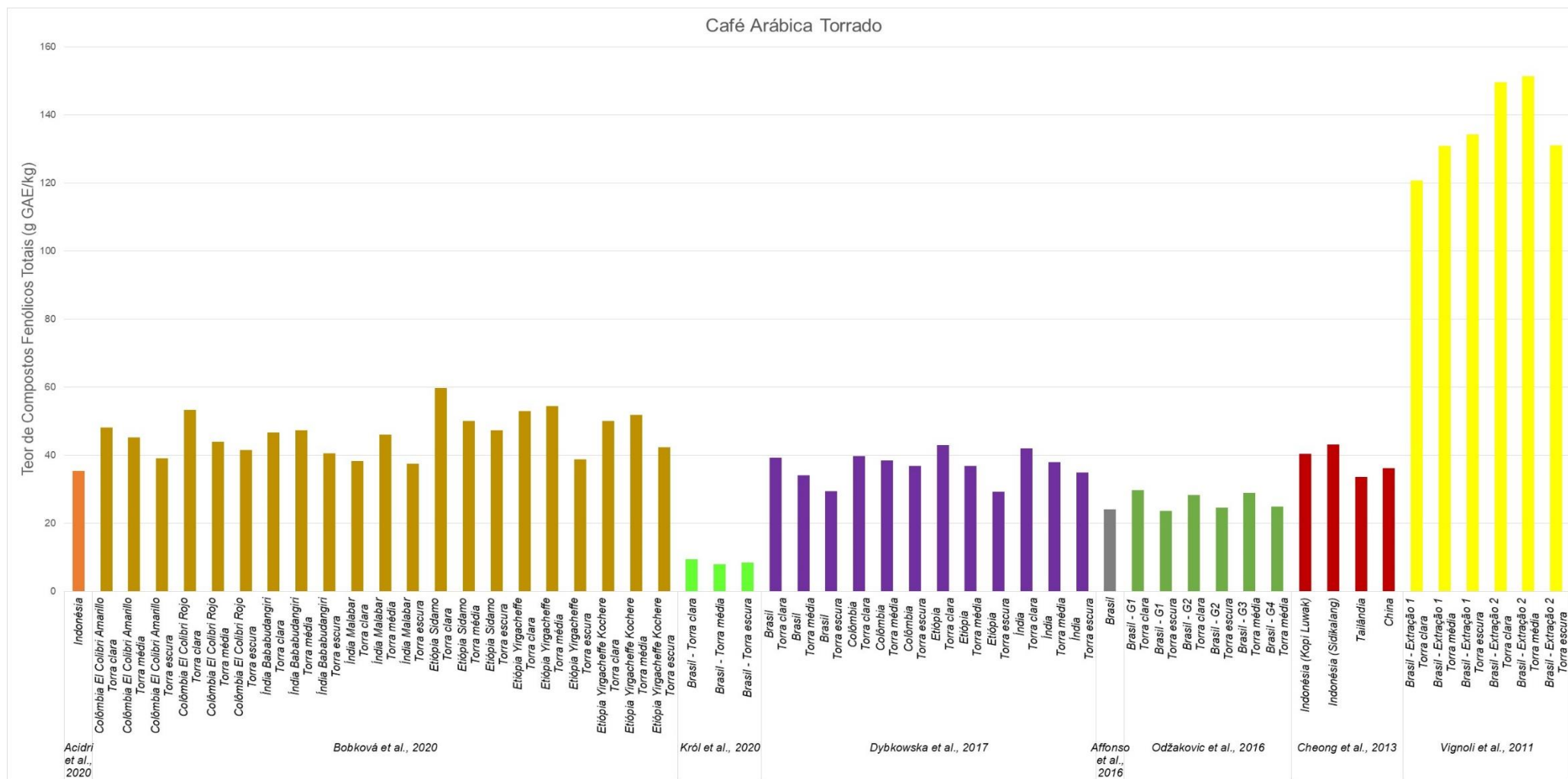


Figura 25 - Representação gráfica dos resultados do teor de compostos fenólicos totais em grãos de café torrados.

Analisando a **Figura 24** verifica-se que os resultados que mais diferiram dos restantes foram os obtidos por Jeszka-Skowron *et al.* (2016), sendo bastante superiores aos outros resultados o que poderá estar relacionado com as condições em que estas amostras de café se desenvolveram. Quanto à **Figura 25**, constata-se que os resultados obtidos por Vignoli *et al.* (2011) foram muito superiores aos restantes e, visto que utilizam uma extração dos compostos fenólicos a uma temperatura elevada (180 °C), poderá deduzir-se que tenha influenciado os resultados.

A torra é a etapa que mais influência tem na concentração de compostos fenólicos totais. Verifica-se uma relação direta entre o grau de torra e a concentração de compostos fenólicos totais, sendo a perda destes compostos maior quanto mais intenso for o grau de torra. Para além da torra, constata-se que o armazenamento contribui, também, para a perda de compostos fenólicos, devendo este ser o mais breve possível e deverão ser utilizadas temperaturas e teores de humidade que preservem a qualidade do grau.

Os resultados obtidos por Acidri *et al.* (2020), mostram que as amostras de café torrado têm uma concentração de compostos fenólicos totais superior às de café verde, o que não está de acordo com a bibliografia. Tendo em conta que não é especificado o grau de torra, poderá presumir-se que terá sido utilizado uma torra muito clara levando à formação de outros compostos.

Já Bobková *et al.* (2020) obtiveram os resultados concordantes com a maioria da bibliografia, isto é, a concentração de compostos fenólicos totais diminuir com a torra. Contudo, apesar de se verificar uma redução do teor de compostos fenólicos entre os grãos verdes e os grãos com torra escura em todas as amostras, constata-se que houve um aumento do teor de compostos fenólicos dos grãos verdes para os grãos com torra clara nas amostras “Colômbia *El Colibri Rojo*” e “Etiópia Sidamo”, e dos grãos com torra clara para os grãos com torra média nas amostras “Índia Bababudangiri”, “Índia Malabar”, “Etiópia Yirgacheffe” e “Etiópia Yirgacheffe Kochere” (**Figura 26**):

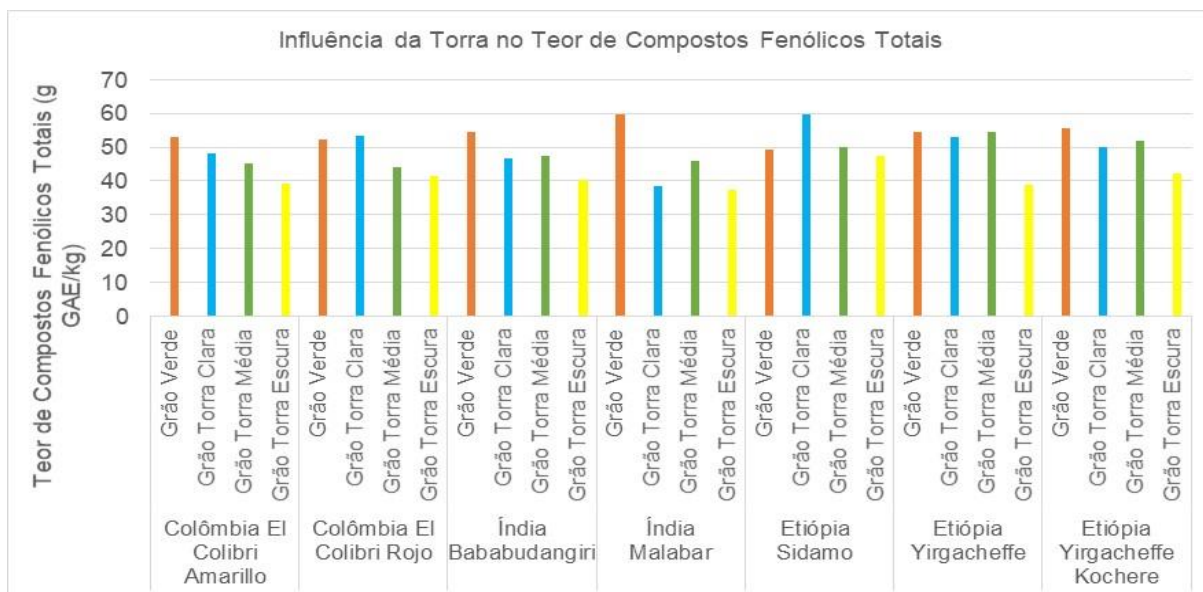


Figura 26 - Representação gráfica da influência da torra no teor de compostos fenólicos totais dos grãos de café (Bobková et al., 2020).

Em relação às perdas de compostos fenólicos entre os grãos de café verde e os grãos com torra escura, verificaram-se reduções de 26,5%, 20,5%, 25,7%, 37,5%, 3,6%, 28,8% e 23,6% para as amostras “Colômbia El Colibri Amarillo”, “Colômbia El Colibri Rojo”, “Índia Bababudangiri”, “Índia Malabar”, “Etiópia Sidamo”, “Etiópia Yirgacheffe” e “Etiópia Yirgacheffe Kochere”, respectivamente. Deste modo, verifica-se que a torra é um processo que é fundamental monitorizar uma vez que irá ter bastante influência no teor de compostos fenólicos totais, contudo esta está dependente do binómio tempo-temperatura podendo ocorrer oscilações no teor de compostos fenólicos totais ao longo desta etapa. Relativamente aos valores obtidos para os grãos de café verdes, observa-se que as amostras que tiveram maior teor de compostos fenólicos foram as “Índia Malabar” e “Índia Bababudangiri”, com $59,86 \pm 1,06$ e $54,58 \pm 0,65$ g GAE/kg respetivamente, e as que apresentaram um menor teor de compostos fenólicos foram as “Etiópia Sidamo” e “Colômbia El Colibri Rojo”, com $49,19 \pm 0,70$ e $52,30 \pm 2,27$ g GAE/kg respetivamente. Uma vez que para amostras com diferentes origens se verificaram diferentes perdas de compostos fenólicos (por exemplo para as amostras “Índia Malabar” houve uma perda de 37,5% e em comparação com o valor bastante inferior de 3,6% para as amostras “Etiópia Sidamo”), poderá deduzir-se que a origem do café também influencia os valores dos compostos fenólicos totais.

Król et al. (2020), para além de analisarem a influência do grau de torra, analisaram também a influência do armazenamento dos grãos, durante 12 meses em sacos em vácuo a 5 °C, na concentração de compostos fenólicos totais. Concluiu, que à medida que o grau de torra aumenta, maiores são as perdas de compostos fenólicos totais, e que o armazenamento

também promove estas perdas, tendo ocorrido uma redução de 83,3%, 79,87% e de 86,14% nas torras clara, média e escura (respetivamente) após os 12 meses de armazenamento.

Relativamente aos resultados obtidos por Jeszka-Skowron *et al.* (2017) e Jeszka-Skowron *et al.* (2016) verifica-se que, apesar das amostras terem as mesmas origens geográficas, os valores obtidos diferem muito entre eles. Uma vez que, no estudo de 2017, foi utilizada uma absorvância de 754 nm e, no de 2016, de 765 nm, poderá ser uma justificação para a discrepância entre resultados. Tendo em conta o facto de a origem das amostras ser a mesma, contudo, poderem ser diferentes anos de colheita, poderá supor-se que as condições em que o café se desenvolveu poderão ter sido diferentes influenciando também os resultados.

Analisando os resultados obtidos por Neves *et al.* (2019), Affonso *et al.* (2016) e Odžaković *et al.* (2016), observa-se que apesar de a origem das amostras ser a mesma (Brasil), o primeiro autor obteve resultados bastante inferiores aos dos dois últimos. Constatou-se assim que o teor de compostos fenólicos das amostras de Neves *et al.* (2019) variou entre $5,15 \pm 0,0029$ e $6,62 \pm 0,0083$ g GAE/kg, o de Affonso *et al.* (2016) foi de $35,39 \pm 3,69$ g GAE/kg e o de Odžaković *et al.* (2016) variou entre $31,19 \pm 4,62$ e $32,78 \pm 2,07$ g GAE/kg. Assim, pode-se supor que deverão existir outros fatores para além da origem, como por exemplo as condições em que o cafeeiro se desenvolveu, que irão influenciar o teor de compostos fenólicos.

Comparando os valores obtidos por Dybkowska *et al.* (2017) e Odžaković *et al.* (2016), verifica-se que entre os graus de torra clara e o de torra escura, para a primeira referência, houve reduções do teor de compostos fenólicos na ordem dos 25%, 7%, 32% e 17%, e para segunda referência houve uma redução de 20,6% na amostra G1 e de 13,2% na amostra G2. Continua-se a confirmar que a torra promove a degradação dos compostos fenólicos, contudo, uma vez que são utilizadas amostras com diferentes origens e com diferentes teores de compostos fenólicos, não é possível tirar conclusões quanto à influência de diferentes temperaturas de torra. Assim, para se tirar uma conclusão relativamente a este aspeto, teria-se de aplicar torras com diferentes temperaturas a amostras que se tivessem desenvolvido sob as mesmas condições e no mesmo local.

Cheong *et al.* (2013) identificaram também, que a torra promove a degradação do teor de compostos fenólicos, no entanto, Vignoli *et al.* (2011), constataram haver um ligeiro aumento entre a torra média e a torra escura para as amostras sujeitas à extração 1 e entre a torra clara e a torra média para as amostras sujeitas à extração 2. Este aumento poderá estar relacionado com as condições de extração, o que poderá ter influenciado os resultados.

4.3. Teor de Ocratoxina A

Os resultados do parâmetro de qualidade “Teor de Ocratoxina A” encontram-se representados nas **Tabelas 11 e 12** e referem-se, respetivamente, ao teor de OTA em grãos de café Arábica em função do processamento e da origem e defeitos.

Tabela 11 - Estudos sobre o teor de OTA em grãos de café Arábica em função do processamento.

Amostras		Metodologia	Resultados		Referência		
Origem	Grau de Moenda		Condições das Amostras	Concentração média de OTA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			
Filipinas	Finamente	HPLC – FD	14 Amostras de café despulpado em terreiros de secagem		N.D.	Barcelo <i>et al.</i> , 2018	
			29 Amostras de café verde armazenado		46,65		
			8 Amostras de café torrado		5,47		
Brasil	0,5 mm	HPLC - FD	Café verde		12 \pm 7,0	Lerda <i>et al.</i> , 2014	
			Grãos de café torrados a 230°C	5 min	9 \pm 0,2		
				8 min	5 \pm 2,1		
				12 min	2,2 \pm 1,0		
Argentina	0,85 mm	HPLC - FD	5 amostras de grãos de café verde		5,77 \pm 8,2	Drunday <i>et al.</i> , 2013	
			24 amostras de grãos de café torrados		1,99 \pm 1,54		
México	0,5 mm	HPLC - FD	Grãos torrados em torrador rotativo (230 °C)	0 min	5,3 \pm 0,1*	57,2 \pm 0,2*	Castellanos-onorio <i>et al.</i> , 2011
				3 min (torra muito clara)	5,3 \pm 3,9	42,8 \pm 25	
				6 min (torra clara)	5,1 \pm 1,5	46,4 \pm 1,7	
				9 min (torra média)	3,4 \pm 1,1	23,6 \pm 0,2	
				12 min (torra escura)	1,7 \pm 0,9	7,5 \pm 1,6	
				15 min (torra muito escura)	0,6 \pm 0,1	1,6 \pm 0,6	
			Grãos torrados em torrador de Leito Fluidizado (230 °C)	0 min	5,3 \pm 0,1*	57,2 \pm 0,2*	
				0,9 min (torra clara)	4,8 \pm 0,6	53,0 \pm 2,6	
				1,7 min (torra média)	3,7 \pm 0,4	36,6 \pm 0,9	
				2,6 min (torra escura)	1,9 \pm 0,1	15,8 \pm 0,8	
				3,5 min (torra muito escura)	1,4 \pm 0,2	12,8 \pm 0,4	
				4,3 min (torra muito escura+)	1,0 \pm 0,2	11,9 \pm 0,5	
Brasil	0,85 mm	HPLC - FD	Café verde		247 \pm 20,1	Ferraz <i>et al.</i> , 2010	
			Torra a 180°C	5 min	227 \pm 20,0		
				8 min	143 \pm 12,9		
				12 min	115 \pm 5,6		
			Torra a 200°C	5 min	173 \pm 31,7		
				8 min	108 \pm 9,1		
				12 min	80,6 \pm 3,2		
			Torra a 220°C	5 min	132 \pm 8,0		
				8 min	58,9 \pm 3,3		
				12 min	31,7 \pm 8,0		
			Torra a 240°C	5 min	57,5 \pm 9,5		
				8 min	14,0 \pm 2,9		
12 min	2,8 \pm 1,0						

*Contaminação artificial dos grãos com 2 níveis de contaminação.

Legenda: HPLC – Cromatografia líquida de alta performance; FD – Detetor de fluorescência; N.D. – Não detetado.

A **Tabela 11** apresenta um resumo dos estudos de determinação de OTA em grãos de café Arábica em função do processamento. A metodologia referida por todos os autores é a HPLC-FD, usada na determinação de OTA em grãos de café verdes e torrados, aplicando diferentes técnicas de processamento e temperaturas de torra. As regiões analisadas incluem a América e Ásia, para datas compreendidas entre 2010 e 2018. Todos os estudos apresentados nesta tabela referem valores de OTA situados entre 5,77 e 247 µg/kg para café verde e 1,99 e 115 µg/kg para café torrado. A análise desta Tabela revela que o café verde apresenta sempre uma maior concentração de OTA em comparação com o café torrado (Barcelo *et al.*, 2018; Lerda *et al.*, 2014; Drunday *et al.*, 2013; Castellanos-onorio *et al.*, 2011; Ferraz *et al.*, 2010). Estes resultados confirmam que a torra é uma etapa que permite a degradação da OTA, sendo esta redução tanto maior quanto mais intensivo for o grau de torra (Castellanos-onorio *et al.*, 2011). Contudo, torras intensivas irão levar à degradação de outros compostos naturalmente presentes nos grãos, como os ácidos clorogénicos (Farah *et al.*, 2006). Deste modo, uma vez que a concentração final de OTA após a torra está dependente da concentração inicial, não se devem processar grãos contaminados pois pode não ser possível atingir um valor inferior ao valor máximo legislado (Ferraz *et al.*, 2010).

Barcelo *et al.* (2018) analisaram os grãos de café em algumas fases do processamento (café despulpado em terreiros de secagem, café verde armazenado e café torrado), tendo verificado que as amostras de café verde armazenado eram as que detinham maior número de amostras contaminadas e valores médios mais elevados de OTA. Estas amostras, apresentavam uma concentração média de OTA bastante superior a 5 µg/kg (46,65 µg/kg), estabelecido como valor limite como já referido no Regulamento (CE) n.º 1881/2006. Segundo os autores, o facto de as amostras de café despulpado em terreiros de secagem não apresentarem contaminação por OTA pode dever-se ao facto de não estar presente a polpa e a mucilagem do café que são as partes propícias a desenvolvimento fúngico. Quanto às amostras de café torrado, verificou-se que estas apresentavam uma concentração média de OTA inferior à das amostras de café verde armazenado (5,47 µg/kg), contudo superiores ao valor máximo legislado na Europa e Ásia. De acordo com Barcelo *et al.* (2018), as contaminações em grãos torrados não ocorrem durante a torra, mas sim em etapas anteriores, como o armazenamento. O aparecimento de OTA em grãos torrados pode dever-se também à má remoção da pele de prata.

Como o café Arábica é normalmente cultivado em maiores altitudes, ambiente com temperaturas mais reduzidas, é menos suscetível ao desenvolvimento de fungos. Contudo, o aumento das temperaturas devido às alterações climáticas poderá inverter esta situação, levando ao aumento da contaminação fúngica nestes grãos (Barcelo *et al.*, 2018).

Como se verificou através dos resultados obtidos por Barcelo *et al.* (2018), também Lerda *et al.* (2014) e Drunday *et al.* (2013) verificaram que os grãos de café verde apresentavam concentração média de OTA superior, em comparação com os grãos torrados. A análise da tabela revela que, quanto maior o tempo de torra, maior a redução de OTA, sendo que, aos 8 minutos, foi atingido o valor máximo legislado (Europa e Ásia), para as condições descritas por Lerda *et al.* (2014). Contudo, não se poderá deduzir que são necessários 8 minutos de torra para garantir uma concentração dentro dos limites legislados de OTA, uma vez que a sua concentração após a torra depende da sua concentração inicial e também da temperatura da torra.

Castellanos-onorio *et al.* (2011) compararam o efeito do tempo da torra (entre 0 e 15 min) com dois tipos de torradores (rotativo e leito fluidizado) em grãos artificialmente contaminados com dois níveis de contaminação inicial de OTA diferentes (5,3 µg/kg e 57,2 µg/kg). Neste trabalho verificou-se que a percentagem de redução de OTA entre os 2 níveis de contaminação, comparando valores iniciais e finais, em ambos os torradores, foi semelhante. Contudo, concluiu-se que o torrador rotativo (TR) foi mais eficaz na redução de OTA no mesmo grau de torra (torra muito escura), permitindo uma redução de 96%, em comparação com a de 75% do torrador de leito fluidizado (TLF) (valores médios para os dois níveis de contaminação). Relativamente aos grãos torrados em TR, verificou-se que, para o nível de contaminação inicial mais baixo a torra média foi suficiente para que a concentração de OTA atingisse valores inferiores ao limite estabelecido, enquanto que para o nível de contaminação inicial mais elevado foi necessária uma torra muito escura. Quanto aos grãos torrados em TLF, para o nível de contaminação inicial mais baixo bastou uma torra clara para que a concentração de OTA atingisse valores inferiores ao limite estabelecido, enquanto que para o nível de contaminação inicial mais elevado não foi possível atingir valores dentro do limite legislado. Resumindo, de acordo com a tabela e os resultados do estudo de Castellanos-onorio *et al.* (2011), o TLF provoca uma torra muito escura mais depressa (3,5 min em contraste com os 15 min para o TR). Contudo, para valores iniciais de OTA elevados (57,2 µg/kg), o TR, ao fim de 15 min, consegue atingir valores inferiores ao legislado o que não acontece com o método do TLF. Para valores próximos do legislado (5,3 µg/kg), o TLF permite obter valores inferiores aos legislados aos 0,9 min (em contraste com os 9 min no torrador rotativo). As diferenças obtidas entre os dois tipos de torradores podem ser explicadas pelo facto de que, enquanto que o TR permite obter uma torra homogénea entre todas as amostras, o TLF faz com que a torra atinja mais a camada externa de grãos.

De acordo com os resultados obtidos por Ferraz *et al.* (2010) sobre a influência da torra em grãos com OTA, verificou-se que, nos diferentes tempos e temperaturas de torra ensaiados, apenas a torra a 240 °C durante 12 minutos permitiu atingir valores dentro dos

limites legislados. No entanto, torras intensivas irão levar à degradação de outros compostos de interesse presentes nos grãos de café, como os ácidos clorogénicos.

A **Tabela 12** apresenta o resumo dos estudos sobre o teor de Ocratoxina A em café de diferentes origens e com diferentes defeitos. Seguindo esta Tabela foram analisados grãos com os seguintes defeitos:

- “Verde” – Obtido através da colheita de frutos imaturos;
- “Preto” – Obtido através da colheita tardia, contacto prolongado com o solo e outras causas;
- “Preto-verde” – Obtido através de frutos imaturos e sujeitos a secagens com temperatura superior a 30 °C;
- “Castanho” – Obtido através frutos imaturos ou demasiado maduros, contacto prolongado com o solo e outras causas.

Tabela 12 – Estudos sobre o teor de OTA em grãos de café Arábica em função da origem e dos defeitos.

Amostras		Metodologia	Resultados		Referência	
Origem	Grau de Moenda		Condições das Amostras			Concentração média de OTA (µg/kg)
São Tomé e Príncipe	0,2 mm	HPLC - FD	Sem defeitos	Grão torrado a 225°C	0,60±0,19	Benites <i>et al.</i> , 2017
Porto Rico				Grão torrado a 225°C	0,86±0,50	
Honduras				Grão torrado a 225°C	0,50±0,04	
Peru				Grão torrado a 225°C	0,51±0,07	
Brasil				Grão torrado a 172°C	N.D.	
Colômbia				Grão torrado a 173°C	Vestigial (Entre LOD – 0,266 µg/kg – e LOQ – 0,5 µg/kg)	
Brasil (Cerrado Mineiro - Região mais seca)		TLC		Grão normal	ND	Taniwaki <i>et al.</i> , 2014
				Grão defeito "Verde"	ND	
				Grão defeito "Preto"	0,5	
				Grão defeito "Preto-verde"	0,4	
				Grão defeito "Castanho"	11,3	
Brasil (Sorocabana - Região mais húmida)				Grão normal	1,4	
				Grão defeito "Verde"	0,3	
				Grão defeito "Preto"	25,7	
				Grão defeito "Preto-verde"	0,3	
				Grão defeito "Castanho"	0,3	

Legenda: HPLC – Cromatografia líquida de alta performance; FD – Detetor de fluorescência; TLC – Cromatografia de camada fina; N.D. – Não detetado; LOD – Limite de deteção; LOQ – Limite de quantificação.

Relativamente aos resultados obtidos por Benites *et al.* (2017), verificou-se que todos os grãos torrados apresentavam concentração média de OTA na mesma ordem de grandeza, variando de vestigial a 0,86 µg/kg (bastante inferiores ao valor máximo legislado). As amostras de São Tomé e Príncipe e Porto Rico tinham teores de água suficientes para promoverem o

desenvolvimento fúngico e os grãos de café verde de Porto Rico apresentavam já crescimento de fungos.

Em relação aos resultados obtidos por Taniwaki *et al.* (2014), verifica-se que os grãos provenientes da região mais húmida são os mais contaminados pois todas as amostras provenientes desta região estão contaminadas por OTA, o que está de acordo com a bibliografia que refere que a humidade é propícia ao desenvolvimento fúngico.

Verificou-se então que, em ambas as regiões, o defeito mais comum e cujas amostras apresentaram níveis mais reduzidos de OTA foi o “Verde”. De acordo com este estudo, não foi detetada OTA nestes grãos na região mais seca e foi detetada uma concentração média de 0,3 µg/kg na região mais húmida. Contudo, a bebida resultante de grãos com este defeito apresenta um sabor mais desagradável devido à sua maior amargura, adstringência e sabor metálico (Taniwaki *et al.*, 2014). Relativamente ao defeito “Preto-verde”, a concentração de OTA detetada também foi reduzida (0,4 µg/kg na região mais seca e 0,3 µg/kg na região mais húmida).

Por outro lado, os grãos com os defeitos “Castanho” e “Preto” foram os que apresentaram maior concentração de OTA nas regiões de Cerrado Mineiro e Sorocabana, respetivamente. A contaminação com fungos nos grãos com defeito “Preto” pode ocorrer devido ao contacto dos grãos com o solo ou até mesmo durante o processamento. Quanto aos grãos com defeito “Castanho”, a contaminação por fungos poderá ser causada devido às deteriorações resultantes da fermentação excessiva (Taniwaki *et al.*, 2014).

De acordo com Bessaire *et al.* (2019), a espécie de café parece ter uma influência maior na contaminação por OTA do que a origem geográfica dos grãos, contudo teria que ser feito outro estudo com um maior número de amostras de ambas as espécies de cada região.

5. CONCLUSÕES

Concluiu-se, pela bibliografia consultada, que o teor de cafeína, o potencial antioxidante e o teor de OTA, em grãos de café, são parâmetros essenciais para determinar a qualidade dos grãos de café.

Quanto ao teor de cafeína, verificou-se que os valores encontrados se situaram entre 0,79-38,5 g/kg para o café verde e 1,30-9,96 g/kg para o café torrado. Esta concentração depende das condições em que o cafeeiro se desenvolve, sendo que para se analisar corretamente a influência da origem no teor de cafeína deveria ser feito um estudo com amostras produzidas sob as mesmas condições, em cada local de origem. Para analisar a influência da torra também teria sido importante que o café se tivesse desenvolvido sob as mesmas condições de forma a se poder tirar melhores conclusões. Dos estudos analisados, verificou-se que a Ásia foi o continente que apresentou amostras com maior teor de cafeína, nomeadamente as amostras provenientes de Laos ($38,5 \pm 1,8$ g/kg). Contudo, este estudo apresentou valores bastantes superiores aos valores de referência segundo Farah (2012) (9-13 g/kg e 11-13 g/kg para os grãos de café arábica verdes e torrados, respetivamente). Constatou-se ainda a estabilidade térmica da cafeína, uma vez que a torra provocou apenas pequenas oscilações na concentração de cafeína, podendo esta diminuir devido à sua sublimação ou aumentar devido à perda de compostos como a água. Uma vez que se trata de um composto naturalmente presente no café, não existe legislação relacionada com o teor máximo de analito permitido. Os resultados sugeriram que é preferível usar graus de moenda reduzidos de forma a aumentar a área de contacto e favorecer a extração de toda a cafeína, contudo teriam que ser efetuados estudos em que fossem comparados os teores de cafeína de amostras com diferentes graus de moenda produzidas sob as mesmas condições.

Relativamente ao potencial antioxidante os valores obtidos pelos diferentes autores são muito variados o que pressupõe que existem diversos fatores que interferem nos resultados obtidos pelos diferentes métodos. No geral, os valores para o café verde foram superiores aos obtidos para o café torrado à exceção dos do método do radical DPPH. Para o café verde os valores variaram entre: 161,3-222,4 $\mu\text{mol TE/g}$, (DPPH); 220,7-1514,8 $\mu\text{mol TE/g}$ (ABTS) e 493,03-2353,9 $\mu\text{mol TE/g}$ (FRAP). Para o café torrado, a atividade antioxidante variou entre 203,38-337 $\mu\text{mol TE/g}$, 50,17-78,55% e 8,23-9,96 g GAE/kg (DPPH); 179,28-1210,77 $\mu\text{mol TE/g}$ (ABTS) e 315,31-1230,17 $\mu\text{mol Trolox/g}$ (FRAP). Concluiu-se que apesar dos ácidos clorogénicos (principais compostos fenólicos) serem degradados com a torra, ocorre a formação de melanoidinas que também têm ação antioxidante confirmando-se, assim, a grande influência desta etapa na atividade antioxidante (Farah *et al.*, 2006; Odžakovic *et al.*, 2016). Constatou-se que graus de torra baixos, como é o caso da torra clara,

aumentam a atividade antioxidante devido à formação destes compostos. Contudo, quando se recorre a graus de torra elevados, a taxa de degradação dos compostos fenólicos torna-se superior à taxa de formação de melanoidinas, causando o decréscimo da atividade antioxidante. Constatou-se que a origem do café poderá influenciar a atividade antioxidante, uma vez que para um mesmo estudo se observaram variações da atividade antioxidante entre 62,23 e 71,34% para café verde de diferentes origens. De igual modo, verificou-se que a torra causa o decréscimo do teor de compostos fenólicos totais, tendo-se observado valores entre 5,15-220 g GAE/kg para o café verde e 7,95-151,4 g GAE/kg para o café torrado. Para além da torra, verificou-se que o armazenamento tem influência no teor de compostos fenólicos totais, uma vez que estes compostos dependem de fatores como a luz, a temperatura e a exposição ao ar. Os resultados demonstraram ainda que, tendo em conta que se observaram variações do teor de compostos fenólicos totais entre 38,34 e 59,79% para café verde de diferentes origens, este fator também poderá ter influência no teor de compostos fenólicos.

Por último, verifica-se que amostras consideradas apresentaram teores de OTA entre 5,77-247 µg/kg e 1,99-115 µg/kg para os grãos de café verdes e torrados, respetivamente. Constata-se que a torra promove a degradação da OTA, contudo, torras intensivas irão levar à degradação de compostos nutricionalmente interessantes (ácidos clorogénicos) e a percentagem de redução durante esta etapa depende da concentração inicial no alimento. Assim, devem ser descartados os grãos em que se encontre presente este contaminante. Devem também ser removidos os grãos que apresentem defeitos, uma vez que estes poderão levar ao desenvolvimento de fungos produtores desta toxina. Tendo em conta que o desenvolvimento fúngico se dá essencialmente durante o armazenamento, deve-se promover um ambiente a 26 °C e com humidade relativa entre os 50 e os 75%. Se for detetada OTA em grãos torrados, poderá deduzir-se que a contaminação ocorreu em etapas anteriores (por exemplo o armazenamento) uma vez que não existe contaminação durante a torra. Apesar do café arábica ser cultivado em maiores altitudes onde as temperaturas são mais reduzidas, prevê-se que no futuro, devido às alterações climáticas, a temperatura aumente nestes locais levando ao aumento das contaminações fúngicas nos grãos.

Resumidamente, este trabalho permitiu concluir que o teor de cafeína em grãos de café é muito variável, dependendo da sua origem geográfica, no entanto é estável com diferentes temperaturas de torra. Tendo em conta que é difícil avaliar o potencial antioxidante apenas com um método de forma precisa, os resultados são determinados por diversos métodos. A atividade antioxidante dos grãos aumenta com graus de torra mais reduzidos (diminuindo em graus de torra mais intensos), pelo que deverão ser utilizados graus de torra que permitam manter, ou até aumentar, a atividade antioxidante dos grãos. Por fim e por forma a proteger a saúde humana, é de extrema importância monitorizar as condições de

armazenamento dos grãos (teor de humidade e temperatura) de forma a que não ocorra desenvolvimento fúngico, nomeadamente por fungos produtores de ocratoxina A e, caso ocorra, deverão ser descartados os grãos contaminados.

Face à influência do processo da torra nos parâmetros de qualidade analisados e com vista a obter um café de qualidade para a marca café Gorongosa, será importante, no futuro, estudar a influência da torra no teor de cafeína de grãos produzidos sob as mesmas condições, na mesma região, e utilizando o mesmo método de determinação. Em particular, será importante i) analisar o binómio tempo/temperatura ideal por forma a obter um elevado potencial antioxidante e, ao mesmo tempo, garantir características sensoriais agradáveis para o consumidor, ii) identificar as condições ótimas de armazenamento que permitam manter o potencial antioxidante dos grãos, bem como formas de garantir as condições ótimas de temperatura e humidade durante o armazenamento evitando ou reduzindo ao máximo a contaminação por micotoxinas e iii) tendo em conta as atuais alterações climáticas que referem um aumento de temperatura para um futuro próximo, será importante investigar o seu impacto direto não só nos parâmetros de qualidade do café, mas também na própria cafeicultura, em especial na espécie *C. arabica* que necessita de temperaturas mais reduzidas para se desenvolver. Neste âmbito é fundamental garantir uma amostra sem contaminação de OTA ou com os menores valores de contaminação possíveis, por forma a proteger a saúde humana, usufruindo do potencial antioxidante desta bebida. A marca de café Gorongosa beneficiará, desta forma, de toda a componente de sustentabilidade económica do projeto em que se inseriu esta dissertação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACIDRI, R.; SAWAI, Y.; SUGIMOTO, Y.; HANDA, T.; SASAGAWA, D.; MASUNAGA, T.; YAMAMOTO, S.; NISHIHARA, E. - *Phytochemical Profile and Antioxidant Capacity of Coffee Plant Organs Compared to Green and Roasted Coffee Beans*. Antioxidants. vol. 9, nº 2, 2020, 1–17 p.

AFFONSO, R.C.L.; VOYTENA, A.P.; FANAN, S.; PITZ, H.; COELHO, D.S.; HORSTMANN, A.L.; PEREIRA, A.; UARROTA, V.G.; HILLMANN, M.C.; VARELA, L.A.C.; RIBEIRO-DO-VALLE, R.M.; MARASCHIN, M. - *Phytochemical Composition, Antioxidant Activity, and the Effect of the Aqueous Extract of Coffee (Coffea arabica L.) Bean Residual Press Cake on the Skin Wound Healing*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016, 1-10 p.

AL-ABDULKADER, A.M.; AL-NAMAZI, A.A.; ALTURKI, T.A.; AL-KHURAISH, M.M.; AL-DAKHIL, A.I. – *Optimizing coffee cultivation and its impact on economic growth and export earnings of the producing countries: The case of Saudi Arabia*. Saudi Journal of Biological Sciences. vol. 25, nº 4, 2018, 776-782 p.

ALMEIDA, M.B.; BENASSI, M.T. – *Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais*. Revista Semina: Ciências Agrárias. vol. 32, agosto 2011, 1893-1900 p.

ALMEIDA, M.G.H (2019) Café. 164 diapositivos. Acessível no Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal.

ALVITO, P. (2014) *Contaminação Química - Micotoxinas*. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. 70 p.

ASHIHARA, H.; CROZIER, A. – *Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science*. Trends in Plant Science. vol. 6, nº 9, 2001, 407-413 p.

ASSOCIAÇÃO INDUSTRIAL E COMERCIAL DO CAFÉ (s/ data) – *PORTUGUESE COFFEE – a blend of stories*. Disponível em: <http://aicc.pt/projecto/>, acesso em: 30 de setembro de 2020.

AVELINO, J.; ALINNE, C.; CERDA, R.; WILLOCQUET, L.; SAVARY, S. – *Multiple-Disease System in Coffee: From Crop Loss Assessment to Sustainable Management*. Annual Review of Phytopathology. vol. 56, nº 1, 2018, 611-635 p.

BABOVA, O.; OCCHIPINTI, A.; MAFFEI, M.E. – *Chemical partitioning and antioxidant capacity of green coffee (Coffea arabica and Coffea canephora) of different geographical origin*. Phytochemistry. vol. 123, 2016, 33-39 p.

BARCELO, J.; BARCELO, R. - *Post-harvest practices linked with ochratoxin A contamination of coffee in three provinces of Cordillera Administrative Region, Philippines.* Food Additives and Contaminants - Part A. vol. 35, nº 2, 2018, 328-340 p.

BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. (2009) *Food Chemistry.* 4th ed. Heidelberg: Springer. 1070 p.

BELGUIDOUM, K.; AMIRA-GUEBAILIA, H.; BOULMOKH, Y.; HOUACHE, O. - *HPLC coupled to UV-vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market.* Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. vol. 45, nº4, 2014, 1314-1320 p.

BENITES, A.J.; FERNANDES, M.; BOLETO, A.R.; AZEVEDO, S.; SILVA, S.; LEITÃO, A.L. - *Occurrence of ochratoxin A in roasted coffee samples commercialized in Portugal.* Food Control. vol. 73, 2017, 1223-1228 p

BESSAIRE, T.; PERRIN, I.; TARRES, A.; BEBIUS, A.; REDING, F.; THEURILLAT, V. - *Mycotoxins in green coffee: Occurrence and risk assessment.* Food Control. vol. 96, 2018, 59-67 p.

BITTNER, A.; CRAMER, B.; HARRER, H.; HUMPF, H.U. - *Structure elucidation and in vitro cytotoxicity of ochratoxin α amide, a new degradation product of ochratoxin A.* Mycotoxin Research. vol. 31, nº 2, 2015, 83–90 p.

BOBKOVÁ, A.; HUDÁČEK, M.; JAKABOVÁ, S.; BELEJ, L.; CAPCAROVÁ, M.; ČURLEJ, J.; BOBKO, M.; ÁRVAY, J.; JAKAB, I.; ČAPLA, J.; DEMIANOVÁ, A. - *The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee.* Journal of Environmental Science and Health - Part B (Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes). vol. 5, nº5, 2020, 495-500 p.

BRUNO, T. (s/ data) – *Guide to Coffee Roasting Levels with Charts! Info Before You Buy.* Disponível em: <https://procaffeination.com/guide-to-coffee-roasting-levels-with-charts-info-before-you-buy/>, acesso em: 4 de agosto de 2020.

CAPORASO, N.; WHITWORTH, M.B.; GREBBY, S.; FISK, I.D. – *Non-destructive analysis of sucrose, caffeine and trigonelline on single green coffee beans by hyperspectral imaging.* Food Research International. vol. 106, setembro 2018, 193-203 p.

CASTELLANOS-ONORIO, O.; GONZALEZ-RIOS, O.; GUYOT, B.; FONTANA, T.A.; GUIRAUD, J.P.; SCHORR-GALINDO, S.; DURAND, N.; SUÁREZ-QUIROZ, M. - *Effect of two different roasting techniques on the Ochratoxin A (OTA) reduction in coffee beans (Coffea arabica).* Food Control. vol. 22, nº 8, 2011, 1184-1188 p.

- CEAGRE (2015) – *Identificação e análise dos agentes e causas directas e indirectas de desmatamento e degradação florestal em Moçambique*. Disponível em: http://www.biofund.org.mz/wp-content/uploads/2019/01/1548330259-Divers%20of%20Deforestation%20-%20Relatorio%20Final_%20Ceagre_winrock.pdf, acesso em: 14 de dezembro de 2020.
- CHEONG, M.W.; TONG, K.H.; ONG, J.J.M.; LIU, S.Q.; CURRAN, P.; YU, B. – *Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee*. Food Research International. vol. 51, nº 1, 2013, 388-396 p.
- CORDOBA, N; PATAQUIVA, L; OSORIO, C.; MORENO, F.L.M.; RUIZ, R.Y. – *Effect of grinding, extraction time and type of coffee on the physicochemical and flavour characteristics of cold brew coffee*. Scientific Reports. maio 2019, 1-12 p.
- DUTRA, E.R.; OLIVEIRA, L.S.; FRANCA, A.S.; FERRAZ, V.P.; AFONSO, R.J.C.F. – *A preliminary study on the feasibility of using the composition of coffee roasting exhaust gas for the determination of the degree of roast*. Journal of Food Engineering. vol. 47, nº 3, 2001, 241-246 p.
- DRUNDAY, V.; PACIN, A. - *Occurrence of Ochratoxin A in coffee beans, ground roasted coffee and soluble coffee and method validation*. Food Control. vol. 30, nº 2, 2013, 675-678 p.
- DYBKOWSKA, E.; SADOWSKA, A.; RAKOWSKA, R.; DĘBOWSKA, M.; ŚWIDERSKI, F.; ŚWIĄDER, K. - *Assessing polyphenols content and antioxidant activity in coffee beans according to origin and the degree of roasting*. Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny. vol. 68, nº 4, 2017, 347-353 p.
- EDZUAN, A.M.F; ALIAH, A.M.N.; BONG, H.L. – *Physical and Chemical Property Changes of Coffee Beans during Roasting*. American Journal of Chemistry. vol. 5, 2015, 56-60 p.
- EL KHOURY, A.; ATOUI, A. - *Ochratoxin A: General Overview and Actual Molecular Status*. Toxins. vol. 2, nº 4, 2010, 461-493 p.
- EN 14132 (2009) Foodstuffs - Determination of ochratoxin A in barley and roasted coffee - HPLC method with immunoaffinity column clean-up. Bruxelas: CEN, 14 p.
- FARAH, A. (2012) Coffee Constituents. In: Chu, Y-F. *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention*. Iowa: Wiley-Blackwell. Cap. 2, 21-50 p.
- FARAH, A.; DONANGELO, C. - *Phenolic compounds in coffee*. Brazilian Journal of Plant Physiology. vol. 18, nº 1, 2006, 23-36 p.

FERRANTE, M.; SCIACCA, S.; CONTI, G.O. (2012) Carcinogen Role of Food by Mycotoxins and Knowledge Gap. In: Pesheva, M. *Carcinogen*. Sofia: IntechOpen. Cap. 7, 133-162 p.

FERRAZ, M.B.M; FARAH, A.; IAMANAKA, B.T.; PERRONE, D.; COPETTI, M.V.; MARQUES, V.X.; VITALI, A.A.; TANIWAKI, M.H. - *Kinetics of ochratoxin A destruction during coffee roasting*. Food Control. vol. 21, nº 6, 2010, 872-877 p.

FERREIRA, T.; SHULER, J.; GUIMARÃES, R.; FARAH, A. (2019) *Introduction to Coffee Plant and Genetics* In: Farah, A. *Coffee: Production, Quality and Chemistry*. Londres: Royal Society of Chemistry, 1-25 p.

GAMEIRO, C. (2018) Implementação da cultura de café na Serra da Gorongosa – Avaliação da Qualidade do grão. 34 diapositivos. Acessível no Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal.

GEKLE, M.; SAUVANT, C.; SCHWERDT, G. – Ochratoxin A at nanomolar concentrations: A signal modulator in renal cells. Molecular Nutrition and Food Research. vol. 49, nº 2, 2005, 118–130 p.

GILBERT, J.; ŞENYUVA, H.Z. (2009) *Bioactive Compounds in Foods*. Oxford: Blackwell Publishing. 409 p.

GHOSH, P.; VENKATACHALAPATHY, N. - *Processing and Drying of Coffee – A Review*. International Journal of Engineering Research & Technology. vol. 3, nº 12, 2014, 784-794 p.

GRÃO GOURMET (2019) - *Qual a diferença entre o café arábica e o conilon?* Disponível em: <https://www.graogourmet.com/blog/qual-a-diferenca-entre-o-caffe-arabica-e-o-conilon/>, acesso em: 15 de março de 2020.

GROSSO, G.; GODOS, J.; GALVANO, F.; GIOVANNUCCI, E.L. - *Coffee, Caffeine, and Health Outcomes: An Umbrella Review*. Annual Review of Nutrition. vol. 37, 2017, 131-156 p.

GRUBERT, L.C. (2018) – *O que é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência?* Disponível em: <https://freitag.com.br/blog/o-que-e-a-cromatografia-liquida-de-alta-eficiencia/>, acesso em: 29 de outubro de 2020.

GUIDE TO HOUSE PLANTS (s/ data) – *Growing Coffee Plant*. Disponível em: <https://www.guide-to-houseplants.com/coffee-plant.html>, acesso em: 19 de março de 2020.

HEČIMOVIC, I.; BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; HORŽIĆ, D.; KOMES, D. - *Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting*. Food Chemistry. vol. 129, nº 3, 2011, 991-1000 p.

HERRERA, J.C.; LAMBOT, C. (2017) The Coffee Tree – Genetic Diversity and Origin. In: Folmer, B.; Blank, I.; Farah, A.; Giuliano, P.; Sanders, D.; Wille, C. *The craft and science of coffee*. Londres: Academic Press. Cap. 1, 1-16 p.

IARC (2012) *Improving public health through mycotoxin control*. Lyon: IARC. Cap. 6, Mycotoxins and human health, 87-104 p.

IARC (1993) *Monograph on evaluation of carcinogenic risks to humans: Some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins*. vol. 56. Lyon: IARC. Ochratoxin A, 489-521 p.

ICO (2018) – *Developing a sustainable coffee economy*. Disponível em: http://www.ico.org/sustaindev_e.asp, acesso em: 21 de março de 2020.

ICO (2020a) – *Relatório sobre o Mercado de café – fevereiro 2020*. Disponível em: <http://www.ico.org/documents/cy2019-20/cmr-0220-p.pdf>, acesso em 21 de março de 2020.

ICO (2020b) – *Relatório sobre o Mercado de café – maio 2020*. Disponível em: <http://www.ico.org/documents/cy2019-20/cmr-0520-p.pdf>, acesso em 10 de junho de 2020.

JEAUVONS, R. (s/ data) – *How is coffee harvested?* Disponível em: <https://coffeebeansdelivered.com.au/how-is-coffee-harvested/>, acesso em 21 de março de 2020.

JESZKA-SKOWRON, M.; FRANKOWSKI, R.; ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, A. - *Comparison of methylxantines, trigonelline, nicotinic acid and nicotinamide contents in brews of green and processed Arabica and Robusta coffee beans – Influence of steaming, decaffeination and roasting processes on coffee beans*. LWT. vol. 125, 2020.

JESZKA-SKOWRON, M.; SENTKOWSKA, A.; PYRZYŃSKA, K.; PEÑA, M.P. - *Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation*. European Food Research and Technology. vol. 242, nº 8, 2016, 1403-1409 p.

JESZKA-SKOWRON, M.; ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, A.; WAŚKIEWICZ, A.; STĘPIEŃ, Ł.; STAISZ, E. - *Positive and negative aspects of green coffee consumption – antioxidant activity versus mycotoxins*. Journal of the Science of Food and Agriculture. vol. 97, nº 12, 2017, 4022-4028 p.

KOH, S. (2017) – *Espresso vs. Filter: What's the difference?* Disponível em: <https://perfectdailygrind.com/2017/07/espresso-vs-filter-whats-the-difference/>, acesso em 28 de outubro de 2020.

KRISHNAN, S. – *Sustainable Coffee Production*. Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science. 2017, 33 p.

KRÓL, K.; GANTNER, M.; TATARAK, A.; HALLMANN, E. - *The content of polyphenols in coffee beans as roasting, origin and storage effect*. European Food Research and Technology. vol. 246, nº1, 2020, 33-39 p.

KULAPICHITR, F.; BOROMPICHAICHARTKUL, C.; SUPPAVORASATIT, I.; C - *Impact of drying process on chemical composition and key aroma components of Arabica coffee*. Food Chemistry. vol. 291, novembro 2019, 49-58 p.

LABMATE (2014) – *Pros and Cons of LC-MS*. Disponível em: <https://www.labmate-online.com/news/news-and-views/5/breaking-news/pros-and-cons-of-lc-ms/31157>, acesso em: 18 de outubro de 2020.

LEITÃO, A.L. – *Occurrence of Ochratoxin A in Coffee: Threats and Solutions—A Mini-Review*. Beverages. vol. 5, nº2, 2019, 36 p.

LERDA, D.; PELLICIONI, P.; BIAGI, M.; SCALONE, G.; VALLEJOS, R.; STOUT, M.; MEZZANO, J.; FLANAGAN, C.; LITTERIO, N. - *Roasting coffee beans (Coffea arabica) artificially contaminated with ochratoxin A strongly reduces the analytical ochratoxin A content but not the genotoxic effects*. Current Topics in Toxicology. vol. 9, 2014, 75-80 p.

LUSA (2018) – *Exportações e consumo interno de café crescem em Portugal em 2018* – AICC. Disponível em: <https://www.dn.pt/lusa/exportacoes-e-consumo-interno-de-cafe-crescem-em-portugal-em-2018---aicc-9928621.html>, acesso em: 1 de outubro de 2020.

MATA, A.T.; FERREIRA, J.P.; OLIVEIRA, B.R.; BATORÉU, M.C.; CRESPO, M.T.B.; PEREIRA, V.J.; BRONZE, M.R. - *Bottled water: analysis of mycotoxins by LC-MS/MS*. Food Chemistry. vol. 176, 2015, 455-464 p.

MEJIA, E.G.; RAMIREZ-MARES, M.V. – *Impact of caffeine and coffee on our health*. Trends in Endocrinology and Metabolism. vol. 25, nº 10, 2014, 489-492 p.

MERWE, K.V.D.; STEYN, P.S.; FOURIE, L. – *Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by Aspergillus ochraceus Wilh*. Nature. vol. 205, março 1965, 1112-1113 p.

MOURATO, M.; SALES, J.; LEITÃO, I. (2017) Métodos Instrumentais: Métodos Cromatográficos. 37 diapositivos. Acessível no Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal.

MULLEN, W.; NEMZER, B.; STALMACH, A.; ALI, S.; COMBET, E. - *Polyphenolic and hydroxycinnamate contents of whole coffee fruits from China, India, and Mexico*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. vol. 61, nº 22, 2013, 5298-5309 p.

NEVES, J.V.G.; BORGES, M.V.; SILVA, D.M.; LEITE, C.X.S.; SANTOS, M.R.C.; LIMA, N.G.B.; LANNES, S.C.S.; SILVA, M.V. - *Total phenolic content and primary antioxidant capacity of aqueous extracts of coffee husk: Chemical evaluation and beverage development*. Food Science and Technology. vol. 39, junho 2019, 348-353 p.

NOGUEIRA, S.; OLIVEIRA, M.B.P.P. – *Prevalência de Ocratoxina A em alimentos e consequentes problemas de segurança alimentar*. Revista da Sociedade Portuguesa de Ciências da Nutrição e Alimentação. vol. 12, nº 2, 2006, 69-75 p.

ODŽAKOVIC, B.; DŽINIC, N.; KUKRIĆ, Z.; GRUJIĆ, S. – *Effect of roasting degree on the antioxidant activity of different Arabica coffee quality classes*. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria. vol. 15, nº 4, 2016, 409-417 p.

OESTREICH-JANZEN, S. - *Caffeine: Characterization and Properties*. Encyclopedia of Food and Health. 2015, 556-572 p.

OLIVEIRA, I.P.; OLIVEIRA, L.C.; TEIXEIRA DE MOURA, C.S.F. – *Cultura do Café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento*. Revista Faculdade Montes Belos. vol. 5, nº 4, agosto 2012, 17-32 p.

OSORIO, N. – *The global coffee crisis: a threat to sustainable development*. World Summit on Sustainable Development. vol. 44, 2002, 1-4 p.

PARQUE NACIONAL DA GORONGOSA – Café da Floresta Tropical. Disponível em: <https://www.gorongosa.org/pt/our-story/rainforest-coffee>, acesso em: 21 de dezembro de 2019.

PEREIRA, V.L.; FERNANDES, J.O.; CUNHA, S.C. - *Micotoxinas em Portugal: Ocorrência e Toxicidade*. Acta Farmacêutica Portuguesa. vol. 1, nº 1, 2012, 61-73 p.

PISOSCHI, A.M.; NEGULESCU, G.P. - *Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review*. Biochemistry & Analytical Biochemistry. vol. 1, nº 1, 2012, 1-10 p.

PLEADIN, J.; FRECE, J.; MARKOV, K. (2019) Mycotoxins in food and feed. In: Toldrá, F. *Advances in Food and Nutrition Research*. 1st ed. Academic Press. Cap. 8, 297-345 p.

PORTO, H.S.M. (2014) *HPLC versus UPLC: avaliação de aspetos críticos à transferência e validação de métodos analíticos*. Tese de Mestrado em Biotecnologia Farmacêutica. Universidade de Coimbra – Faculdade de Farmácia. Coimbra. 118 p.

PREEDY, V.R. (2012) *Caffeine: Chemistry, Analysis, Function and Effects*. 1st ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry. 442 p.

RAMALAKSHMI, K.; BAGHAVAN, B. – *Caffeine in Coffee: Its Removal. Why and How?*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. vol. 30, nº 5, 1999, 441-456 p.

RAO, L.J.M.; RAMALAKSHMI, K. (2011) *Recent Trends in Soft Beverages*. Introduction to coffee. Nova Deli: Woodhead Publishing India. 3-25 p.

REGULAMENTO (CE) N.º 1881/2006 DA COMISSÃO de 19 de dezembro de 2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.

RIBEIRO, A; RAMALHO, J.C.; PARTELLI, F.L.; JORDANS, M. (2019) - Produção sustentável de café no parque nacional da Gorongosa em sistema agroflorestal integrado no contexto da desflorestação, alterações climáticas e segurança alimentar. Poster apresentado no Fórum Skan, 16 de outubro, Lisboa.

ROMER LABS (2016) – *Worldwide Mycotoxin Regulations*. Disponível em: <https://www.romerlabs.com/pt/centro-de-conhecimento/centro-de-informacoes/artigos/news/worldwide-mycotoxin-regulations/>, acesso em: 10 de dezembro de 2020.

SALINAS-VARGAS, M.E.; CAÑIZARES-MACÍAS, M.P. - *On-line solid-phase extraction using a C18 minicolumn coupled to a flow injection system for determination of caffeine in green and roasted coffee beans*. Food Chemistry. vol. 147, 2014, 182-188 p.

SAMOGGIA, A.; RIEDEL, B. – *Coffee consumption and purchasing behavior review: Insights for further research*. Appetite. vol. 129, 2018, 70-81 p.

SHEPHARD, G.S. – *Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century*. Analytical and Bioanalytical Chemistry. vol. 395, nº 5, 2009, 1215-1224 p.

SILVA, A.O. (2018) *O café para a reflorestação no Monte Gorongosa*. Euronews. 1 p.

SPILLER, G.A. (2013) *Caffeine*. CRC Press. 384 p.

STALMACH, A. (2012) *Bioavailability of Coffee Chlorogenic Acids*. In: Chu, Y-F. *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention*. Iowa: Wiley-Blackwell. Cap. 3, 59-73 p.

STELMACH, E.; POHL, P.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A. – *The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews*. Food Chemistry. vol. 182, 2015, 302-308 p.

SUCUPIRA, N.R.; SILVA, A.B.; PEREIRA, G.; COSTA, J.N. – *Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos*. UNOPAR Científica, Ciências Biológicas e da Saúde. vol. 14, nº 4, maio 2012, 263-269 p.

TAJIK, N.; TAJIK, M.; MACK, I.; ENCK, P. - *The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature*. European Journal of Nutrition. vol. 56, nº7, 2017, 2215-2244 p.

TANIWAKI, M.H.; TEIXEIRA, A.A.; TEIXEIRA, A.R.R.; COPETTI, M.V.; IAMANAKA, B.T. - *Ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in defective coffee beans*. Food Research International. vol. 61, 2014, 161-166 p.

TEKETAY, D. - *History, botany and ecological requirements of coffee*. Walia. vol. 20, janeiro 1999, 28-50 p.

TODA MATÉRIA (s/ data) – *Trópicos de Câncer e Capricórnio*. Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/tropicos-de-cancer-e-capricornio/>, acesso em: 22 de março de 2020.

USDA (2020) – *Coffee: World Markets and Trade*. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/coffee.pdf>, acesso em 10 de junho de 2020.

VIEIRA, T.; CUNHA, S.; CASAL, S. (2015) Mycotoxins in Coffee. In: Preedy, V.R. *Coffee in Health and Disease Prevention*. London: Academic Press. Cap. 25, 225-233 p.

VIGNOLI, J.A.; BASSOLI, D.G.; BENASSI, M.T. – *Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material*. Food Chemistry. vol. 124, nº 3, 2011, 863-868 p.

VYAS, T. (2018) – *Healthy version of Green Coffee*. Disponível em: <https://goqii.com/blog/tag/green-coffee-bean-weight-loss-fact-or-fiction/>, acesso em: 10 de dezembro 2020.

WELLMAN, F.L. (1961) *Coffee: Botany, Cultivation, and Utilization*. Londres: Leonard Hill, INC. 488 p.

WILLIS, H. (2008) – *Sensory Evaluation of Coffee: CupTesting*. Disponível em: <http://www.ciboj.org/sites/default/resources/pdf/CoffeeCuppingProgramManual.pdf>, acesso a: 29 de outubro de 2020.

XIMENES, M.A. (2010) *A Tecnologia Pós-colheita e Qualidade Física e Organoléptica do Café Arábica de Timor*. Tese de Mestrado em Engenharia Alimentar. Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior de Agronomia. Lisboa. 121 p.

YASHIN, A.; YASHIN, Y.; WANG, J.Y.; NEMZER, B. - *Antioxidant and antiradical activity of coffee*. Antioxidants. vol. 2, n°4, 2013, 230-245 p.

YISAK, H.; REDI-ABSHIRO, M.; CHANDRAVANSI, B.S. - *New fluorescence spectroscopic method for the simultaneous determination of alkaloids in aqueous extract of green coffee beans*. Chemistry Central Journal. vol. 12, n° 1, 2018, 1-7 p.

ZANONI, B.; PAGLIARINI, E.; PERI, C. - *Modeling the Aqueous Extraction of Soluble Substances from Ground Roasted Coffee*. Journal of the Science of Food and Agriculture. vol. 58, n° 2, 1992, 275-279 p.