

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES
DO JEQUITINHONHA E MUCURI - UFVJM

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO CAFÉ DO ALTO VALE DO
JEQUITINHONHA E COMPARAÇÃO DOS EFEITOS SUB-
CRÔNICOS DA CAFEÍNA E DO CAFÉ EM RATOS

IARA RIBEIRO RODRIGUES

DIAMANTINA - MG

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES
DO JEQUITINHONHA E MUCURI - UFVJM

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO CAFÉ DO ALTO VALE DO
JEQUITINHONHA E COMPARAÇÃO DOS EFEITOS SUB-
CRÔNICOS DA CAFEÍNA E DO CAFÉ EM RATOS

Iara Ribeiro Rodrigues

Orientador:
Profª. Dra. Nísia Andrade Vilela Dessimoni Pinto/UFVJM
Co-orientação:
Profª. Dra. Tania Regina Riul/UFVJM

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Orgânica, para a obtenção do título de “Mestre”.

DIAMANTINA - MG
2012

Ficha Catalográfica - Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecário Viviane Pedrosa
CRB6 - 2641

R696c

Rodrigues, Iara Ribeiro

2012

Composição química do café do Alto Vale do Jequitinhonha e
comparação dos efeitos sub-crônicos da cafeína e do café em ratos. –
Diamantina: UFVJM, 2012.
97p.

Orientador: Nisia Andrade Villela Dessimoni Pinto

Coorientador: Tania Regina Riul

Dissertação (Mestrado em Química) - Faculdade de Ciências Exatas e
Tecnológicas- FACET, Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri.

1. Café 2. Composição química 3. Qualidade 4. Cafeína 5. Efeitos
fisiológicos 6. Wistar I. Título.

CDD 633.73

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus amados pais por não terem desistido de me oferecer condições de realizar os meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus por jamais me abandonar e deixar de me dar força.

À minha mãe Amélia de Fátima Ribeiro Rodrigues, meu pai Antonio Pedro Rodrigues e minha irmã Daniela por serem a base na qual pude formar meu caráter e terem me oferecido apoio em todos os momentos.

A todos os meus familiares que sempre estiveram ao meu lado torcendo por mim.

Ao meu noivo Idelvan, pela paciência e incentivo que me ajudaram a chegar ao fim desses dois anos de curso.

A minha orientadora e chefe Prof^ª. Dr^ªNísia Andrade Villela Dessimoni Pinto por todas as oportunidades e toda compreensão que sempre me ofereceu.

À Prof^ª. Dr^ª Tania Regina Riul pela coorientação, toda ajuda, paciência e apoio.

Ao Prof. Dr. Enilson de Barros Silva pela disposição em me auxiliar quando precisei.

Ao Vinicius por me oferecer os meios para iniciar esse trabalho.

Aos técnicos de laboratório Alexandre e Dirceu, muito obrigado.

Às alunas de Nutrição, Iana Lacerda, Ana Paula e Anne Caroline pela disposição em auxiliar.

Aos alunos de mestrado Tiago Guedes e Clináscia Araújo.

A todos os amigos do laboratório de Tecnologia de Biomassas do Cerrado e Nutrição Experimental.

A todos os meus colegas de curso.

A todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho, muito obrigado!

RESUMO

RODRIGUES, I. R. **Composição Química do café do Alto Vale do Jequitinhonha e Comparação dos Efeitos sub-crônicos da cafeína e café em ratos**. 2012. 97 p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Química). Faculdade de Ciências Exatas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina - UFVJM, 2012.

O café está entre os produtos agrícolas de maior importância no comércio internacional e sua qualidade como produto é um importante fator na formação de preço, além de ser uma das bebidas mais consumidas mundialmente e por isso desperta o interesse para os estudos dos efeitos fisiológicos dos seus constituintes. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os constituintes açúcares, sólidos solúveis totais, fenólicos, flavonóides, cafeína e determinar a acidez total, o pH e a atividade antioxidante por diferentes métodos (DPPH, ABTS●+ e FRAP) no grão de café cru. Também avaliar os efeitos do tratamento sub-crônico com cafeína e café no peso corporal e dos órgãos (baço, coração, fígado, rins, supra renais e testículos), comprimento dos ossos (fêmur e tibia), ingestão de alimentos (sólidos e líquidos) e parâmetros bioquímicos (colesterol total, glicemia e triglicérides) em ratos machos Wistar. Foram utilizados 30 ratos: Controle (C) – receberam ração e água; Cafeína (CA) – receberam ração e água contendo 0,1% de cafeína; Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína; Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína; café 0,025% (CC25) - receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína. As amostras de café das safras de 2010 e 2011 analisadas, apresentaram diferenças significativas para os teores de fenólicos totais, flavonóides, cafeína, sólidos solúveis, açúcares totais e não-redutores, além de acidez total e pH. A atividade antioxidante total para os métodos utilizados (ABTS, DPPH e FRAP) e teor de açúcares redutores não variaram significativamente de um ano para o outro. No ensaio biológico os animais CC1 pesaram menos do que os C, CC5 e CC25. Em relação ao baço, os CC5 pesaram menos do que os C e CC25; os CC1 menos do que os C. As supra renais dos CC1 pesaram menos do que as dos Ca e CC25. Os CC1 apresentaram menor peso dos testículos do que os C, CA, CC5 e CC25 e os CC25 pesaram mais do que os C. Os ratos CC1 apresentaram menor comprimento do fêmur do que os C, CC5 e CC25 e menor tibia do que os C, CA, CC5 e CC25. Os animais CC25 apresentaram maiores taxas de glicemia do que os CC1 e CC5 e os CC1 maiores taxas de colesterol total do que os C e CC25. Os animais CC1 comeram menos do que os C durante o tratamento e beberam menos na primeira semana. Os resultados obtidos poderão servir de auxílio para

maior conhecimento sobre a interferência dos compostos químicos na qualidade da bebida de café e compreensão de seus efeitos metabólicos no organismo.

Palavras-Chaves: café, composição química, qualidade, cafeína, efeitos fisiológicos, wistar.

ABSTRACT

RODRIGUES, I.R. **Chemical Composition of the Coffee High Jequitinhonha Valley and Comparison of sub-chronic effects of caffeine and coffee in rats.** 2012. 97 p .Dissertation (Graduate Program in Chemistry).Faculty of Natural Sciences, *Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri*, Diamantina - UFVJM, 2012.

Coffee is among the most important agricultural products in international trade and its quality as a product is an important factor in price formation, besides being one of the most widely consumed beverages worldwide and therefore arouses interest for studies of the physiological effects of its constituents. Thus, the present study was to evaluate the constituent sugars, soluble solids, phenolics, flavonoids, caffeine and determine the total acidity, pH and activity antioxidantepor different methods (DPPH, FRAP and ABTS • +) in raw coffee beans . The objective was also to evaluated the effects of sub-chronic treatment with coffee and caffeine on body weight and organs (spleen, heart, liver, kidneys, adrenals and testicles); bone's length (femur and tibia); food intake (solid and liquid) and biochemical parameters (total cholesterol, glucose and triglycerides) in male Wistarrats.A total of 30 rats were used: Control (C) - received food and water; Caffeine (CA) - received food and water containing 1% caffeine; Coffee 1% (CC1) - received food and coffee containing 1% caffeine; Coffee 0.05% (CC5) - received food and coffee containing 0.05% caffeine; coffee 0.025% (CC25) - received food and coffee containing 0.025% caffeine. Samples of coffee crop in 2010 and 2011 analyzed showed significant differences in the levels of total phenolics, flavonoids, caffeine, soluble solids, total sugars and non-reducing sugars, and total acidity and pH. The total antioxidant activity for the methods (ABTS, DPPH and FRAP) and reducing sugars did not vary significantly from one year to another. In the biological tests the animals CC1 weighed less than the samples C, CC25 and CC5.Regarding the spleen, CC5 weighed less than C and CC25; the CC1 less than C.The adrenal glands of CC1 weighed less than that of the Ca and CC25.The CC1 testicles weighed less than C, CA, CC5 and CC25; and CC25 were heavier than C.The CC1 rats had lower femur length than C, CC5 and CC25; and lower tibia than the C, CA, CC5 and CC25.The CC25 animals showed higher rates of glucose than the CC1 and CC5; and CC1 higher total cholesterol than the C and CC25.CC1 animals ate less than C during the treatment and drank lessduring the first week.The results obtained may serve as an aid to improve the quality of coffee beverage and the understanding of its metabolic effects in the body.

Key Words: coffee, chemical composition, quality, caffeine, physiological effects, Wistar.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. Composição química do café sob influência de ácido cítrico via solo.

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	16
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 O café, processamento, classificação e qualidade	17
3.2 Composição química do grão de café	21
3.2.1 Açúcares	22
3.2.2 Compostos fenólicos totais	23
3.2.3 Cafeína	27
3.2.4 Sólidos Solúveis	29
3.2.5 Acidez e pH	30
3.3 Antioxidantes	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 Equipamentos	35
4.2 Obtenção e preparo das amostras	35
4.3 Composição química	36
4.3.1 Açúcares	36
4.3.2 Fenólicos totais e flavonóides	37
4.3.3 Cafeína	37
4.3.4 Características físico-químicas	38
4.3.5 Atividade Antioxidante	38
4.3.6 Análise estatística	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
6. CONCLUSÃO	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

CAPÍTULO 2. Comparação dos efeitos sub-crônicos da cafeína e três doses de café em ratos Wistar em fase de crescimento.

1. INTRODUÇÃO	56
2. OBJETIVOS	58
3. REVISÃO DE LITERATURA	59
4. MATERIAL E MÉTODOS	68

	22
4.1 Animais	68
4.2 Soluções experimentais.....	70
4.3 Índice e parâmetros avaliados	70
4.3.1 Curva de crescimento e consumo alimentar	70
4.3.2 Análise bioquímica.....	71
4.3.3 Teor de minerais ósseo e comprimento da tíbia e fêmur	71
4.3.4 Análise dos órgãos.....	71
4.4 Análise estatística.....	72
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1 Curva de crescimento e consumo alimentar	73
5.1.1 Peso corporal	73
5.1.2 Ingestão de ração	75
5.1.3 Ingestão de líquidos	77
5.2 Análise bioquímica	79
5.2.1 Glicose	79
5.2.2 Colesterol	81
5.2.3 Triglicérides	83
5.3 Teor de minerais ósseo e comprimento da tíbia e fêmur	84
5.3.1 Minerais totais	84
5.3.2 Comprimento do fêmur e da tíbia	86
5.4 Análise dos órgãos	87
6. CONCLUSÃO	93
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1. Composição química do café sob influência de ácido cítrico via solo.

FIGURA 1- O cafeeiro e os frutos de café	17
FIGURA 2- Etapas envolvidas no processo produtivo do café	20
FIGURA 3- Estruturas dos ácidos clorogênicos	25
FIGURA 4- Estrutura básica dos flavonóides	26
FIGURA 5- Principais classes de flavonóides	27
FIGURA 6- Estrutura da cafeína	28
FIGURA 7- Estrutura da teofilina e teobromina	28
FIGURA 8- Redução do complexo TPTZ com Fe ³⁺	33
FIGURA 9- Estabilização do radical ABTS por antioxidante.....	34
FIGURA 10- Estabilização do radical-livre DPPH	34
FIGURA 11- Distribuição mensal da precipitação pluviométrica, temperatura máxima e mínima em Diamantina/MG no período de estudo.....	41

CAPÍTULO 2. Comparação dos efeitos sub-crônicos da cafeína e três doses de café em ratos Wistar em fase de crescimento.

FIGURA 1- Estrutura química da cafeína	60
FIGURA 2- Estrutura química da adenosina	61
FIGURA 3- Estrutura química da glicose	62
FIGURA 4- Estrutura química da epinefrina.....	63
FIGURA 5- Estrutura química do caveol e cafestol.....	64
FIGURA 6- Ratos em gaiolas individuais.....	69
FIGURA 7- Peso corporal dos animais ao longo de 5 semanas de tratamento.....	73
FIGURA 8- Ingestão de ração dos animais ao longo de 5 semanas de tratamento.....	75
FIGURA 9- Ingestão de líquido dos animais ao longo de 5 semanas de tratamento.....	78
FIGURA 10- Taxa de glicemia dos animais.....	80
FIGURA 11- Taxa de colesterol.....	82
FIGURA 12- Taxa de triglicérides	83
FIGURA 13- Minerais totais	84
FIGURA 14- Comprimento do fêmur e tíbia	86

FIGURA 15- Peso do baço	88
FIGURA 16- Peso das supra-renais	89
FIGURA 17- Peso dos testículos	91

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1. Composição química do café sob influência de ácido cítrico via solo.

TABELA 1- Características sensoriais dos cafés arábica e robusta	18
TABELA 2- Principais defeitos do café, causas, modo de evitar e prejuízos	21
TABELA 3- Teor de cafeína em mg presente em uma xícara (150 mL)	29
TABELA 4- Constituintes do café cru nas safras 2010 e 2011.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS-2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

ACG -Ácidosclorogênicos

AT -Acidez total

AVC-Acidente vascular cerebral

DPPH-1,1-difenil-2-picrilhidrazil

FRAP -Ferric reducing antioxidant Power

HDL-lipoproteínas de alta densidade

LDL -Lipoproteínas de baixa densidade

MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

PPO -Polifenoloxidase

PVA -Pretos, verdes e ardidos

SNC -Sistema nervoso central

SS -Sólidos solúveis

TPTZ-2,4,6-tripiridil-s-triazina

UCP-2 -Proteínasdesacopladoras

VLDL-Lipoproteínas de muito baixa densidade

Capítulo 1

Composição química do café do Alto Vale do Jequitinhonha.

1 INTRODUÇÃO

O café está entre os produtos agrícolas de maior importância no comércio internacional e o Brasil é o maior produtor mundial na frente de Vietnã, Colômbia e Indonésia. O Brasil produz sozinho o que esses três países produzem juntos do total de café verde mundial como apresentou o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Entre os fatores que contribuíram pelo destaque da cafeicultura do país estão à alta competitividade, presença de baixos custos de produção, desenvolvimento de técnicas de cultivo e qualidade dos grãos.

A importância da cafeicultura não está somente no mercado externo, pois além de produtor, o Brasil está entre os maiores consumidores mundiais de café e esta atividade é geradora de inúmeros empregos diretos e indiretos. Entre os estados produtores, o estado de Minas Gerais é o líder. Pode-se dizer que a região sul/sudoeste de Minas Gerais é a responsável por grande parte desse desempenho do estado.

Em relação à qualidade do café, esta é determinada por testes sensoriais chamados de “prova de xícara” realizados por provadores treinados que identificam os variados padrões de bebidas. Como estes testes são subjetivos e passíveis de erros, o que se observa é a necessidade de mais pesquisas que os complementem através de avaliações químicas. Já é possível encontrar trabalhos que tentam relacionar a composição físico-química do grão de café e sua qualidade determinada pela prova de xícara, utilizando-se para isso testes simples e precisos.

Em uma xícara de café encontram-se mais de 800 compostos que são os responsáveis pelo sabor e aroma característicos. Estes últimos são formados durante o processo de torra devido às diversas reações químicas que ocorrem entre os componentes do grão de café verde. Verifica-se uma direta relação entre a qualidade do café e composição físico-química do grão. Podem-se citar como determinantes desta qualidade final a concentração de proteínas, cafeína, trigonelina, carboidratos, lipídios e compostos fenólicos presentes.

Cuidados pré e pós-colheita devem ser observados para que se obtenha um produto de melhor qualidade. Entre esses cuidados podem-se citar espécie ou variedade, número e grau de impurezas e defeitos, formato dos grãos, tamanho, aspecto, cor, secagem, preparo, torração e sabor da bebida. Muitos dos compostos do café são influenciados pelas interações entre

condições climáticas, do solo e de adubação o que contribui para a diversidade de sabores e aroma da bebida. Observam-se diferentes qualidades de café ocasionadas por esses interferentes na formação e maturação dos grãos.

Condições de manejo, adubação e estado nutricional do cafeeiro são importantes fatores de interferência na composição do grão cru de café, e este último está relacionado com a qualidade da bebida. Práticas de adubação apropriadas são necessárias tanto por influenciar a produção quanto a qualidade da bebida já que suas consequências são observadas no estado nutricional da planta e na composição do grão.

2 OBJETIVOS

Determinar a composição química e físico-química e atividade antioxidante *in vitro* de cafés do Alto Vale do Jequitinhonha, em dois anos de colheita.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O café, processamento, classificação e qualidade

O cafeeiro (Figura 1) pertence ao gênero *Coffea* que inclui pelo menos 60 espécies, sendo que somente duas são importantes economicamente, *Coffea arábica* L.(café arábica) e *Coffea canephora* L.(café robusta) representando 70% e 30% da produção mundial, respectivamente. Diferenças nas suas características botânicas, genéticas, agrônômicas, químicas e morfológicas fazem com que essas espécies sejam divergentes entre si (LOPES, 2000).

As lavouras brasileiras são na maioria pertencentes à espécie arábica, que se desenvolvem em altitudes entre 600 e 2.200 metros, temperaturas entre 15 e 24°C e precipitação pluviométrica entre 1.200 e 2.200 mm. A espécie robusta se desenvolve melhor em altitudes de 0 a 800 metros, temperaturas de 18 a 36°C e precipitação pluviométrica de 2.200 a 3.000 mm, apresentando maior importância para países como Angola, Costa do Marfim, Congo e Indonésia (LOPES, 2000; PINTO, 2002).





Figura 1 – O cafeeiro e os frutos de café

No Brasil é feita somente uma colheita obtendo grãos originados de diferentes floradas. O café processado por via seca fica em torno de 90% e é chamado de natural. Logo depois de colhido, os grãos são secos em terreiros ou secadores dependendo das condições climáticas e leva em torno de 10 a 20 dias. Por ser um processamento artesanal a mão-de-obra deve estar treinada para observar as mudanças dos grãos. O café produzido possui as características de ser encorpado, de acidez média e aroma suave (PINTO, 2002).

O café arábica produz bebidas de melhor qualidade e é mais bem aceita pelo consumidor. Os cafés arábica apresentam preços mais altos ao contrário do robusta. O arábica apresenta aroma intenso e variados sabores com diversas variações de corpo e acidez (tabela 1). A espécie robusta é usada mais frequentemente em misturas e na indústria de café solúvel por conter maior teor de sólidos solúveis e conseqüentemente maior rendimento industrial, além de não possuir os sabores variados e mais refinados do arábica (PINTO, 2002; RELVAS et al., 1997).

Tabela 1 – Características sensoriais dos cafés Arábica e Robusta

CARACTERÍSTICA	ARÁBICA	ROBUSTA
Aroma	Intenso	Suave
Sabor	Grande variedade de nuances	Único, característico
Cor dos grãos	Esverdeada	Marrom pronunciado
Acidez	Alta	Baixa
Cafeína	Menor quantidade	Maior quantidade

Fonte: Relvas et al., 1997

De acordo com Pinto (2002), no Brasil é pouco utilizado o processamento por via úmida na qual separa os grãos maduros, logo após elimina-se a polpa e a casca (retardam a secagem por serem fontes de fermentação). O café obtido é de boa qualidade não dependendo do local onde foi feita a secagem. A diferença entre os métodos de secagem está no teor de sólidos solúveis, aqueles naturais apresentam maiores níveis.

No Brasil, as classificações que levam em consideração a qualidade avaliam características físicas do grão que são o tipo, cor e peneira e as características sensoriais (prova de xícara). Através da soma do número de defeitos encontrados em 300g de café beneficiado realiza-se a classificação por tipo. A cor verifica o nível de envelhecimento do café beneficiado com as denominações verde, esverdeado, amarelo claro e vermelho e é influenciada pelos fatores teor de umidade, índice de maturação, tempo de exposição à luz, método de secagem e preparo e condições de armazenamento. Na classificação por peneiras, tem-se estas numeradas de 12 a 19 para café chato e de 9 a 13 para café moca de acordo a dimensão dos crivos da peneira. A separação dos grãos em diferentes tamanhos faz com que se obtenha uma torração mais homogênea (BARBOSA, 2002).

Classifica-se também o café pelo sabor da bebida realizada por degustadores. A espécie arábica apresenta variedade de sabores e os padrões são o mole, de gosto suave, agradável e adocicado; dura de gosto áspero e adstringente; riada com gosto ligeiramente químico lembrando iodo; rio de gosto mais acentuado do que riada e finalmente rio zona de forte gosto químico (RELVAS et al., 1997).

Segundo Barbosa (2002) diversos fatores que se relacionam em todas as etapas da produção do café contribuem para a obtenção de um café de qualidade (Figura 2). A qualidade da bebida do café relaciona-se com a satisfação dos consumidores com as combinações de sabores que se tornam pronunciadas após a torração dos grãos. A composição do grão cru é que vai ser determinante para que se consiga um café com sabor e aroma de qualidade. Entre os fatores prejudiciais a qualidade de café destacam-se a presença de grãos verdes, temperaturas inadequadas de secagem e condições adversas de armazenamento. De acordo com Oliveira (2006), a presença de defeitos pode ser incluída como um importante interferente na qualidade.



Figura 2 – Etapas envolvidas no processo produtivo do café. Fonte: Barbosa (2002).

Grãos de café colhidos no estágio de maturação verde por não terem atingido a maturação fisiológica originam um produto de aspecto e torração de pior qualidade afetando diretamente a bebida. Com a presença de 10% de grãos verdes, uma bebida considerada mole passa a ser bebida dura, apresentando sabor adstringente. A temperatura do ar de secagem deve ser no máximo 75°C, temperaturas superiores originam um produto de qualidade inferior. Temperaturas inferiores a 30°C podem permitir desenvolvimento de microorganismos desencadeando processos fermentativos prejudiciais a bebida do café (BARBOSA, 2002).

Em relação à presença dos defeitos pretos, verdes e ardidos (PVA), têm-se poucas informações quanto as suas causas. O defeito preto apresenta cor preto-opaca no grão, o ardido cor parda ou marrom e o verde a cor verde cana. Esses defeitos, além de prejudiciais a bebida, ocasionam perdas econômicas por pesarem menos que grãos saudios. Na Tabela 2 indicam-se os diferentes defeitos e sua origem (OLIVEIRA, 2006).

Tabela 2 – Principais defeitos do café, causas, modo de evitar e prejuízos.

NATUREZA	CAUSA	MODO DE EVITAR E ELIMINAR	PREJUÍZOS NA QUALIDADE
Preto	Permanência prolongada dos frutos no pé e contato com o chão	Colheita racional, catação manual ou eletrônica	Aspecto, cor, torração e bebida
Ardido	Colheita de frutos verdes e Permanência prolongada dos frutos no pé e contato com o chão	Colheita racional, catação manual ou eletrônica	Aspecto, cor, torração e bebida
Verde	Colheita de frutos verdes	Colheita em época certa. Emprego de separador de verdes, catação	Aspecto, cor, torração e bebida
Concha	Problema genético da variedade e efeito climático	Manejo racional da cultura. No beneficiamento e na catação	Aspecto e torração
Chocho	Problemas genéticos, climáticos (seca) e carência nutricional	Troca de variedade e manejo racional da cultura. Ventilação adequada no benefício. Catação manual ou mecânica	Aspecto e torração
Mal granado	Problemas climáticos (seca) e carência nutricional	Nutrição adequada e irrigação. Separação no beneficiamento. Catação manual ou mecânica	Aspecto e torração
Brocado	Ataque da broca-do-café	Controle a broca. Catação manual ou mecânica	Aspecto e torração
Quebrado	Secagem inadequada e má regulação do descascador	Secador adequado. Regulação dos ventiladores. Catação manual ou mecânica	Aspecto e torração
Coco e marinheiro	Má regulação do descascador	Regulação do descascador. Separação no beneficiamento e catação manual	Aspecto e torração
Paus, pedras, torrões e cascas	Colheita por derriça no chão e abanação mal feita	Colheita por derriça no pano, emprego de lavadores e seletores. Regulação do catador e da ventilação no beneficiamento. Catação manual	Aspecto e torração

Fonte: Oliveira (2006)

3.2 Composição química do grão de café

A composição química do grão de café pode variar devido a diversos fatores como clima, região, altitude, solo, espécie, manejo pré e pós-colheita. Essa variação contribui para a obtenção de bebidas com características sensoriais diferentes, pois quando o grão cru é submetido à torração ocorrem diversas reações responsáveis por tais características(OLIVEIRA, 2006).

Os teores ideais das substâncias responsáveis pelas características físicas e sensoriais do café são alcançados quando o fruto atinge a maturação. Ações adversas que venham a ocorrer no fruto podem comprometer o desenvolvimento fisiológico normal do grão, entre elas estão injúrias causadas por invasões microbianas e efeitos consequentes da má condução da lavoura. A ocorrência de anormalidades no metabolismo dos frutos pode promover síntese de compostos químicos prejudiciais à qualidade (BARBOSA, 2002).

A casca dos frutos do cafeeiro perde sua coloração verde adquirindo cor vermelha ou amarela, na qual ocorre degradação de clorofila e síntese de pigmentos como carotenoides. Síntese de açúcares, componentes voláteis (ésteres, aldeídos, cetonas, etc.), alterações nos ácidos presentes e diminuições no teor de compostos fenólicos responsáveis pela adstringência dos frutos marcam o período da maturação. Durante o amadurecimento dos frutos destaca-se o aumento na quantidade de açúcares solúveis enquanto se verifica a degradação de polímeros de parede (PINTO, 2002).

3.2.1 Açúcares

Segundo Pinto (2002) diz que a sacarose é o açúcar encontrado em maior quantidade no grão cru estando entre os teores de 6 a 10% no café arábica e de 5 a 7% no café robusta. Fatores como espécie, variedade, maturidade dos grãos, condições de processamento e estocagem interferem nos teores de sacarose. Açúcares redutores variam entre 0,1 e 1% em cafés arábica e entre 0,4 e 1% no robusta. Glicose e frutose estão presentes em maiores níveis e em menores quantidades encontram-se estaquiose, rafinose, arabinose, manose, galactose, ribose e ramnose.

Ramalakshmi et al. (2007) relatam que a sacarose foi o principal carboidrato encontrado em grãos de café verde, na faixa de 3 a 5%. Nos grãos defeituosos o teor de sacarose foi ligeiramente menor, sendo relacionado à presença de grãos imaturos já que o grau de maturação interfere no acúmulo deste açúcar no café verde. Uma bebida de qualidade esta

associada com grãos de café com alto teor de sacarose. Observando-se o método de beneficiamento, a matéria prima obtida por via seca apresentou maior conteúdo de sacarose se comparado à via úmida sendo que este comportamento ocorreu devido a processos fermentativos.

Segundo Barbosa (2002) a associação dos açúcares com qualidade do café ocorre pelo fato destes estarem relacionados com a origem dos diversos voláteis formados durante a torração juntamente com os aminoácidos presentes no grão. Barrios (2001) diz que de modo geral os açúcares são mais importantes por participarem de reações que ocorrem durante a torração como de Maillard e na caramelização, responsáveis por formação de cor, sabor e aroma característicos da bebida de café.

Segundo Barrios (2001) a presença de certos compostos orgânicos nos grãos de café cru são indicativos de qualidade, mas em relação aos açúcares não está definido qual deve ser o tipo e a concentração que vão exercer maior influência na qualidade da bebida.

Durante o processo de torra os polissacarídeos se decompõem, sendo que seu teor no café pode variar de 24 a 30% de acordo com o grau de torrefação dos grãos. A sacarose desaparece rapidamente durante esse processamento sobrando em torno de 3 a 4% em relação à composição inicial após a torra clara, em torno de 1% na torra regular e após a torra escura reage completamente para originar outros compostos como monossacarídeos, precursores de ácidos e aldeídos responsáveis pelo flavour (OLIVEIRA, 2006).

Em relação às condições climáticas, o teor de açúcares parecem estar relacionados também ao local onde foi produzido o café. Foram encontrados uma média 1,87% de açúcares redutores em grãos originados do Triangulo Mineiro/Alto Paranaíba, 1,39% para o sul de Minas e 0,95% para cafés oriundos da Zona da Mata. A maior concentração de açúcares para as amostras do Triangulo Mineiro/Alto Paranaíba é justificado pelo fato das condições climáticas da região proporcionar um amadurecimento mais homogêneo dos frutos (BARRIOS, 2001).

3.2.2 Compostos fenólicos

Os fenólicos são um grupo de compostos que abrange grande variedade de estruturas, sendo que sempre apresentam ao menos um anel aromático contendo grupamentos hidroxilas.

Estes compostos são originados do metabolismo secundário de vegetais sendo encontrados na forma livre ou ligados a açúcares e proteínas (ARAÚJO, 2011).

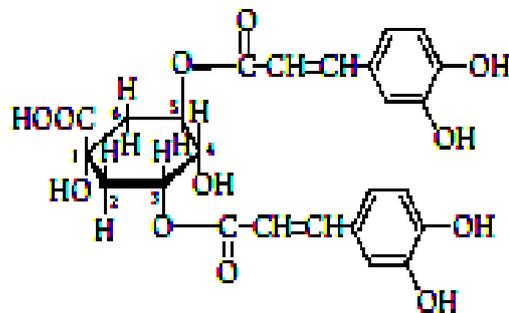
Na maioria dos vegetais são encontrados uma gama de fenólicos e as substâncias pertencentes a esse grupo. São substâncias de estruturas químicas heterogêneas e estão representados desde estruturas químicas simples até outras complexas, como os taninos. A presença destes compostos no café interfere de forma bem significativa para o sabor e aroma do produto final, pois são responsáveis pela adstringência dos frutos. Cafés de melhor qualidade tendem a conter menor quantidade de fenólicos (PINTO, 2002).

A quantidade de compostos fenólicos presentes no café está inversamente relacionada ao grau de maturação, ou seja, frutos mais maduros apresentam baixos índices destes compostos, conseqüentemente bebidas menos adstringentes e de melhor qualidade (PINTO, 2002).

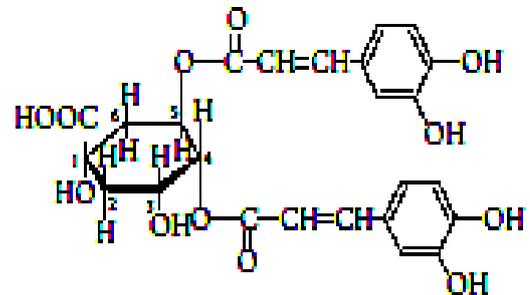
Segundo Barbosa (2002) os compostos fenólicos não são encontrados na forma livre e sim ligados a outras moléculas. Por exemplo, os ácidos clorogênicos (ACG) podem ser encontrados esterificados a ácidos orgânicos, grupos amino, lipídeos, açúcares e outros fenóis. Os ACG são os principais compostos fenólicos presentes no café devido se apresentarem em maior teor. O teor destes compostos dependem da espécie, variedade, fatores fisiológicos, local de cultivo, além da técnica de extração e o método de análise.

Barrios (2001) relata que os ACG (Figura 3) são ésteres do ácido quínico com resíduos cinâmicos. O primeiro relato sobre a existência desses compostos foi em 1937 e desde então tem sido alvo de diversos estudos. O nome ácido clorogênico é a forma geral de se denominar o grupo de ésteres do ácido quínico com um ou mais resíduos de ácido cinâmico. O café robusta contém entre 7 e 10% de ACG e o arábica de 5 a 7,5%. Os grãos velhos e sem cor possuem menor quantidade de ACG extraível e com menor atividade em polifenoloxidase (PPO).

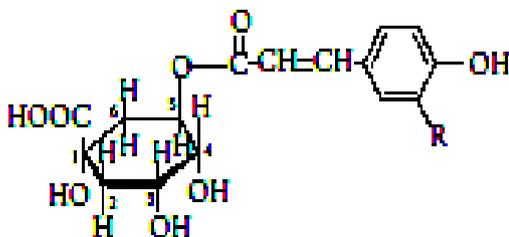
Ácidos Clorogênicos (ACG)



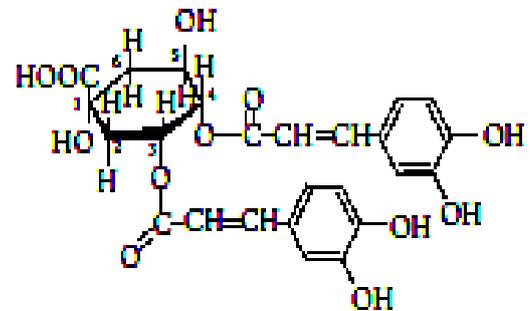
Ácido 3,5-dicafeoilquinico
(3,5-AdiCQ)



Ácido 4,5-dicafeoilquinico
(4,5-AdiCQ)



- R = H, ácido 5-p-cumaroilquinico (5-ACQ)
 R = OH, ácido 5-cafeoilquinico (5-ACQ)
 R = OCH₃, ácido 5-feruloilquinico (5-AFQ)



Ácido 3,4-dicafeoilquinico
(3,4-AdiCQ)

Figura 3 – Estruturas dos ácidos clorogênicos. Fonte: Oliveira (2006).

Os polifenóis, com destaque para os ACG e ácido cafêico, exercem ação protetora antioxidante dos aldeídos. Em condições prejudiciais ao grão de café como colheita inadequada, problemas no processamento e armazenamento, as PPO começam a agir sobre os polifenóis de forma a diminuir sua propriedade antioxidante sobre os aldeídos tornando a oxidação destes compostos mais facilitada. Nesse caso há uma interferência negativa no sabor e aroma do café após a torração (PINTO, 2002).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos ocorre possivelmente devido a sua capacidade em sequestrar radicais-livres agindo como agentes redutores ou quelantes de metais de transição. Eles podem atuar na etapa de iniciação ou na propagação do processo oxidativo (ARAÚJO, 2011).

Os compostos fenólicos são o principal substrato da PPO e encontram-se compartimentalizados em células intactas. Quando ocorrem danos aos tecidos promovidos por injúrias, a enzima e o substrato interagem causando as reações indesejáveis comprometendo a qualidade (BARBOSA, 2002).

Os flavonoides pertencem ao grupo dos compostos fenólicos e são metabólitos secundários sintetizados pelas plantas. Possui funções de pigmentação em frutas, flores, sementes e folhas, estão envolvidos em muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento de vegetais, na resistência a patógenos e na proteção a radiação ultravioleta (HUBER et al., 2008).

Huber et al. (2008) citam que os flavonoides tem sua formação baseada na combinação de derivados sintetizados a partir da fenilalanina e ácido acético. Sua estrutura é composta de dois anéis fenólicos e um anel que pode ser pirano heterocíclico (como catequina e antocianidinas) ou pirona que contém um grupo carbonila na posição C-4 do anel (como flavonas, isoflavonas e flavanonas) (Figura 4).

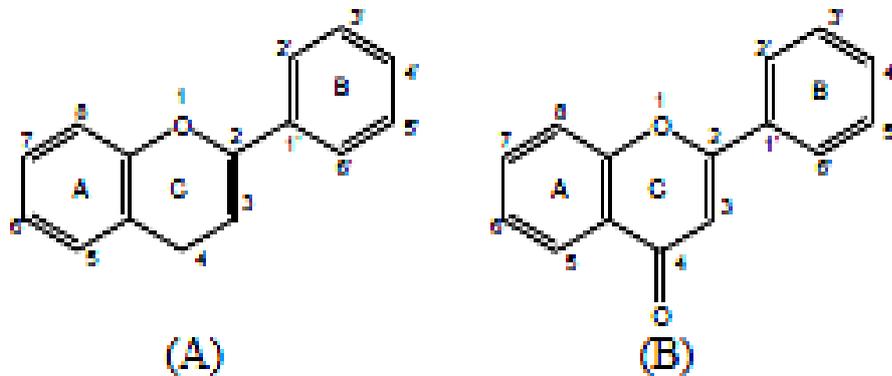


Figura 4 – (A) Estrutura básica dos flavonoides e (B) Estrutura básica dos flavonoides com grupo carbonila no C-4. Fonte: Huber et al. (2008).

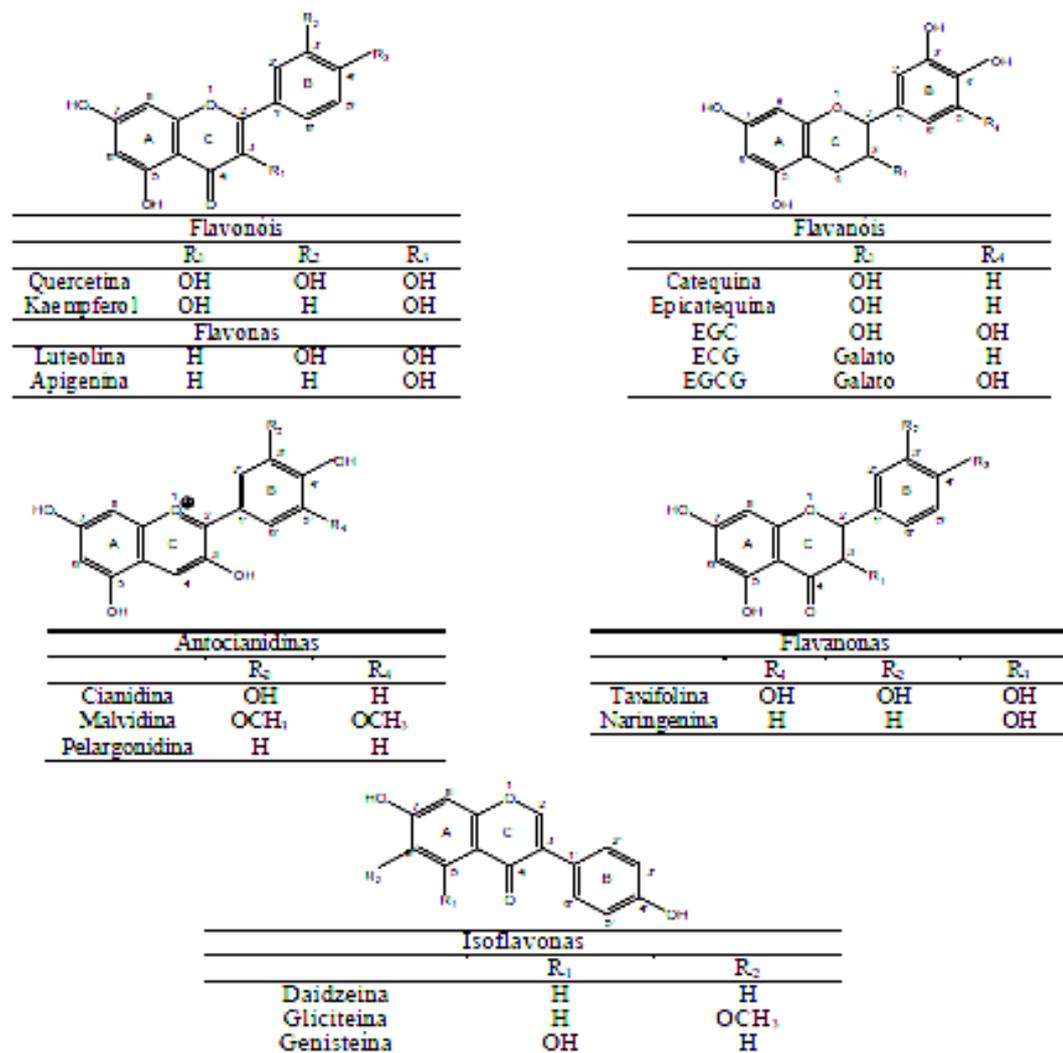


Figura 5 – Principais classes dos flavonoides. Fonte: Huber et al. (2008).

A informação sobre a composição de flavonoides e flavonas em alimentos é ainda insuficiente no mundo sendo que essa carência é maior no Brasil. Os chás preto e verde e erva mate são muito ricos em quercetina, entre as frutas, pitanga e caju são as melhores fontes contendo quercetina, Kaempferol e miricetina. As quantidades de flavonoides encontradas nos alimentos apesar de determinadas geneticamente, podem também ser influenciadas pela estação do ano, clima, composição do solo, estágio de maturação, processamento e estocagem (HUBER et al., 2008).

3.2.3 Cafeína

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) (Figura 6) é o principal alcaloide encontrado no café, mas podendo estar presentes também em quantidades pequenas teofilina (1,3-dimetilxantina)

e teobromina (3,7-dimetilxantina) (Figura 7). O teor de cafeína no grão de café verde difere de acordo com a espécie, o café robusta alcança níveis entre 1,6 e 2,4% e o café arábica entre 0,8 a 1,2%. Apresenta estabilidade térmica ocorrendo apenas pequenas perdas com o processo de torração, quantidades mínimas que são sublimadas na temperatura de 176°C (OLIVEIRA, 2006; PINTO, 2002).

Siqueira et al. (2006) observaram pequeno decréscimo no teor de cafeína em grãos de café à medida que aumentava o grau de torração, não quantificando diferenças nos teores desta substância para diferentes processamentos (via seca e via úmida).

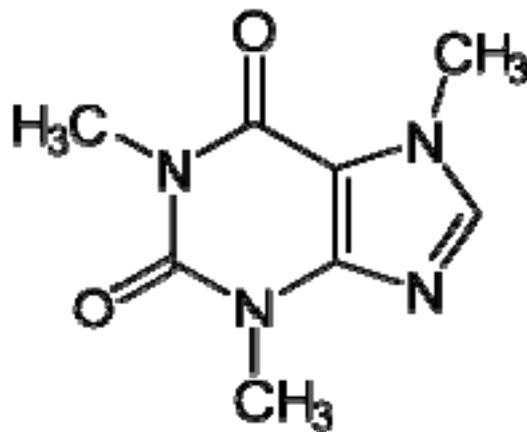
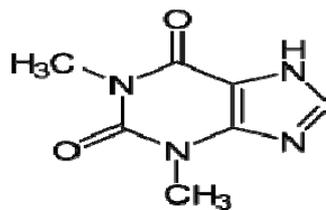
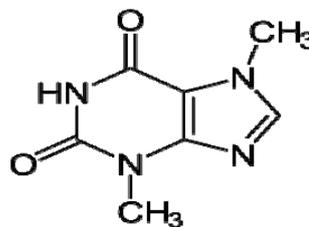


Figura 6 – Estrutura da cafeína. Fonte: Oliveira (2006).



(A)



(B)

Figura 7 – Estrutura da teofilina (A) e teobromina (B).

A quantidade de cafeína também pode variar de acordo com fatores como método de cultivo, condições de crescimento, além de aspectos genéticos e sazonais. No caso da bebida,

além da quantidade de pó usada há outros interferentes como o tipo de produto (torrado ou instantâneo, descafeinado ou normal) e o modo de preparo (VILELA et al., 2007).

A quantidade de cafeína presente no café é responsável pelo gosto amargo, mas o teor não possui efeito direto na qualidade sensorial. É possível que à medida que se conhecer melhor a relação entre os componentes do café possa usar a quantidade de cafeína em determinada variedade como índice de qualidade. (LOPES, 2000)

Esta substância não apresenta valor nutricional como outros compostos do café sendo classificado com um alcaloide farmacologicamente ativo, estimulando o sistema nervoso central. Quando ingerida, a cafeína é rapidamente absorvida pelo intestino e alcança sua concentração máxima na corrente sanguínea de 15 a 120 minutos (VILELA et al., 2007).

Tabela 3 – Teor de cafeína em mg presente em uma xícara (150 mL)

Tipo de bebida	Teor de cafeína
Café instantâneo	43,2 (31,5 – 51,0)
Café filtrado	27,0 (15,8 – 32,2)
Expresso	125 a 165
Descafeinado	1,6 (0,5 – 2,0)
Bebida energética	49,5
Iced tea	4,2 – 5,4
Refrigerante de cola	10,2 – 18,0

Fonte: Vilela et al. (2007).

3.2.4 Sólidos Solúveis

Segundo Lopes (2000) o teor de sólidos solúveis (SS) são de maior importância para o rendimento industrial, informações sobre conteúdo de SS das espécies são de grande relevância para serem repassadas ao setor industrial e aos trabalhos de melhoramento genético. Diferentes espécies e cultivares apresentam variação no teor de SS. O café robusta mostra valores entre 26,1% e 30,6% enquanto que o arábica entre 23,9 a 27,3%, no geral sendo a diferença entre as espécies de 2,0%.

Em relação aos cultivares, Lopes (2000) mencionam que o Catuí possui teores de 30,7 e 29,6% para grãos verde e cereja respectivamente, enquanto que a cultivar Mundo Novo tem os teores 32,7 e 30,4% na mesma ordem.

Fernandes et al. (2001) dizem que o café arábica apresenta melhor qualidade originando uma bebida de maior valor comercial que o robusta, mas este último também apresenta funcionalidade na indústria já que é muito usado nas misturas ou *blends* e na fabricação de café solúvel. Seu uso com estes fins são favorecidos pelo fato de apresentar preço mais reduzido e por sua maior concentração de sólidos solúveis, o que é muito interessante para o rendimento industrial.

O grau de torração dos grãos de café também influencia no teor de SS. As células dos grãos sendo rompidas aumentam a velocidade da extração e o rendimento dos componentes. Torrações mais severas conseguem aumentar a quantidade de SST em até 1%, pois ocorre solubilização de celulose, outros carboidratos e desnaturação de proteínas. Em temperaturas menores que a da pirólise, acontece desnaturação de proteínas do grão cru. Durante a fase de torração há hidrólise das ligações peptídicas das moléculas protéicas com liberação de carbonilas e aminas. É liberado em grande quantidade de ácido sulfídrico sendo que dificilmente este permanece no grão após torrado (PINTO, 2002).

Lopes et al. (2000) afirmam que maior quantidade de SST é desejada tanto do ponto de vista do rendimento industrial quanto pela sua contribuição positiva para assegurar o corpo da bebida. Durante o processo de torração essa fração sofre diminuição que é consequência da perda de ácidos orgânicos e da volatilização de compostos neste processo pirolítico de torra.

Fernandes et al. (2001) avaliaram os SST em grãos de café robusta, arábica e um *blend* contendo 70% de café arábica e 30% de café robusta. Os resultados obtidos confirmaram o que sabe onde os grãos de café robusta apresentaram 31,39% de SS e o café arábica o menor valor que foi de 28,17%. O *blend* preparado mostrou teor intermediário de 27,49%.

3.2.5 Acidez e pH

De acordo com Barbosa (2002) e Lopes (2000), a acidez é um fator importante na formação e nas propriedades do sabor em alimentos e bebidas. No caso do café, a acidez aparente (pH), é relevante por ser perceptível ao sabor. De acordo com os provadores tradicionais de café, a acidez desejável pode vir a ser confundida com azedume (que é indesejável) por leigos indicando que ocorreram falhas no processamento. O valor do pH é um indício da possibilidade de que mudanças possam ter acontecido com os frutos de café como fermentações indesejáveis consequentes de erros no manejo pré e pós-colheita.

Fernandes et al. (2001) mencionam que variações no pH com a torração possui grande relevância devido a sua interferência na aceitação do produto pelo consumidor e indicam

como ideal o pH entre 4,95 e 5,20 tornando a bebida palatável sem excesso de amargor ou acidez.

Alguns dos ácidos não voláteis que fazem parte da fração ácida do grão de café são o oxálico, málico, cítrico, tartárico e o pirúvico e alguns dos ácidos voláteis são o butírico, propiônico, valérico e acético. Estes ácidos são originados de diversas vias bioquímicas e da fermentação dos açúcares existentes na polpa e mucilagem dos frutos. Os ácidos não voláteis apesar de presentes em pequena quantidade, conferem ao café o sabor ácido desejável conhecido como “acidity” em cafês “Gourmet” (PINTO, 2002).

Segundo Pinto (2002) variações na acidez dos grãos indicam que existe uma relação inversa entre acidez e a qualidade. Fatores como condições climáticas durante a colheita e secagem, o local de origem, o tipo de processamento e o estágio de maturação dos frutos exercem influência na intensidade da acidez da bebida.

Os ácidos encontrados no café são fundamentais para suas características sensoriais. Em torno de 54 ácidos estão presentes no café e destes, 15 são voláteis sendo responsáveis pelo aroma de café torrado. Os ácidos cítrico e málico são reduzidos durante a torração e ocorre um aumento de outros, principalmente voláteis. O teor de ácidos é dependente do grau de torra. Por exemplo, em uma torração média a quantidade de ácido acético é máxima, mas uma torra mais severa faz com que se volatilize. No grão cru os ácidos alifáticos como acético, butírico, cítrico, málico, quínico e tartárico são reduzidos à medida que aumenta o grau de torração. Já os ácidos pirúvico e láctico são independentes da torra (PINTO, 2002).

3.3 Antioxidantes

Os compostos químicos que possuem atividade antioxidante são capazes de proteger o organismo contra os efeitos maléficos de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio oriundos do metabolismo normal ou que tenham origem externa e que podem prejudicar vários tipos de macromoléculas celulares como lipídeos, proteínas e DNA (NEBESNY et al., 2003).

Atividade antioxidante é a capacidade de uma substância inibir a degradação oxidativa. Desta forma a atividade antioxidante, principalmente da reação em cadeia de produtos naturais e alimentos se tornou uma variável importante na determinação de seus valores dietéticos. O aumento do interesse pela descoberta de novos antioxidantes que sejam seguros e de fontes naturais ocorreu principalmente para prevenção dos danos oxidativos às células. Antioxidantes sintéticos estão sendo deixados de lado devido a suspeita de que tenham atividade como promotores de carcinogênese (LIMA et al., 2010).

Entre os compostos vegetais com capacidade antioxidante, os polifenóis podem ser destacados. O principal grupo de compostos fenólicos é representado por ácidos hidroxicinâmicos presentes em quase todas as plantas sendo o ácido cafeico seu principal representante. Este composto ocorre em muitos alimentos na forma esterificada ao ácido quínico, sendo chamado de ácido clorogênico (YANAGIMOTO et al., 2004).

A atividade antioxidante do café é devido principalmente pela cafeína, trigonelina, ácido cafeico, produtos da reação de Maillard, de compostos voláteis (furanos e pirróis) e de compostos polifenólicos (ácidos clorogênicos e flavonoides). O café é a principal fonte de ácido clorogênico na dieta humana e sua capacidade antioxidante é a contribuição de substâncias naturais e aquelas induzidas pelo processo de torração. Durante esta fase de processamento ocorrem perdas de polifenóis causadas pela degradação térmica, mas este efeito é minimizado com a formação de outros compostos antioxidantes formados pela reação de Maillard (YANAGIMOTO et al., 2004).

Vários métodos tem sido desenvolvidos com o intuito de avaliar a atividade antioxidante em alimentos. Entretanto, devido à complexidade da composição de cada tipo de alimento e sabendo que antioxidantes não agem de forma isolada, a determinação da atividade antioxidante total parece ser mais efetiva. Duas ou mais técnicas são necessárias para essa determinação já que nenhum método isolado pode explicar de forma exata a capacidade antioxidante total de uma amostra (ARAÚJO, 2011).

O método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Figura 8) permite determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos puros. Está baseado na capacidade dos fenóis em reduzir o Fe^{3+} em Fe^{2+} . Quando isto acontece na presença de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), a redução é acompanhada pela formação de um complexo colorido com o Fe^{2+} . O ensaio FRAP oferece resultados rápidos e reprodutíveis, apresentando como desvantagem o fato de que a curva padrão deve ser realizada com um antioxidante que seja solúvel em água como o ácido ascórbico e o Trolox (RUFINO et al., 2006).

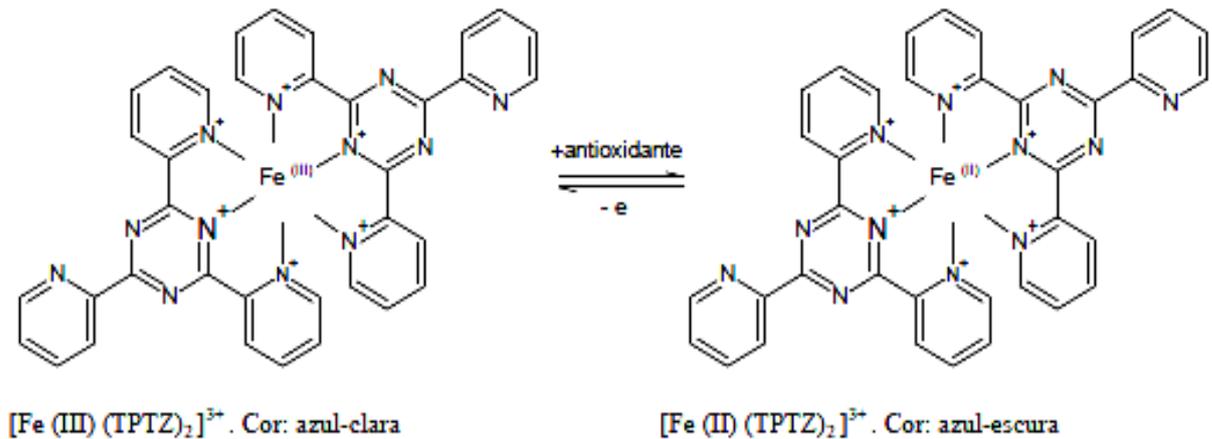


Figura 8 - Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe³⁺.
 Fonte: Rufino et al., 2006.

O método se baseia na eliminação do radical ABTS^{•+} (2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (Figura 9) pelos antioxidantes presentes na amostra. O radical possui cor verde-azulada e os antioxidantes presentes na amostra capturam este radical fazendo com que perca esta coloração, conseqüentemente interferindo no valor da absorbância, correspondendo quantitativamente na concentração de antioxidantes presentes. Esse método possui as vantagens de ser barato, rápido, fácil e com pH estável e entre as desvantagens estão demora para gerar radicais livres de ABTS^{•+} pó não ser padronizado tornando difícil a comparação dos resultados (ARAÚJO, 2011).

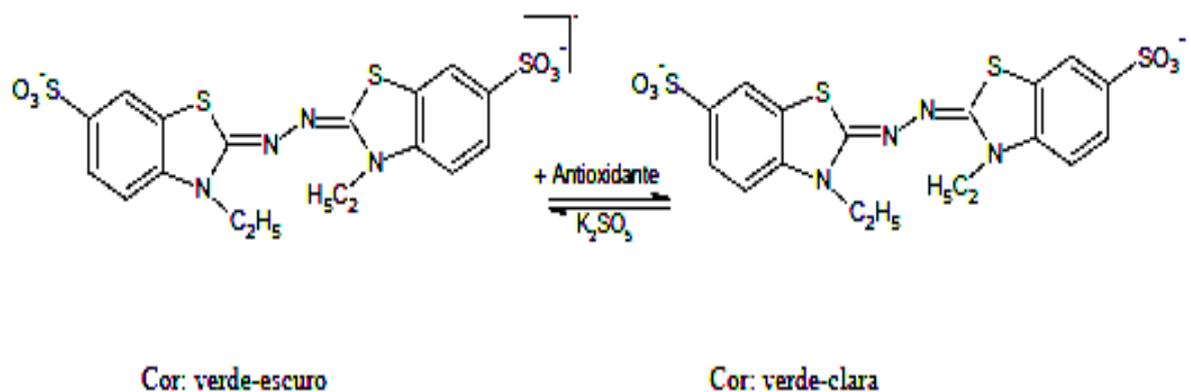


Figura 9 - Estabilização do radical ABTS^{•+} por antioxidante.
 Fonte: Rufino *et al.*, 2007 b.

O método de redução do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) (Figura 10) foi sugerido pela primeira vez em 1950, depois começou a ser usado para determinar a atividade antioxidante de fenóis, alimentos e amostras biológicas. Este radical é estável, de cor púrpura

e depois de reduzido passa a ter cor amarela. O método está baseado na capacidade do DPPH em reagir com doadores de hidrogênio. Na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe H^+ sendo então reduzido. A capacidade da amostra de reduzir o DPPH, ou seja, evitar sua oxidação é evidenciada pela porcentagem de DPPH restante no sistema. Então a porcentagem de DPPH restante é proporcional a concentração de antioxidante (MORAIS et al., 2008).

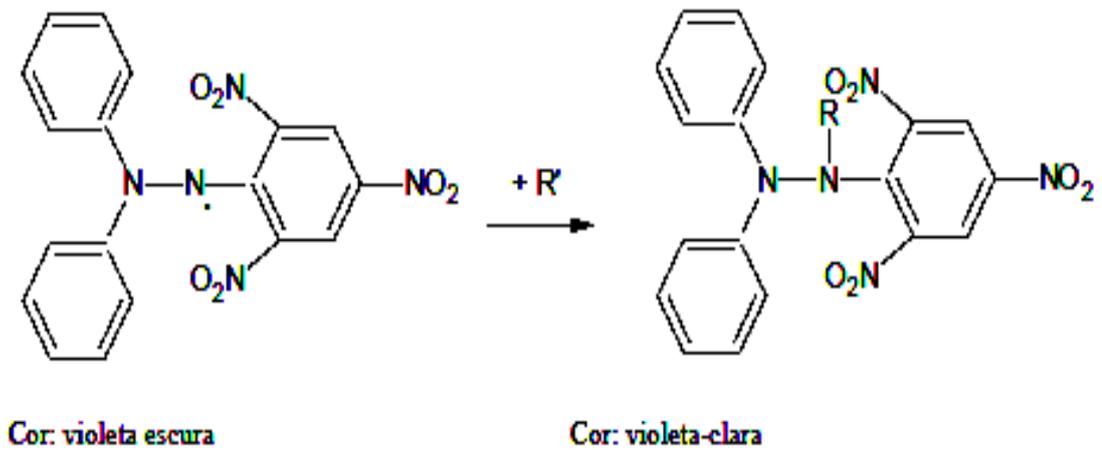


Figura 10 - Estabilização do radical-livre DPPH. Fonte: Rufino *et al.*, 2007 a.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Equipamentos

- Agitador tipo vórtex Biomixer®/Modelo QL-901
- Balança analítica Shimadzu®/Modelo AX200
- Banho-maria DeLeo®/Tipo B.30.TU8C
- Centrifuga Centribio®/Modelo 80-2B
- Espectrofotômetro de UV- Visível Shimadzu®/Modelo UVmini-1240
- Mesa agitadora Marconi®/Modelo MA-570
- Peagâmetro digital PHTek®/Modelo PHS-3B
- Refratômetro de mão Químis®/Modelo Q767
- Estufa Biopar®/Modelo S1005D
- Chapa aquecedora Tecnal®/Modelo TE-0108
- Processador de alimentos Philips Walita®/Modelo RI7620

4.2 Obtenção e preparo das amostras

As amostras de café foram adquiridas em condições de campo em propriedade particular, na Fazenda Forquilha, altitude de 1.219m, latitude de 18°31'31”S, longitude a 43°51'19”W e a precipitação pluviométrica média anual de 1.082mm, município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

O cafezal da espécie *Coffea arabica* L., da cultivar Catuaí Vermelho, com uma planta por cova; com idade de quatro anos no espaçamento 4,0 x 0,8m. Aparcela experimental foi constituída de quatro linhas de doze plantas, formando um total de quarenta e oito plantas por parcela, sendo a parcela útil constituída pelas oito plantas centrais.

Os frutos foram colhidos por derriça no pano, quando apresentaram, aproximadamente, 5% de frutos verdes. Os frutos foram colhidos em duas épocas, safra de 2010 e 2011. Depois de colhidos, foram secos em terreiro cimentado, pesado, beneficiado e encaminhado ao Laboratório de Tecnologia de Biomassas do Cerrado (LTBC), Campus JK, Diamantina, Minas Gerais.

4.3 Composição química

4.3.1 Açúcares

Avaliaram-se os açúcares totais, redutores e não-redutores conforme Somogyi-Nelson. Foram pesadas amostras de 2,000 g de café cru e extraídas em álcool etílico a 70%. Para a quantificação dos açúcares totais, foi feita hidrólise ácida (extrato obtido com o álcool etílico) a quente em banho-maria com ácido clorídrico (HCl) concentrado (25,0 mL do extrato + 0,5 mL de HCl) durante 30 minutos e neutralização (pH 7,0) com solução de carbonato de cálcio (CaCO₃), sendo o volume completado com água destilada para 50,0 mL (DEMIATE *et al.*, 2002).

Amostras dos extratos preparados foram desproteinizadas por diluição em água destilada e acréscimo de 1,2 mL soluções de hidróxido de Bário [Ba(OH)₂] 0,3 N e 1,2 mL de sulfato de zinco (ZnSO₄) a 5%.

Alíquotas de 2,0mL e 0,2mL para açúcares redutores e açúcares totais, respectivamente dos extratos desproteinizados foram aquecidas com reativo cúprico (1,0 mL) e adicionadas de reativo arseno-molibdico (1,0 mL).

As amostras foram lidas a 510 nm em espectrofotômetro e o resultado calculado utilizando-se de uma curva analítica construída a partir de uma solução de glicose (0,1000 mg/mL) com intervalo de 0 a 0,1200 mg. Obteve-se o teor de açúcares não-redutores através da fórmula (1) abaixo:

$$\text{Açúcares não redutores} = \text{Açúcares totais} - \text{Açúcares redutores} \quad (1)$$

Reativo cúprico = Preparado no momento da análise pela mistura de 25,00 mL de Reativo A com 1,00 mL de reativo B.

Reativo A: 25,00 g de carbonato de sódio anidro, 20,00 g de bicarbonato de sódio, 25,00 g de tartarato duplo de sódio e potássio, 200g de sulfato de sódio anidro e água destilada para completar o volume para 1.000 mL.

Reativo B: 15g de sulfato de cobre diluído em 100 mL de água destilada e acréscimo de 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Reativo arseno-molibdico = Preparado pelo acréscimo a 25,00 g de molibdato de amônia dissolvido em 450,00 mL de água destilada de 3,00 g de arseniato de sódio em 25,00 mL de água destilada e 21,00 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi levada para banho-maria a 56 °C por 30 minutos.

4.3.2 Fenólicos Totais e flavonoides

Determinou-se os fenólicos totais em amostras de 1,000 g conforme descrito por Marina *et al.* (2005) com uso do reagente Folin-Ciocalteu. Os extratos foram obtidos utilizando como solvente álcool metílico 80% em chapa aquecedora e depois filtrados em papel de filtro número 4. Completou-se o volume para 200 mL com água destilada.

Amostras de 0,1000 mL dos extratos foram acrescidas de 8,400 mL água destilada, 1,000 de solução saturada de carbonato de sódio e 0,500 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após repouso por 30 minutos, fez-se a leitura da absorbância em 760 nm. A curva analítica foi obtida utilizando solução de ácido tânico 0,1000 mg/mL com alíquotas de 0,1 mL a 1,0 mL. Os resultados foram expressos em g de ácido tânico/100 g de café.

O teor de flavonoides foi determinado por leitura em espectrofotômetro a 510 nm. Amostras de 1,000 mL de extrato metanólico a 80% foram acrescidas de 4,000 mL água destilada, 0,3000 mL de nitrito de sódio (NaNO_2) 0,7300 mol/L, 0,3000 mL de cloreto de alumínio (AlCl_3) 0,7500 mol/L e 2,000 mL de NaOH 1mol/L, sendo o volume completado para 10,00 mL com água destilada após repouso por 10 min. A quantificação foi realizada com o auxílio de curva analítica de catequina e os resultados expressos em mg de catequina/g de café de acordo com Marina *et al.* (2005).

4.3.3 Cafeína

Determinou-se teor de cafeína em 1,000 g de amostra conforme MS (2005). Foi adicionado 4,00 mL de ácido sulfúrico concentrado e aquecido em banho maria por 15 minutos. Logo após, foi acrescentado 50 mL de água destilada quente e aquecido novamente em banho maria por 15 minutos. Filtrou-se a quente em papel de filtro e o filtrado foi colocado em funil de separação. Foram usadas três alíquotas de 30 mL de clorofórmio como solvente para extração. O solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido em água destilada quente e completado para 1.000 mL. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 274nm.

A curva analítica foi obtida através de uma solução de cafeína 0,1mg/mL utilizando alíquotas entre 2 a 15 mL com diluição para 100 mL e usando água destilada como branco. Com os valores obtidos foi construída a curva-padrão por regressão linear dos valores de absorbância obtidos (eixo y) e das concentrações de cafeína (eixo x) expressa em $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1}$. Utilizou-se nos cálculos os valores dos coeficientes linear e angular da reta (absortividade considerando o caminho óptico da cubeta de 1 cm).

4.3.4 Características físico-químicas

Os teores de Sólidos Solúveis Totais (SST), Acidez Total (AT) e potencial Hidrogeniônico (pH) foram quantificados de acordo com metodologia da AOAC (2005). O teor de SST foi quantificado por leitura em refratômetro e os resultados expressos em °Brix.

Para a determinação do pH e da AT, as amostras foram acrescidas de 40,00 mL de água destilada, homogeneizadas e filtradas, sendo o pH avaliado por leitura em peagâmetro digital. A AT foi determinada por titulação das amostras com NaOH 0,1000 mol L⁻¹, até viragem da cor usando fenolftaleína como indicador. Os cálculos levaram em consideração o peso das amostras utilizadas e o volume gasto de NaOH.

4.3.5 Atividade antioxidante

Preparou-se um extrato a partir de 1,000 g de amostra e 40,00 mL de solvente álcool metílico 40% (metanol/água destilada 1:1). Após 60 min sob repouso à temperatura ambiente, o extrato foi centrifugado por 15 min com posterior recolhimento do sobrenadante. O processo foi repetido sobre o resíduo da primeira extração, com 40,00 mL de acetona 70% (acetona/água destilada 7:3) como extrator, conforme Larrauri *et al.*, 1997.

A atividade antioxidante do café por captura de radical DPPH livre foi determinada conforme Rufino *et al.*, (2007 a) em amostras de diferentes diluições (1.000, 1.500 e 2.000 mg/L) do extrato obtido anteriormente. Em ambiente escuro, alíquotas de 0,1000 mL de cada diluição foram adicionadas a 3,900 mL do radical DPPH 0,0600 mmol/L e homogeneizadas em vórtex. O declínio da absorbância a 515 nm correspondeu à redução do radical DPPH. Para o cálculo do EC50 que reflete o esgotamento de 50% dos radicais-livres, utilizou-se a equação $y = -ax + b$, traçada com os valores de absorbância para cada diluição, sendo $y =$ absorbância inicial do controle/2. As leituras foram realizadas após a estabilização da absorbância, verificada no tempo de 6 min. Foi traçada também a curva analítica a partir da solução inicial de DPPH 0,0600 mmolL⁻¹ com concentrações variando de 10,00 a 60,00 µM. Radical DPPH = Preparado no dia da análise pela dissolução de 2,40 mg de DPPH em álcool metílico completando o volume para 100,00 mL. A solução foi homogeneizada e transferida para frasco de vidro âmbar.

Para a avaliação da atividade antioxidante por captura do radical ABTS●+ livre, amostras de 1.000, 1.500 e 2.000 mg L⁻¹ foram preparadas a partir do extrato inicial. Em

ambiente escuro, alíquotas de 30,00 μL foram adicionadas a 3,000 mL do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ e homogeneizadas em vórtex. Após 6 min da preparação da mistura, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 734 nm. O cálculo da atividade antioxidante foi realizado, substituindo, na equação da reta traçada para as absorvâncias obtidas, a absorvância equivalente a 1.000 μM do padrão trolox (obtida pela reta da curva analítica com concentrações variando de 100,0 a 2000 μM). O resultado obtido corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 μM de trolox sendo expresso em μM trolox/g de café (Rufino *et al.*, 2007 b).

Radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ livre = Preparado no dia da análise a partir da reação de 5,00 mL da solução estoque de ABTS com 88 μL de solução de persulfato de potássio 140 mmol/L. A mistura foi mantida no escuro, à temperatura ambiente, por 16 horas. Em seguida, foi diluída em 1,00 mL de álcool etílico até obter uma absorvância de 0,70 nm \pm 0,05 nm a 734 nm.

Diferentes diluições de 1.000, 1.500 e 2.000 mg L^{-1} foram preparadas a partir do extrato obtido anteriormente. Em ambiente escuro, foram adicionados 90,00 μL de cada diluição a 270,0 μL de água destilada. A solução foi acrescida de 2,700 mL do reagente FRAP***, homogeneizada em vórtex e aquecida em banho-maria a 37 °C por 30 min.

Realizou-se leitura a 595 nm utilizando o reagente FRAP como branco. Soluções aquosas de Fe_2SO_4 com concentrações entre 500,0 e 2.000 μM foram utilizadas para obtenção da curva analítica de calibração. A análise foi realizada conforme Rufino *et al.* (2006) e os resultados foram expressos em μM Fe_2SO_4 /g de café.

Reagente FRAP = 25 mL de tampão acetato 0,3 M + 2,5 mL de solução de TPTZ 10 mM e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM, devendo ser usado imediatamente após sua preparação.

TPTZ = Preparado por dissolução e homogeneização de 3,12 g de TPTZ em HCl 40 mM com volume suficiente para completar 1,00 L. A solução foi transferida para frasco de vidro âmbar e mantida sob refrigeração.

4.3.6 Análise estatística

Os dados de composição química e atividade antioxidante do café foram submetidas à análise de variância e as médias das safras de 2010 e 2011 foram submetidas ao teste de F a 5%.

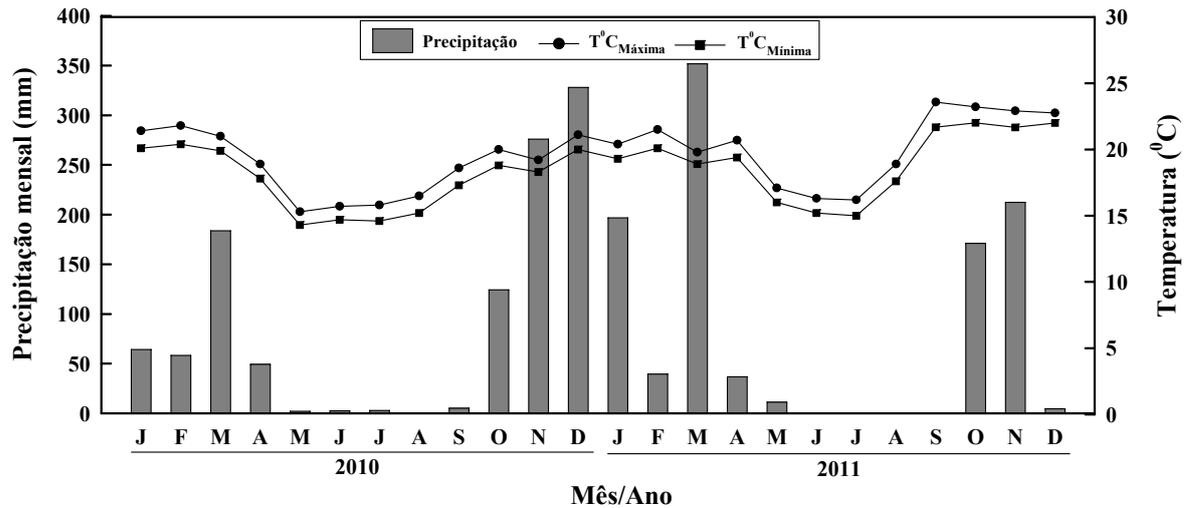
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 4 mostra os resultados obtidos dos constituintes do café cru nas safras 2010 e 2011. A figura 11 apresenta a distribuição mensal da precipitação pluviométrica, temperatura máxima e mínima em Diamantina/MG no período de estudo. A precipitação pluviométrica total, temperatura máxima e mínima no ano foram muito próximas para os dois anos.

Tabela 4 – Constituintes do café cru nas safras 2010 e 2011.

Variável	Safra		Média	CV (%)
	2010	2011		
ABTS ($\mu\text{mol trolox g}^{-1}$ de café)	230,88 a	249,46 a	240,17	25,21
DPPH (g de fruta g DPPH^{-1})	26,25 a	30,35 a	28,30	22,85
FRAP ($\mu\text{mol Fe}_2\text{SO}_4 \text{ g}^{-1}$ de café)	666,46 a	653,88 a	660,17	26,42
Flavonóides ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	1,17 a	1,21 a	1,19	15,32
Cafeína ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	1,02 b	1,27 a	1,15	24,85
Fenólicos totais ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	3,98 a	3,19 b	3,58	11,24
SS (°BRIX)	27,61 b	31,03 a	29,32	18,77
Acidez (ml de NaOH 0,1N/100g)	365,30 a	174,50 b	269,90	30,06
Açúcares redutores ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	0,30 a	0,32 a	0,31	26,62
Açúcares totais ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	17,00 a	5,48 b	11,24	31,42
Açúcares não redutores ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	16,70 a	5,15 b	10,93	32,40
pH	5,28 b	5,84 a	5,56	2,87

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de F a 5%.



F

figura 11. Distribuição mensal da precipitação pluviométrica, temperatura máxima e mínima em Diamantina/MG no período de estudo. Fonte: Inmet (2012).

Os resultados obtidos não mostraram diferença significativa para as amostras de café nas duas safras analisadas para atividade antioxidante total pelos métodos FRAP, ABTS e captura de radical livre DPPH. As médias gerais referentes a essas variáveis estão na tabela 4.

O ensaio DPPH avalia a capacidade das amostras em capturar o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, convertendo-o à sua forma reduzida (2,2-difenil-1-picril hidrazina). O resultado é expresso em EC50, definido como a quantidade de antioxidante presente na amostra capaz de seqüestrar metade dos radicais livres de DPPH presente na solução. Assim, quanto menor for o valor, menor é a quantidade de amostra necessária para reduzir 50% dos radicais DPPH e, maior será sua atividade antioxidante se comparada a um valor maior (RUFINO et al., 2007 a).

Não foram encontrados trabalhos que tenham utilizado o mesmo método (DPPH) para comparação da média apresentada pelas amostras de café deste estudo. Em pesquisa realizada por Rufino et al. (2010) na qual foi determinada atividade antioxidante em 18 frutas tropicais do Brasil, observa-se que os resultados encontrados no presente estudo para o café indicam ser este uma boa fonte de antioxidantes. O autor classifica como ótimas fontes de antioxidantes de acordo com a metodologia DPPH as frutas acerola e jabuticaba que apresentaram os valores 49,2 e 138 g de fruta/g de DPPH, respectivamente.

A quantidade de radical ABTS consumida está diretamente relacionada à reação com os antioxidantes presentes nos extratos dos frutos. Para este método interpretam-se os resultados de forma que o valor encontrado se refere ao teor de antioxidantes (equivalente à

quantidade do padrão usado – trolox) presentes em 1 grama de amostra. Para este método, quanto maior o valor obtido melhor a capacidade antioxidante da amostra.

Na pesquisa de Rufino et al. (2010), frutas como caju e jabuticaba apresentaram os valores 79,4 e 317 $\mu\text{mol trolox/g}$ de fruta pelo método ABTS. O valor encontrado por este estudo está entre os valores obtidos por Rufino et al. (2010) nas frutas caju e jabuticaba.

Através da metodologia FRAP foi avaliada a capacidade de um antioxidante reduzir o complexo férrico tripiridiltiazina $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$ ao complexo ferroso $[\text{Fe(II)TPTZ}_2]^{3+}$ com mudança de cor de azul-claro para azul escuro. Os resultados apresentados por este método indicam a quantidade de sulfato ferroso proveniente da redução do complexo férrico obtidos com 1 grama de amostra. Para este método, assim como para ABTS, quanto maior o valor obtido melhor a capacidade antioxidante da amostra.

Na pesquisa de Rufino et al. (2010), frutas como a jabuticaba e acerola apresentaram os valores 635 e 1996 $\mu\text{mol Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$ de fruta. O valor encontrado por este estudo está entre os valores obtidos por Rufino et al. (2010) nas frutas jabuticaba e acerola.

Os resultados obtidos mostraram diferença significativa para as amostras de café nas duas safras analisadas para açúcares totais e açúcares não-redutores. Para a variável açúcares redutores não foi encontrada diferenças significativas. As médias gerais referentes a essas variáveis estão na tabela 4.

Os teores médios de açúcares totais encontrados mostraram valor bastante alto para o ano de 2010 ($17,0 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$), não estando dentro da faixa relatada pela literatura. Para o ano de 2011 o valor médio encontrado ($5,48 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$) foi muito inferior comparado à safra de 2010, mas dentro da faixa esperada. Os resultados relatados pela literatura, segundo Barrios (2001) para café em matéria seca estão entre 1,9 e 10,0%. Em sua pesquisa onde caracterizou através de métodos físicos e químicos amostras de café cru produzidos na região Alto Rio Grande – Sul de Minas Gerais foi observado diferenças significativas entre os locais de produção sendo seus valores na faixa entre 9,78 a 10,12%. O autor acrescenta que os açúcares totais estão relacionados à qualidade por serem responsáveis juntamente aos aminoácidos (reação de Maillard) pela cor e aroma de café torrado.

Dalmolin et al. (2007) avaliaram cafés provenientes da região de Jesuítas – Paraná e obteve valores de açúcares totais entre 7,53 a 10,11%. Lopes (2000) ao avaliar cafés crus e torrados *Coffea Arábica* de oito cultivares, plantadas na região sul de Minas Gerais obteve seus resultados para açúcares totais em grãos crus entre 7,67 a 9,55%. Scholz et al. (2000) apresentaram teores entre 5,82 a 8,72% ao avaliar 10 cultivares de café arábica em que condições de cultivo e colheita idênticas para todos, as variações podem ser atribuídas as

próprias características de cada cultivar. Diferenças assim são refletidas nas características da bebida de café.

A grande diferença observada neste estudo nos valores de açúcares totais para as duas safras provavelmente se devem a maioria do café ter sido colhido no seu ponto ideal de maturação no ano de 2010, onde o acúmulo de açúcares totais atinge seu máximo e o que contribuirá para a formação de compostos aromáticos. A presença de grãos com defeitos também originam menor teor de açúcares totais e indicam práticas de colheita e pós-colheita inadequadas. Elevados teores de açúcares totais pode ser considerado como característica desejável já que um dos atributos sensoriais da bebida em cafés finos é a doçura (BARRIOS, 2001).

Sabe-se que teores mais elevados para açúcares apontam a presença de uma maior quantidade de frutos nos estádios cereja e seco/passa, o que pode simbolizar um potencial de melhor qualidade para o café (LOPES, 2000).

Chagas et al (2005) avaliando o potencial da região sul de Minas Gerais para a produção de cafés especiais, obteve teores de açúcares totais entre 5,59 a 8,44 % para amostras com defeitos e entre 5,70 a 8,20 % para amostras sem defeito. Os autores dizem que seus resultados estão próximos as médias de estudos anteriores e que os açúcares apesar de contribuir para o sabor e aroma de café, estes componentes não apresentam influência nas classificações para qualidade de bebida. Os açúcares e proteínas são essenciais para o aroma desejável de café torrado e estão relacionados aos sabores caramelo e doce em cafés Gourmet. A presença de defeitos contribuem para uma redução nos valores de açúcares totais.

Em relação às espécies de café é interessante ressaltar que cafés arábica apresentam maiores valores de açúcares totais do que o café robusta. Isto é confirmado por Fernandes et al. (2001) em pesquisa com essas duas espécies de café onde obteve um teor de 9,16% para café arábica e 4,95% para café robusta sendo as amostras pertencentes a mesma safra.

França et al. (2007) pesquisando parâmetros físicos e químicos de cafés em quatro estádios de maturação (verde, verde cana, cereja e cerejão) mostrou que a evolução da maturação provoca um aumento nos açúcares totais sendo este fato decorrente da degradação do amido. Os cafés em estádios de maturação cereja e cerejão apresentaram melhores parâmetros originando produtos de melhor qualidade.

Quanto aos açúcares redutores não houve diferença significativa entre os anos de colheita. Os teores médios encontrados (Tabela 4) estão dentro da faixa relatada na literatura.

Barrios (2001) diz que a faixa normal para açúcares redutores está entre 0,1 a 1,0%. O autor obteve uma média geral de 0,6% para as amostras de café do sul de Minas Gerais.

Dalmolin et al. (2007) encontraram valores entre 0,14 a 0,94% para açúcares redutores em cafés provenientes da região de Jesuítas – Paraná com uma média geral de 0,48%. Os autores esclarecem que a alta variabilidade dos resultados pode ter sido provavelmente devido ao grau de mistura de frutos com diferentes maturações já que maduros apresentam maior teor de açúcares redutores.

Avaliando 10 cultivares de café arábica, Scholz et al. (2000) conseguiram resultados entre 0,34 a 0,47% para açúcares redutores. Chagas et al. (2005) pesquisando cafés do sul de Minas Gerais alcançou teores de 0,50 a 0,95% para este parâmetro. Menores valores de açúcares redutores podem ser ocasionados a condições adversas como injúrias mecânicas, microbianas e fermentativas sofridas pelos frutos nas fases de pré e pós-colheita, pois estes açúcares são substrato para fermentações e desenvolvimento de fungos.

Nesta pesquisa os cafés estudados apresentaram baixos valores de açúcares redutores, mas dentro da faixa considerada normal como citado anteriormente. Lopes (2000) diz que os teores desta variável tendem a diminuir nas últimas etapas do processo de torração como consequência de reações de caramelização e reação de Maillard. Desta forma, o autor afirma que quanto maior a quantidade de açúcares redutores presentes no grão, maior será os teores de precursores para a formação do aroma e sabor da bebida do café.

Pinto (2002) diz que apesar de seus estudos indicarem que bebidas classificadas como “mole e estritamente mole” apresentarem maiores teores de açúcares redutores e bebidas classificadas como “rio” obtiveram menores teores ainda não é possível estabelecer de forma objetiva uma relação dos açúcares redutores com a qualidade da bebida.

Fernandes et al. (2001) não obteve diferença significativa para açúcares redutores quando avaliou café arábica e café robusta, não indicando disparidade entre as espécies neste parâmetro.

Em outra pesquisa realizada por Salva et al. (2005) entre variedades de *Coffea Canephora*, os resultados mostraram que diferenças significativas podem ser encontradas também entre plantas de uma mesma variedade. Entretanto, o autor esclarece que as diferenças possam ser consequência da metodologia usada e não necessariamente às características intrínsecas das plantas.

Foi observada diferença significativa para os teores de açúcares não redutores entre os dois anos de colheita. Os teores médios encontrados são apresentados na tabela 4 e mostraram valor alto para o ano de 2010, não estando dentro da faixa relatada pela literatura. Para o ano de 2011 o valor médio encontrado foi muito inferior comparado à safra de 2010, mas dentro da faixa esperada. Resultado semelhante foi observado nos açúcares totais. Os açúcares não

reduzidos são representados pela sacarose e a literatura diz que estes açúcares apresentam teores entre 1,9 a 10,0% no grão de café cru. Vários são os fatores que podem interferir nos valores encontrados desta variável como local de cultivo, estágio de maturação, tipos de cultivares e a presença de defeitos (BARRIOS, 2001; PINTO, 2002).

Barrios (2001) encontrou uma média de 9,37% de açúcares não redutores em grãos de café provenientes de 25 propriedades cafeeiras na Região Alto Rio Grande, sul de Minas Gerais. O autor completa que não foi possível relacionar de forma clara e objetiva o teor destes açúcares com os atributos sensoriais da bebida de café, mas sabe-se que uma das características desejáveis em uma bebida de qualidade é a doçura e a sacarose é decomposta durante a torração originando glicose e frutose.

Lopes (2000) alcançou resultados entre 6,44 a 8,15% para o teor de açúcares não redutores em grãos crus e entre 1,55 a 2,46% para grãos torrados. O autor explica que dependendo do grau de torração que o grão de café sofre, a sacarose tende a se degradar chegando mesmo a desaparecer sendo esta a causa da redução severa nos valores de açúcares não redutores.

O estudo de Fernandes et al. (2001) indica uma diferença bastante considerável de açúcares não redutores para café arábica e café robusta, apresentando os teores de 7,71% e 3,48% respectivamente.

Chagas et al. (2005) ao pesquisarem o potencial da região sul de Minas Gerais para produção de cafés especiais obteve teores de 4,61 a 7,38% de açúcares não redutores para amostras com defeitos e 4,58 a 7,06% para amostras sem defeitos. Este estudo apresenta valores mais altos para esta variável como indica o valor médio para os cafés avaliados. Segundo Pinto (2002) estes açúcares estão relacionados com formação de cor característica, produtos caramelizados e substâncias responsáveis pelo sabor e aroma do café torrado.

Os resultados encontrados para os fenólicos totais mostraram diferença significativa entre os dois anos de colheita sendo que o ano de 2010 apresentou o maior valor. Os fenólicos totais estão relacionados ao estágio de maturação dos frutos de café e diminui à medida que amadurece. Interferem na qualidade da bebida, pois causam adstringência quando está presente em altas concentrações (DALMOLIN et al., 2007a).

Barrios (2001) encontrou teores de fenólicos totais de grãos de café numa variação de 2,0 a 8,4% , mas não há valores estabelecidos que indiquem um produto de melhor ou pior qualidade. Isso acontece por existirem variações entre cultivares, estágios de maturação e diferenças entre as condições climáticas entre locais e de um ano para outro. O autor obteve em sua pesquisa uma média de 7,1% de fenólicos totais em grãos de café provenientes de 25

propriedades cafeeiras na Região Alto Rio Grande, sul de Minas Gerais. Para avaliar a influência da presença de grãos defeituosos nos valores de fenólicos totais, o autor ainda acrescentou percentuais de 5 a 10% destes defeitos as suas amostras. O resultado foi um aumento nos teores do parâmetro avaliado para até 11%.

Lopes (2000) ao avaliar esse parâmetro em grãos de café arábica cru de várias cultivares mostrou resultados entre 6,97 e 7,57%. O autor afirma que uma maior quantidade de grãos verdes tendem a aumentar os valores de polifenóis o que resulta em bebidas mais adstringentes e conseqüentemente de menor qualidade.

A afirmação acima é confirmada através de pesquisa realizada por Pimenta et al. (2001) onde foi avaliado o teor de fenólicos totais em grãos de café colhidos em diferentes épocas. Foram observados valores significativamente superiores para cafés na qual foram feitas colheitas antecipadas onde havia maior quantidade de frutos verdes. Na tentativa de associar o teor de polifenóis a qualidade da bebida de café podem ser citados os trabalhos de Pádua et al. (2001) e Pinto et al. (2001) que avaliaram as quantidades destes compostos em cafés previamente classificados por “prova de xícara”. Os autores chegaram à mesma conclusão de que as bebidas de melhor qualidade possuíam menores valores para fenólicos totais ao contrário das bebidas classificadas como de menor qualidade.

A torração dos grãos de café tendem provocar uma destruição progressiva nos valores de fenólicos totais e provavelmente a adstringência da bebida não depende somente da quantidade de polifenóis, mas do tipo e proporção dos ácidos clorogênicos presentes (PINTO, 2002).

As baixas concentrações observadas no café analisado podem ser atribuída a colheita no ponto ideal de maturação.

Não foi encontrado na literatura trabalhos quantificando o teor de flavonoides totais em café. De acordo com Huber et al. (2008) dados sobre a composição de flavonoides em alimentos são insuficientes devido a carência de pesquisa destes componentes no Brasil e a nível mundial. Os poucos estudos que existem indicam o chá preto, chá verde e erva mate como fontes ricas em flavonoides sendo os teores encontrados 0,42%, 0,48% e 0,3% respectivamente.

O presente estudo não encontrou diferença significativa entre as duas safras e foi observada uma média de 1,19% de flavonoides nas amostras café cru analisadas sendo esse valor superior aos indicados por Huber et al. (2008) para os chás preto, verde e erva mate, considerados ricos nesse componente. Dessa forma o café cru pode ser considerado como

fonte de flavonoides sendo necessários mais estudos para indicar as perdas deste componente com o processo de torração já que estes não são termicamente estáveis.

Os resultados encontrados para os teores de cafeína mostraram diferença significativa entre os dois anos de colheita, onde o ano de 2011 apresentou o maior valor e se encontram na tabela 4. Podem ter contribuído para esta variabilidade as adubações aplicadas ou diferenças na disponibilidade de nutrientes do solo de um ano para o outro.

Os resultados apresentados pelo presente estudo estão dentro da faixa citada por Barrios (2001), aponta valores de cafeína para o café arábica entre 0,6 e 1,5%. O autor ao avaliar o teor de cafeína em grãos de café provenientes de 25 propriedades cafeeiras na Região Alto Rio Grande, sul de Minas Gerais obteve valores entre 1,0 e 1,14%.

Em relação aos cafés crus e torrados, Fernandes et al. (2001b) obtiveram os teores de cafeína 0,94 e 1,08%, respectivamente. Como este componente possui estabilidade térmica, os valores encontrados para café cru ou torrados são bem próximos apresentando apenas diferenças não significativas.

A cafeína permanece quase inalterada após o processo de torração, com a exceção apenas de quantidades mínimas que são sublimadas a 176°C. Variações nos teores de cafeína podem ser justificadas pela diferença genética ou do ambiente podendo ocorrer de cafés provenientes de mesmas regiões apresentarem disparidades. (FERNANDES et al., 2001 b; SIQUEIRA, 2006).

Os resultados encontrados para os teores de sólidos solúveis mostraram diferença significativa entre os dois anos de colheita, onde o ano de 2011 apresentou o maior valor (tabela 4).

A média de SS encontrados por Mendonça et al. (2005) ao avaliar sete cultivares de café arábica no mesmo local obteve entre 31,16 e 34,67%. Barrios (2001) apresentou resultados entre 28,8 e 29,44% para este parâmetro ao realizar caracterização química em cafés provenientes da região sul de Minas Gerais. O autor acrescenta que os valores considerados normais para SS estão entre 24,0 e 31,0%.

Os resultados obtidos indicam que as amostras de café da safra de 2011 avaliadas possuem potencial para originar bebidas encorpadas e para serem utilizadas na indústria onde é importante o fator rendimento.

Os resultados obtidos mostraram diferença significativa para as amostras de café entre os dois anos de colheita para acidez total. As médias gerais referentes a essa variável estão na tabela 4.

Os ácidos cítrico, málico e quínico são os principais ácidos orgânicos encontrados no café verde e dependem do estágio de maturação. Junto aos ácidos clorogênicos, estes ácidos são determinados na acidez titulável e refletem a fase de maturação dos grãos (DALMOLIN et al., 2007a).

Segundo Marin-Lopez et al., (2003) a acidez titulável mostra uma inclinação para o aumento à medida que o grão amadurece até o estágio de cereja, depois diminui até o final do ciclo. Provavelmente, embora o café tenha sido colhido no estágio cereja, algumas amostras não se encontravam totalmente maduras e apresentaram as variações dos valores de acidez titulável no presente estudo de um ano para o outro.

A média de acidez para as amostras de café obtidos por Mendonça et al. (2005) estão entre 198,42 e 229,42 mL de NaOH 0,1N/100g. Barrios (2001) também alcançou resultados com a média geral de 231,71 mL de NaOH 0,1N/100g para café cru e diz que cafês de pior qualidade tendem a apresentar geralmente valores mais elevados de acidez.

Pinto (2002) obteve resultados entre 212,5 e 255,0 mL de NaOH 0,1N/100g sendo que o maior valor se refere a grãos de café cru que posteriormente avaliados, foram classificados como bebida estritamente mole (considerada de boa qualidade). O parâmetro de acidez total mostrou-se inconclusivo como indicador de qualidade de uma amostra de café.

Os resultados obtidos do pH mostraram diferença significativa para as amostras de café nas duas safras (tabela 4). O ano de 2010 apresentou menor valor para a variável sendo mais ácido (semelhante a acidez titulável).

Os valores obtidos foram inferiores aos resultados de Mendonça et al. (2005) para amostras de café cru que ficaram entre 6,39 e 6,62. Já Barrios (2001) ao avaliar amostras de café provenientes de 25 propriedades cafeeiras na Região Alto Rio Grande, sul de Minas Gerais encontrou uma média de 5,88 para o pH. O autor diz que o potencial hidrogeniônico não é uma análise química confiável para se associar a qualidade da bebida de café, porém a avaliação deste parâmetro é de importância para o acompanhamento do processo de torração na qual há a formação de ácidos.

Durante o processo de torração, ocorre a variação nos valores de pH e mesmo que pequena, esta exerce influência na aceitação do produto pelo consumidor. Os valores entre 4,95 e 5,20 são considerados aceitáveis para café torrado, sendo que resultados menores tornam a bebida de café muito ácida (BARRIOS, 2001).

6 CONCLUSÃO

As amostras de café das safras de 2010 e 2011 analisadas, apresentaram diferenças significativas para os teores de fenólicos totais, flavonoides, cafeína, sólidos solúveis, açúcares totais e não-redutores, além de acidez total e pH.

Vários fatores podem ter influenciado essas variações como estágio de maturação e presença de defeitos. Não se pode afirmar ação da precipitação pluviométrica, temperaturas máxima e mínima já que não as condições dos dois anos foram aproximadas.

A atividade antioxidante total para os métodos utilizados (ABTS, DPPH e FRAP) e teor de açúcares redutores não variaram significativamente de um ano para o outro.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F. M. de; SILVA, O. M. da; BRAGA, M. J. O Comércio Internacional do Café Brasileiro: a influência dos custos de transporte. RESR, V. 49, n. 2, p. 323-340, 2011.

ARAÚJO, C. R. R.. Composição Química, Potencial Antioxidante E Hipolipidêmico da Farinha da Casca de *Myrciaria cauliflora* (Jabuticaba). 119p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2011.

BARBOSA, R. M.. Caracterização físico-química de seis categorias da bebida café classificada pelo teste da xícara. 53p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

BARRIOS, B. E. B.. Caracterização física, química, microbiológica e sensorial de cafés (*Coffea arabica* L.) da região Alto Rio Grande - sul de Minas Gerais. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Instituto Adolf Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4 ed., 2005. 1018 p.

CHAGAS, S. J. de R.; MALTA, M. R. Potencial da região Sul de Minas Gerais para produção de cafés especiais (III - polifenóis e açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais). In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (4. : Londrina, PR : 2005). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa - Café, 2005. (1 CD-ROM), 5p.

DALMOLIN, R. N.; SCHOLZ, M. B. dos S.; ANDREOTTI, M.; BRAGA, G. C; OLIVEIRA, M. C. de; SILVA, R. S. S. F.; GUYOT, B.; RIBEYRE, F.; DAVRIEUX, F. Avaliação química e sensorial do café de jesuitas- Paraná. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (5. : Águas de Lindóia, SP : 2007). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa - Café, 2007, 4p.

DALMOLIN, R. N.; SCHOLZ, M. B. dos S.; SCARMINIO, I. S.; ANDREOTTI, M.; BRAGA, G. C.; OLIVEIRA, M. C.; SILVA, R. S. S. F.; GUYOT, B.; RIBEYRE, F.; DAVRIEUX, F. Composição química do café produzido nas condições topoclimáticas de jesuitas, Paraná. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (5. : Águas de Lindóia, SP : 2007). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa - Café, 2007a, 5p.

DEMIATE, I. M., WOSIACK, G., CZELUSNIAK, C., NOGUEIRA, A. Analysis of total and reducing sugar in foods. A comparative study between colorimetric and titration techniques. *Exact and soil sciences agrarian s. and engineering*, v. 8, n. 1. p. 65- 78, 2002.

FERNADES, S. M.; PEREIRA, R. G. F. A.; PINTO, N. A. V. D.; NERY, F. C.. Polifenóis, sólidos solúveis totais, açúcares totais, redutores e não redutores em grãos de cafés arábica e conilon. In: Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil (2. : 2001 : Vitória, ES). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa Café, 2001, p. 1574-1579 (a).

FERNANDES, S. M.; PINTO, N. A. V. D.; THÉ, P. M.P.; PEREIRA, R. G. F. A.; CARVALHO, V. D. de. Teores De Polifenóis, Ácido Clorogênico, Cafeína E Proteína em Café Torrado. *Rev. Bras. de Agrociência*, v.7 n 3, p.197-199, set-dez, 2001 (b).

FRANÇA, A. C.; JESUS, A. M. S. Qualidade físico química de duas cultivares de café em quatro estádios de maturação. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (5. : Águas de Lindóia, SP : 2007). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa - Café, 2007. (1 CD-ROM), 3p.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.. Flavonóis E Flavonas: Fontes Brasileiras e Fatores Que Influenciam a Composição em Alimentos. *Alim. Nutr.*, v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *JournalAgricultureandFoodChemistry*, v. 45, p. 1390-1393, 1997.

LIMA, A. R.; PEREIRA, R. G. F. A.; ABRAHÃO, S. A.; DUARTE, S. M. da S.a; PAULA; F. B. de A. Compostos Bioativos do Café: Atividade Antioxidante *In Vitro* do Café Verde e Torrado Antes e Após a Descafeinação. *Quim. Nova*, v. 33, n. 1, p. 20-24, 2010.

LOPES, L. M. V.. Avaliação da qualidade de grãos crus e torrados de cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). 95p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2000.

LOPES, L. M. V.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDES, A. N. G.. Teor de sólidos solúveis totais, acidez total titulável e pH de grãos crus e torrados de sete cultivares de café (*Coffea arabica* L.) e suas variações como o processo de torração. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1.: 2000 : Poços de Caldas, MG). Resumos expandidos. Brasília, D.F. : Embrapa Café; Belo Horizonte : Minasplan, 2000. 2v. (1490p.), p. 748-751.

MALTA, M. R.; NOGUEIRA, F. D.; GUIMARÃES, P. T. G. Composição Química, produção e qualidade do café fertilizado com diferentes fontes e doses de nitrogênio. *Ciênc. agrotec.*, Lavras. V.27, n.6, p.1246-1252, nov./dez., 2003.

MALTA, M. R.; SILVA, E. de B.; NOGUEIRA, F. D.; GUIMARÃES, P. T. G.; SILVA, F. A. de M.; CHAGAS, S. J. de R. Composição físico-química e qualidade do café (*Coffea arabica* L.) fertilizado com diferentes fontes e doses de potássio. In: Simpósio Brasileiro de

Pesquisa dos Cafés do Brasil (2. : 2001 : Vitória, ES). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa Café, 2001, p. 2421-2430.

MARIN-LOPEZ, S.M.; ARCILA P., J.; MONTOYA R., E.C.; OLIVEROS T., C.E. Relación entre el estado de madurez del fruto del café y las características de beneficio, rendimiento y calida de la bebida. *Cenicafé*, v. 54, n. 4, p. 297-315, 2003.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, M. Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. *J. Univ. Chem. Tech. Metal*, v. 40, n. 3, 2005.

MENDONÇA, Luciana Maria Vieira Lopes ; PEREIRA, Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga; MENDES, Antônio Nazareno Guimarães. Parâmetros Bromatológicos De Grãos Crus e Torrados de Cultivares de Café (*Coffea arabica* L.). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 25(2): p. 239-243, abr.-jun. 2005.

MORAIS, S. A. L. de; AQUINO, F. J. T. de; NASCIMENTO, E. A. do; OLIVEIRA, G. S. de; CHANG, R.; SANTOS, N. C. dos; ROSA, G. M.. Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 28(Supl.): p. 198-207, dez. 2008.

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

OLIVEIRA, G. S. de. Comparação química dos grãos de café (*Coffea arabica*), sadio e seus grãos PVA (pretos, verdes, ardidos) oriundos do Sul de Minas e do Cerrado Mineiro, submetidos a diferentes graus de torrefação. 101p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2006.

PÁDUA, F. R. M. de; PEREIRA, R. G. F. A.; FERNANDES, S. M. Polifenóis, pH, acidez titulável total, sólidos solúveis totais, fibra bruta e resíduo mineral fixo de diferentes espécies de Café arábica e conilon. In: Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil (2. : 2001 : Vitória, ES). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa Café, 2001. (CD-ROM), p. 1568-1573

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Compostos fenólicos, atividade da polifenoloxidase, qualidade de bebida e porcentagem de queda do café (*Coffea arabica* L.) colhido em diferentes épocas. In: Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil (2. : 2001 : Vitória, ES). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa Café, 2001. (CD-ROM), p. 832-841.

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

PINTO, N. A. V. D.; PEREIRA, R. G. F. A.; FERNANDES, S. M.; CARVALHO, V. Déa de. Açúcares e sólidos solúveis em bebidas e blends de cafés torrados tipo expresso. In: Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil (2. : 2001 : Vitória, ES). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa Café, 2001. (CD-ROM), p. 1421-1425.

RAMALAKSHMI, K.; KUBRA, I.R.; RAO, L.J.M. Physicochemical Characteristics of Green Coffee: Comparison of Graded and Defective Beans. *JournalOfFood Science*. v. 72, n. 5, p. 333- 337, 2007.

REIS, R. P.; REIS, A. J. dos; FONTES, R. E.; TAKAKI, H. R. C.; JÚNIOR, L. G. de C. Custos de Produção da Cafeicultura no Sul de Minas Gerais. *Organizações rurais e agroindustriais*, v. 3, n. 1, 2001.

RELVAS, E.; PINTO, M. da C.; MONTEIRO, C. da R.. Arte e segredos do bom café: café básico. Rio de Janeiro, RJ. Ed. Sebrae, 1997. 40p.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Comunicado Técnico 127. *Embrapa*, 2007 (a).

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS● +. Comunicado Técnico128. *Embrapa*, 2007 (b).

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). Comunicado Técnico 125. *Embrapa*, 2006.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *FoodChemistry*, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SALVA, T. J. G.; MARTINI, G.; GUERREIRO FILHO, O.; FAZUOLI, L. C.; SILVAROLLA, M. B.; AGUIAR, A. T. E. Concentração de carboidratos de baixo peso

molecular em *Coffea canephora*. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (4. : Londrina, PR : 2005). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa - Café, 2005. (1 CD-ROM), 4p.

SCHOLZ, M. B. dos S.; PRETE, C. E. C.; CRUDI, E.; MAGRI, T. B.. Composição química de variedades de café (*Coffea arabica*). In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1.: 2000 : Poços de Caldas, MG). Resumos expandidos. Brasília, D.F. : Embrapa Café; Belo Horizonte : Minasplan, 2000. 2v. (1490p.), p. 673-676.

SILVA, F. A. de M.; NOGUEIRA, F. D.; GUIMARÃES, P. T. G.; GUIMARÃES, M. J. L.; GODINHO, A.; MALTA, M. R.. Uso de fosfato natural e ácido cítrico e seu efeito na exsudação de ácidos orgânicos em rizosfera de cafeeiros. In: Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil (2. : 2001 : Vitória, ES). Anais. Brasília, D.F. : Embrapa Café, 2001, p. 2645-2652.

SILVA, F. A. de M.; NOGUEIRA, F. D.; RIBEIRO, L. L.; GUIMARÃES, P. T. G.; GODINHO, A. Determinação de ácidos orgânicos na rizosfera de cafeeiro por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (1.: 2000 : Poços de Caldas, MG). Resumos expandidos. Brasília, D.F. : Embrapa Café; Belo Horizonte : Minasplan, 2000. 2v. (1490p.), p. 1396-1399.

SIQUEIRA, H. H. de; ABREU, C. M. P. de. Composição Físico-Química e Qualidade do Café Submetido a Dois Tipos de Torração e com Diferentes Formas de Processamento. *Ciênc. Agrotec.*, v. 30, n. 1, p. 112-117, 2006.

VILELA, D. de A.; LOURENÇO, K. D.; TAMES, M. L. S.; BAHIA, R. F.; NAVARRO, F.. Análise da ausência do teor de cafeína nas rotulagens dos cafés comercializados. *Revista Bras. De Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*. v. 1, n. 5, p. 92 – 105, 2007.

YANAGIMOTO. K.; OCHI, H.; LEE, .; SHIBAMOTO, T.. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, n.3, p. 592-596, 2004.

Capítulo 2

Comparação dos efeitos sub-crônicos da cafeína e do café em ratos.

1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas mundialmente e juntamente a sua importância econômica justificam o interesse despertado para os estudos de sua composição química e os efeitos fisiológicos dos seus constituintes. O elevado consumo é devido não só pelas suas características organolépticas, mas também pelo seu efeito estimulante. Além de sua constituição, estudos indicam que a forma como é preparado, dependente da tradição de cada país, também interferem nos seus efeitos no organismo.

Em relação à sua composição, o café possui uma série de substâncias como polímeros fenólicos como os ácidos clorogênicos(ACG), lipídios como os terpenos e cafeína. Associados, estes compostos apresentam diversas respostas biológicas, entre elas ação antioxidante, antimutagênica, antibiótica, anti-hipercolesterolemia e anti-hipertensiva.

O grão de café cru possui uma composição química bastante variada e no processo de torração diversas reações químicas ocorrem degradando ou formando inúmeros compostos. O grão de café torrado possui mais de 2.000 componentes químicos responsáveis pelas características finais da bebida consumida. O consumo moderado é estimado entre 3 a 5 doses diárias, o que corresponde a aproximadamente 150 a 300 mg de cafeína dia⁻¹.

Segundo Holmes (1997), a cafeína é encontrada em diversos alimentos contendo cola e chocolate sendo que o café e o chá contém as maiores proporções. A cafeína do café e chá é prontamente absorvida pelo sistema digestivo, atingindo níveis sanguíneos máximos de 30 a 60 minutos e permanecendo ativa no sistema durante aproximadamente 3 ½ horas.

A cafeína (1, 3, 7- trimetilxantina) é o principal componente psicoativo do café e seus efeitos comportamentais são perceptíveis após a ingestão de doses baixas a moderadas. Verifica-se uma melhoria no estado de alerta, da energia, capacidade de concentração, da vigilância auditiva, ação diurética e diminuição da sonolência e do cansaço. O consumo moderado não parece acarretar riscos para a saúde, mas doses elevadas podem causar efeitos indesejáveis como taquicardia, palpitações, ansiedade, perda de apetite, tremores, dores de cabeça e náuseas, variando de acordo com os indivíduos.

Estudos relacionando o consumo de café e cafeína são de grande importância devido à sua variedade de efeitos sobre a saúde humana. Daí a importância dos estudos com modelos animais, pois permitem uma melhor identificação e melhor controle de variáveis, permitindo também uma rápida replicação dos resultados.

Inicialmente o foco destes estudos era dado somente à cafeína e os seus efeitos fisiológicos, mas as investigações e descobertas atuais vem conferindo a outros componentes químicos igualmente presentes na bebida de café possíveis efeitos benéficos e protetores em relação aos consumidores do produto. Dessa forma, os efeitos causados pela ingestão de café irão depender não somente da cafeína contida, mas também da qualidade e quantidade da complexa mistura de compostos que compõe o café.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do tratamento subcrônico com cafeína e três níveis de café durante a fase de crescimento (pós lactação) em ratos Wistar.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos da cafeína e níveis de café consumidos durante a fase de crescimento no peso corporal e dos órgãos (baço, coração, fígado, rins, supra-renais e testículos), comprimento da tíbia e fêmur, teor de minerais ósseo e consumo de alimentos (sólidos e líquidos).

Analisar os níveis de colesterol total, taxa glicêmica e triglicérides dos animais tratados com cafeína e café.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O café possui em sua composição uma grande variedade de compostos químicos que são de origem natural ou formados durante o processo de torração. Durante esse processo, a composição química do grão é alterada, pois ocorre reação de Maillard, reação de Streeker e processos de pirólise que envolvem componentes de alto e baixo peso molecular. É durante a torração que ocorrem as mudanças que proporcionam ao café o sabor agradável e aroma característico, dando origem a uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo (ABREU, 2009). O processo de torra pouco influencia a quantidade de cafeína (ABRAHÃO et al., 2008; MONTEIRO; TRUGO, 2005; RODARTE et al., 2009) e diterpenos (cafestol e caveol) (SOUZA et al., 2010), entretanto, outros compostos como a trigonelina e os ácidos clorogênicos são mais susceptíveis ao aquecimento (ABRAHÃO et al., 2008; FARAH; DONANGELO, 2006; MONTEIRO; TRUGO, 2005; RODARTE et al., 2009).

O café é rico em compostos bioativos, sendo que os mais estudados são a cafeína, estimulante do sistema nervoso central (SNC) e do músculo cardíaco; os ácidos clorogênicos (cafeoilquínicos, dicafeoilquínicos, feruloilquínicos e *p*-cumaroilquínicos), que possuem atividade anticancerígena e propriedades antioxidantes e, os diterpenos (cafestol e caveol), relacionados com o metabolismo lipídico. Estes compostos são os mais estudados devido às repercussões sobre a saúde humana de seus efeitos fisiológicos (HIGDON; FREI, 2006).

O café é uma das bebidas mais consumidas por pessoas de todas as idades, sexo, classes sócio econômicas e localização geográfica. Há poucas evidências de risco e algumas evidências de benefícios à saúde quando seu consumo, por indivíduos adultos, ocorre em quantidades moderadas (3 a 5 xícaras por dia, fornecendo 300 a 500 mg por dia de cafeína) (ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009), o que tem levado alguns profissionais de saúde a incentivar o seu consumo.

No entanto, alguns grupos, incluindo pessoas com hipertensão, crianças, adolescentes e idosos, podem ser mais vulneráveis aos efeitos adversos da cafeína. Além disso, as evidências atualmente disponíveis sugerem prudência na ingestão por mulheres grávidas (3 xícaras por dia, não fornecendo mais de 300 mg por dia de cafeína) para evitar aborto espontâneo ou prejudicar o crescimento fetal (HIGDON; FREI, 2006).

A cafeína (figura 1) é um alcaloide natural encontrada no café, chás, chocolate e refrigerantes do tipo cola, além de medicamentos. O café é a principal fonte de cafeína na dieta dos adultos (56 a 100 mg 100mL⁻¹), seguido por café instantâneo e chá (20 a 73 mg 100mL⁻¹).

¹) e refrigerantes a base de cola (09 a 19 mg 100mL⁻¹). O cacau e o chocolate também são importantes fontes de cafeína (05 a 20mg 100 g⁻¹ de chocolate) (NAWROT, 2003).

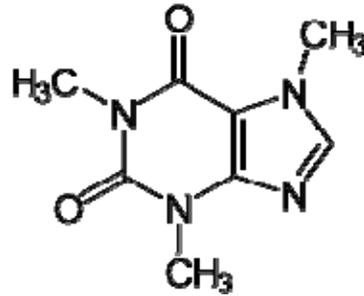


Figura 1 – Estrutura química da cafeína

Pelo fato destes alimentos fazerem parte de seus hábitos alimentares, muitas pessoas não consideram a cafeína como uma droga, entretanto, um consumo elevado (acima de 400mg por dia) pode causar ansiedade, inquietação, irritabilidade, tremores, perda de apetite, tensão muscular e palpitações no coração (GOODMAN; GUILMAN, 2003), sendo consumida indiscriminadamente em qualquer fase da vida, inclusive na gestação e lactação.

Após a ingestão, a cafeína é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal para a corrente sanguínea. A cafeína absorvida é facilmente distribuída por todo o corpo e apenas 1 a 5% é expelida inalterada pela urina (NAWROT, 2003).

Estudos com animais indicam que a cafeína está relacionada com a diminuição do crescimento intra-uterino fetal, redução do peso ao nascer, reabsorção fetal e teratogênese (SOYKA, 1979; TERADA; NISHMURA, 1975), bem como com a fertilidade, aborto espontâneo e prematuridade. Em roedores essa droga pode induzir malformações, mas esse efeito aparece, em geral, em doses nunca consumidas por seres humanos (NEHLIG; DEBRY, 1994).

O teor de cafeína encontrado no café depende de vários fatores, entre eles a variedade da planta, o método de cultivo, os aspectos genéticos e sazonais e no caso da bebida é influenciado pela quantidade de pó, o tipo de produto (torrado, instantâneo, descafeinado ou regular) e o processo de preparação (OLIVEIRA, 2009), incluindo o tipo de coador utilizado e a temperatura da água.

A cafeína possui uma potente ação farmacológica sobre o SNC, além de atuar no sistema cardiovascular e no músculo esquelético liso. É metabolizada no fígado e a reação é catalisada pelo citocromo P450 1A2 formando três grupos metilxantina: paraxantina (1,7 dimetilxantina), teofilina (1,3 dimetilxantina) e teobromina (3,7 dimetilxantina) (OLIVEIRA, 2009).

O trato gastrointestinal absorve em cerca de 60 minutos praticamente toda cafeína consumida via oral, depois esta é passada para a corrente sanguínea exercendo em seguida suas ações fisiológicas. Sua ação como antagonista da adenosina, um potente neuromodulador endógeno presente no cérebro e causador do sono, é sua principal ação fisiológica. A cafeína possui uma semelhança estrutural com a adenosina (Figura 2), competindo com esta pelos seus receptores e estimulando o SNC. Ao ligar-se a esses receptores, cafeína não diminui a atividade das células como é feito pela adenosina. Há também aumento acentuado da pressão arterial, da velocidade metabólica e diurese. No sistema cardiovascular provoca vasoconstrição e aumenta a resistência vascular periférica (LIMA et al., 2010; OLIVEIRA, 2009).

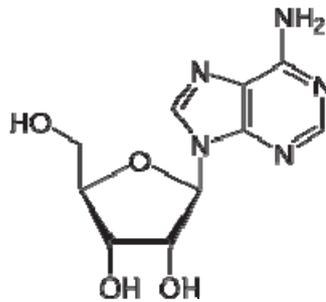


Figura 2 – Estrutura química da adenosina

A adaptação do organismo ao consumo continuado de cafeína é visto como um assunto de grande importância quando esta é utilizada como meio de melhorar o desempenho físico. A partir da ingestão diária de uma dose igual ou superior a 100mg de cafeína, observa-se uma habituação do organismo de forma que as respostas metabólicas são neutralizadas (OLIVEIRA, 2009), sendo necessárias doses cada vez mais elevadas para produzir o efeito desejado.

Em relação ao metabolismo da glicose, a maioria dos dados existentes sobre os efeitos do café neste parâmetro são baseados em estudos envolvendo animais e estudos in vitro e a importância para o desenvolvimento em humanos ainda não está totalmente elucidada. O que se sabe, sugere que os efeitos do consumo de café no metabolismo da glicose são biologicamente ativos e talvez não sejam equivalentes aos efeitos prejudiciais da cafeína. Outros compostos presentes no café além da cafeína, como o ACG e o magnésio, têm mostrado afetar o metabolismo de glicose em animais e em humanos (CARDOSO et al., 2011).

A glicemia, concentração de glicose (Figura 3) no plasma sanguíneo, é determinada por um lado pela produção e por outro pelo consumo. O pâncreas possui uma função importante para a glicemia, que é a produção de insulina e glucagon.

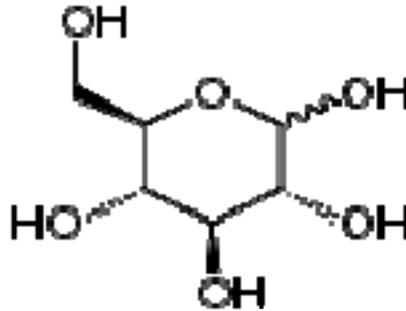


Figura 3 – Estrutura química da glicose

A insulina e o glucagon são hormônios responsáveis pela regulação da glicemia e metabolismo. O aumento ou diminuição da glicemia é o principal estímulo para a secreção da insulina ou glucagon. Assim a glicemia elevada pela refeição é reduzida e a glicose absorvida no intestino fica armazenada temporariamente para ser usada na fase interdigestiva. Dessa forma, tecidos dependentes de glicose como o sistema nervoso central fica relativamente independente da oferta de glicose entre as refeições (SILBERNAGL et al., 2009).

O diabetes é uma doença causada pela deficiência na quantidade de insulina produzida ou as células não respondem a insulina provocando uma elevação na glicemia, além da inibição da lipogênese liberando grande quantidade de ácidos graxos. Esta doença é caracterizada pelas altas taxas de glicose no sangue, mesmo em períodos de jejum e a menor disponibilidade desta molécula nos tecidos. Essa situação causa uma série de perturbações prejudiciais ao bom funcionamento do organismo (DOUGLAS, 2006).

De acordo com Garambone et al. (2007), no ano 2000, a incidência de diabetes no mundo em todas as idades foi de 2,8% e o que se estima é que em trinta anos essa taxa possa subir para 4,4%. No Brasil, para adultos entre 30 e 69 anos a taxa de ocorrência de diabetes chega a 7,6% e sobe para 20% em idosos acima de 70 anos. O estilo de vida moderno e principalmente a alimentação são fortes contribuintes para o desenvolvimento de diabetes tipo 2.

Testes realizados com indivíduos saudáveis para verificar os efeitos do consumo de café a longo prazo na ocorrência de diabetes mostraram uma relação inversa entre eles. O que se sabe é que a bebida contém diversos compostos que contribuem para este fato: potássio,

niacina, magnésio e antioxidantes como os ACG. Estes agem em conjunto ou isoladamente provocando efeitos benéficos no metabolismo da glicose e na resistência à insulina (GARAMBONE et al., 2007).

Cardoso et al. (2011) afirmam que descobertas recentes indicam que essa relação inversa entre consumo de café e menor risco de diabetes não se deve à cafeína, pois efeitos semelhantes foram obtidos com café descafeinado, sugerindo que os ACG são os responsáveis pela redução da concentração de glicose.

O mecanismo de ação dos ACG está na sua inibição da glicose-6-fosfatase (enzima reguladora da glicemia) responsável pelas altas produções de glicose hepática em diabéticos. O que ocorre é uma redução na hidrólise ou na produção da enzima levando a uma menor glicemia. Outra proposta de ação dos ACG é seu mecanismo de inibição dos transportadores de glicose no intestino (glicose-6-fosfato translocase). O consumo de ACG e os produtos originados de sua degradação durante a torra do café provocam também um aumento na sensibilidade à insulina (ALVES et al., 2009; GARAMBONE et al., 2007).

Segundo Higdon e Frei (2006), os ACG, não só inibem a glicose 6 fosfatase, como também a absorção intestinal de glicose.

O consumo de cafeína tem o efeito de aumentar a intolerância à glicose ou pré-diabetes (condição metabólica anterior à diabetes) enquanto os ACG possuem efeito contrário. O consumo de café não possui o mesmo efeito sobre o metabolismo da glicose que o consumo da cafeína isolada. A cafeína causa um aumento na síntese de epinefrina (adrenalina) (Figura 4) e uma interferência no receptor de adenosina. A epinefrina além de neurotransmissor possui a capacidade de estimular a secreção de insulina e a glicogenólise (quebra da molécula de glicogênio). A adenosina reduz a atividade neural e possui atividade vasodilatadora, o que reduz a pressão arterial, frequência cardíaca e a temperatura do corpo (CARDOSO et al., 2011; OLIVEIRA, 2009).

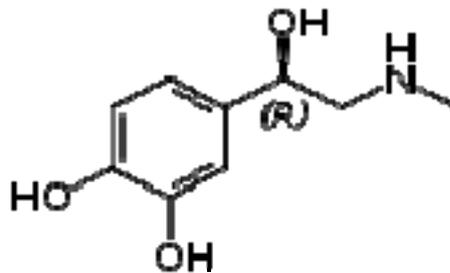


Figura 4 – Estrutura química da epinefrina (adrenalina).

A partir dos resultados obtidos por Cardoso et al. (2011) pode-se concluir que os tratamentos com o café torrado e moído aumentaram os níveis de colesterol e reduziram a glicose e triacilglicerol em ratos diabéticos induzido por aloxano, sustentando a hipótese de que o café está associado ao menor risco de diabetes tipo 2.

São muitos os fatores que interferem nos níveis de colesterol, entre eles podem ser citados idade, dieta, predisposição genética e peso corporal. A relação entre altos níveis de colesterol e a ocorrência de doenças arteriais podem levar a problemas como o infarto do miocárdio e acidentes vasculares cerebrais (AVC) (OLIVEIRA, 2009).

Existe uma relação entre o aumento dos níveis de colesterol total sanguíneo e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) com a ingestão de café, sendo este um fator de risco para doenças cardiovasculares. O efeito hipercolesterolêmico está associado ao método de preparação da bebida, pois quando esta é filtrada antes do consumo, não é observada relação com a concentração sérica de colesterol. A interferência do café nos níveis de colesterol se deve a dois componentes de sua fração lipídica que possuem atividade hipercolesterolêmica: o cafestol e o caveol (Figura 5) (ALVES et al., 2009).

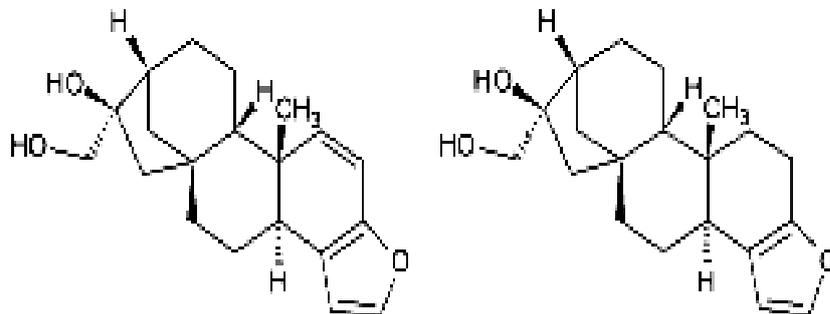


Figura 5 – Estrutura química do caveol (esquerda) e cafestol (direita).

Segundo Higdon e Frei (2006), o cafestol, o caveol, a cafeína e os ACG aumentam o LDL e o colesterol total.

De acordo com Alves et al. (2009), quando o café é preparado e filtrado esses compostos ficam retidos no pó e no papel de filtro. O aumento do colesterol LDL provocado pela ingestão de cafestol e caveol é que ocasiona taxas mais altas de colesterol total. Foi observado também um aumento das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e uma pequena diminuição das lipoproteínas de alta densidade (HDL).

Oliveira (2009) afirmou que o consumo de até cinco xícaras de café filtrado não interfere nos níveis de colesterol total ou de triglicérides e se ingerido junto a uma dieta balanceada pode auxiliar na perda de peso. Uma pesquisa que acompanhou por um ano e

meio 60 indivíduos com altas taxas de colesterol consumindo café obteve uma redução de 1,5% no peso corporal, índice de massa corporal e circunferência abdominal. Os mecanismos que explicam os efeitos do cafestol e caveol nos níveis de colesterol e triglicérides são inibição da atividade da enzima colesterol 7 α -hidroxilase reduzindo a conversão do colesterol em ácidos biliares e aumento na atividades de proteínas do soro responsáveis pela transferência do colesterol sanguíneo de HDL para LDL e aumento da síntese hepática de VLDL.

Segundo Duarte et al. (2009), a ingestão moderada de café filtrado pode ter efeito benéfico para a saúde, por inibir a peroxidação lipídica e não interferir nos níveis séricos de colesterol e triglicérides em ratos, contribuindo para diminuição da ocorrência e progressão da aterosclerose.

Alguns estudos relacionam o consumo de café, mais especificamente a cafeína presente na bebida a uma leve perda de cálcio que equivale a 4mg por xícara de café. Inicialmente observou-se que o consumo de cafeína estimula uma eliminação aguda de cálcio através da urina. Posteriormente outras pesquisas mostraram que essa ocorrência era seguida de uma redução na perda urinária de cálcio atenuando as perdas iniciais. Dessa forma, não foi encontrada nenhuma influência da cafeína consumida no cálcio expelido pelo organismo num período de 24 horas. Foi encontrada somente uma interferência moderada da cafeína na homeostase do cálcio, pois este quando ingerido em quantidades diárias inferiores as recomendadas sofre uma pequena queda no mecanismo de absorção. Este efeito pode ser corrigido aumentando o consumo diário de cálcio (ALVES et al., 2009).

Segundo Higdon e Frei (2006), a cafeína inibe a absorção de cálcio nos enterócitos.

Estudos com ratos demonstraram que a suplementação de cafeína na dieta materna durante a gestação influenciou o crescimento e desenvolvimento corporal, da mandíbula e ossos longos de fetos (NAKAMOTO; SHAYE, 1986).

A ingestão diária de altas doses de cafeína aumentou a perda óssea induzida por ligadura e causou distúrbios no reparo ósseo, embora não tenha alterado a densidade óssea em tíbias de ratos (BEZERRA, 2008).

Segundo Lacerda et al. (2010) o consumo de café/cafeína causou sérios efeitos adversos sobre metabolismo do cálcio em ratos, incluindo aumento dos níveis de cálcio na urina e no plasma, diminuição da densidade mineral óssea e menor volume do osso, atrasando assim o processo de reparação óssea.

Estudos indicam vários efeitos do consumo da Coca-cola[®], bebida rica em cafeína, como a redução da densidade mineral óssea (GARCIA-CONTRERAS et al., 2000), um potencial causador para lesões dos dentes e gengivas (KAPICIOGLU, 2000), bem como o aumento da termogênese muscular mediada pela UCP-2 (CHOI; PARK; PARK, 2002).

Choi, Park e Park (2002) demonstraram que no grupo de ratos que consumiu bebida a base de cola, o peso corpóreo foi menor que o grupo controle, e que a ação da insulina melhorou com o aumento da utilização da glicose periférica e que o menor peso corporal dos ratos que beberam bebida a base de cola pode ter ocorrido pelo aumento da termogênese muscular.

Alguns autores também indicam que o café provoca um aumento da temperatura corporal e a aceleração do metabolismo, de forma que é recomendável a quem faz dietas para perda de peso (OLIVEIRA, 2009).

A cafeína como estimulante no organismo, provoca uma aceleração no metabolismo auxiliando numa maior queima de calorias e conseqüentemente perda de peso. Observa-se um aumento da termogênese, oxidação lipídica e secreção de insulina com o consumo de café por pessoas magras. O mesmo não ocorre em obesos. A realização de atividade física juntamente ao consumo de café mostrou um efeito lipolítico mais acentuado do que a atividade isolada (OLIVEIRA, 2009).

Garcia et al. (2006) afirmam que o consumo de cafeína a longo prazo pode promover uma leve perda de peso. Como o fator peso possui grande influência sobre o risco de diabetes, a interferência da cafeína na perda de peso corporal causa uma associação inversa entre consumo de café e diabetes.

Levin e Dunn-Meynell (2002) demonstraram que ratos com livre acesso a uma dieta hipercalórica ganharam mais peso do que os que recebiam somente ração de laboratório. Entretanto, Choi, Park e Park (2002) mostraram que ratos que ingeriram Coca-cola[®], mesmo consumindo a mesma quantidade de energia, ganharam menos peso do que os animais do grupo controle.

O estudo de Silva et al. (2009) demonstrou que a administração de cafeína, durante o período entre o dia 21 e 120 dias da vida, em ratos Wistar afetou o desenvolvimento somático e sensorio-motor da prole no período neonatal, causando menor peso e de tamanho corporal, retardo de sinais de maturação somática de abertura auditiva, erupção dos dentes incisivos inferiores e abertura dos olhos, atraso de maturação sensorio-motora, como recuperação de postura, esquivas ao abismo e reações de sobressalto.

Choi et al. (2011) ao avaliarem o peso corporal e o consumo de alimentos em grupos de ratos tratados com solução de café e grupos que receberam somente água, perceberem que esses parâmetros eram significativamente inferiores nos animais tratados com café. Os autores atribuíram os resultados observados da ingestão de alimentos devido a uma perda de apetite causado pelo tratamento com café.

Westerterp-Plantenga et al. (2005) ao estudarem a contribuição da ingestão de cafeína na manutenção da perda de peso em homens e mulheres que eram obesos, obtiveram resultados que indicavam uma relação direta entre saciedade e consumo diário de cafeína.

Apesar de a cafeína apresentar um leve efeito diurético, estudos realizados não indicam que um consumo moderado de café venha a causar desidratação. Há um aumento na frequência da micção devido à ingestão de cafeína, mas não há alterações no volume total expelido diariamente, pois a elevação na produção de urina observada após 3 horas é compensada com uma redução no restante do dia (ALVES et al., 2009).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). Foram utilizados 30 ratos machos da raça Wistar do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa (UFV) com 42 dias de idade. Os animais foram transportados da UFV para a UFVJM, onde ficaram os primeiros 10 dias em processo de adaptação no biotério e o regime alimentar foi constituído de ração comercial e água *ad libitum*. Após o período de adaptação foram distribuídos aleatoriamente em gaiolas individuais (figura 6), formando cinco grupos experimentais:

Grupo Controle (C) – os animais receberam durante 35 dias ração comercial e água *ad libitum* (n=6);

Grupo Cafeína (CA) – os animais receberam durante 35 dias ração comercial e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6);

Grupo Café 0,1% (CC1) – os animais receberam durante 35 dias ração comercial e café solúvel com 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6);

Grupo Café 0,05% (CC5) – os animais receberam durante 35 dias ração comercial e café solúvel com 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6);

Grupo Café 0,025% (CC25) – os animais receberam durante 35 dias ração comercial e café solúvel com 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6).



Figura 6 – Ratos em gaiolas individuais

As gaiolas foram limpas semanalmente, nos dias de tratamento 7, 14, 21 e 28, quando o material (maravalha) foi trocado. Ao final do período experimental, após jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados e o sangue foi coletado por punção cardíaca, sendo sacrificados por exsanguinação (corte da aorta).

Os animais foram mantidos com luminosidade, temperatura e umidade natural durante todo o estudo.

O experimento foi executado de acordo com os princípios éticos para uso de animais de laboratório (BRASIL, 2008).

4.2 Soluções experimentais

O café utilizado foi solúvel de mesma marca e lote e dosou-se o teor de cafeína que foi de 1,95 g 100⁻¹ de café solúvel. Este foi preparado com água em temperatura ambiente, nas concentrações de 0,1, 0,05 e 0,025% de cafeína. Após a aquisição do café, foi dosado o teor de cafeína para o cálculo de diluição. Para cada 100g de café solúvel foi encontrada 1,95g de cafeína. A preparação foi mantida armazenada sob refrigeração até o fornecimento aos animais.

A cafeína PA foi diluída em água em temperatura ambiente, na proporção de 1g por litro e armazenada sob refrigeração até o fornecimento aos animais.

4.3 Índice e parâmetros avaliados

4.3.1 Curva de crescimento e consumo alimentar

Os animais foram pesados individualmente nos dias de tratamento 0, 7, 14, 21, 28 e 35.

A ração e os líquidos (água, cafeína e café) foram pesados e medidos diariamente, no mesmo horário, entre 12:00 e 14:00 horas, sendo as quantidades oferecidas *ad libitum*.

4.3.2 Análise bioquímica

No dia 35, os animais foram colocados em jejum e no dia seguinte foram coletadas amostras de sangue (em torno de 2,0mL) por punção cardíaca em animais anestesiados com Nembutal (40 mg kg⁻¹, ip). As amostras foram centrifugadas a 1.500 rpm durante 5 minutos (centrífuga Centribio®/Mod. 80-2B) para separação do soro que foi congelado a -70°C até as análises de colesterol total, triglicérides e glicemia. O soro foi quantificado por teste enzimático colorimétrico, empregando-se kit comercial (Labtest Diagnóstica®), seguindo as especificações do fabricante.

4.3.3 Teor de minerais ósseo e comprimento da tíbia e fêmur

Após a retirada do sangue, os animais foram sacrificados por exsanguinação e tiveram seus fêmures e tíbias retirados e limpos para avaliação de seus comprimentos e do teor de minerais totais (AOAC, 2005).

4.3.4 Análise dos órgãos

Depois de mortos, os animais tiveram seus órgãos (baço, coração, fígado, rins, supra-renais e testículos) retirados e limpos para pesagem.

4.4 Análise estatística

Para a análise dos dados de peso corporal foi aplicada a Análise de Variância (ANAVA) de dois fatores: tratamento, com 5 níveis (Água, Cafeína 0,1%, Café 0,1%, Café 0,05% e Café 0,025%) e idade em dias, com 6 níveis (dia 42, 49, 56, 63, 70 e 77), com repetição no último fator; para os dados ingestão de ração e líquidos foi aplicada uma ANAVA de dois fatores: tratamento, com 5 níveis (Água, Cafeína 0,1%, Café 0,1%, Café 0,05% e Café 0,025%) e semanas, com 5 níveis (semana 1, 2, 3, 4 e 5), com repetição no último fator; para os parâmetros bioquímicos (glicemia, triglicerídeos e colesterol total), peso dos órgãos (baço, coração, fígado, rins, supra renais e testículos), dos ossos (fêmur e tíbia) e minerais totais foi aplicada uma ANAVA de 1 fator: tratamento, com 5 níveis (Água, Cafeína 0,1%, Café 0,1%, Café 0,05% e Café 0,025%), seguida do teste de Newman-Keuls, quando apropriado.

As análises foram obtidas utilizando-se o programa Statistica[®], sendo considerado como nível de significância um valor de p 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Curva de crescimento e consumo alimentar

5.1.1 Peso corporal

A ANAVA apontou efeito de dose $F_{(4, 8221)} = 3,889$, $p < 0,05$ e de dias $F_{(5, 102687)} = 319,034$, $p < 0,0001$ no peso corporal dos animais (Figura 7). Os animais CC1 ($213,1 \pm 57,24\text{g}$) pesaram menos do que os dos grupos C ($247,37 \pm 66,67\text{g}$), CC5 ($243,88 \pm 61,52\text{g}$) e CC25 ($250,6 \pm 60,26\text{g}$) ($p < 0,05$). O peso dos animais de todos os grupos foi maior no dia 77 ($315,84 \pm 41,25\text{g}$) do que no 70 ($271,13 \pm 33,91\text{g}$), que por sua vez foi maior do que no 63 ($266,94 \pm 24,63\text{g}$), que foi maior do que no dia 56 ($228,67 \pm 25,12\text{g}$) que foi maior do que no dia 49 ($186,87 \pm 21,41\text{g}$) que foi maior do que no dia 42 ($157,87 \pm 12,21\text{g}$) ($p < 0,05$).

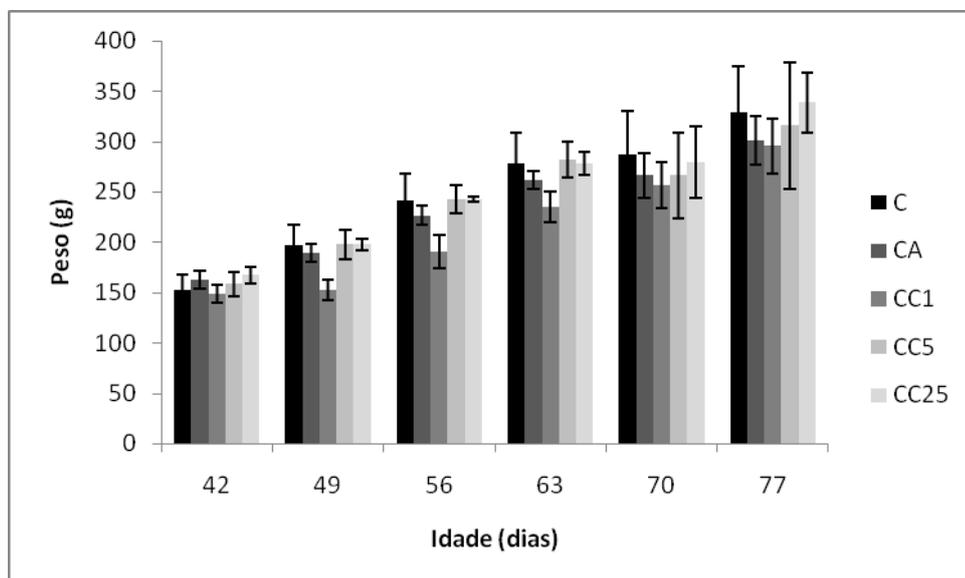


Figura 7 – Peso corporal dos animais durante cinco semanas de tratamento. Diamantina, 2011. Legenda: Controle (C) – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média \pm DP.

O crescente aumento no peso apresentado ao longo das semanas se refere ao fato de todos os animais estarem em fase de crescimento. É possível observar que o grupo de animais

que recebeu a solução de café com 0,1% de cafeína obteve o menor ganho de peso corporal ao longo do estudo. O mesmo resultado não foi observado no grupo que recebeu a solução de cafeína pura a 0,1%, o que leva a crer que a cafeína por si só não promove redução no ganho de peso. Como se sabe, o café possui uma mistura complexa de compostos e estes em conjunto com a cafeína parecem ser mais eficazes para o fator em questão (GARCIA et al., 2006).

Estudo realizado por Swithers et al. (2010) associando cafeína ao adoçante não calórico sacarina e à glicose também observaram divergência nos resultados. A cafeína associada à sacarina promoveu ganho de peso significativamente menor, enquanto a associação com glicose não o influenciou, sugerindo que a atuação da cafeína no peso corporal parece estar relacionada aos componentes químicos associados a ela.

Gacia et al.(2006) citam a combinação de cafeína e efedrina em suplementos utilizados como parte de tratamento para perda de peso. O efeito produzido pelos dois compostos juntos mostram ser maiores do que quando se soma os efeitos de cada um deles separadamente. A efedrina parece agir através da supressão do centro nervoso ligado ao apetite e aumento da oxidação de ácidos graxos de cadeia longa. A cafeína atua sobre a descarga de células nervosas e liberação de neurotransmissores e hormônios. Um exemplo é o aumento das concentrações plasmáticas de adrenalina, que por sua vez aumenta a oxidação de gorduras, além de agir aumentando a secreção de lipase, uma enzima que utiliza os depósitos de gordura como fonte de energia ao invés do glicogênio muscular.

Com relação ao café, Garcia et al.(2006) observaram em seu estudo um menor ganho de peso em indivíduos que consumiram café descafeinado, ou seja, que continha menor teor de cafeína sem alterar a quantidade dos outros componentes. Estes dados sugerem que os efeitos do café podem ser resultado da ação dos outros compostos, como os ácidos clorogênicos que são capazes de atenuar a absorção de glicose no aparelho digestivo, auxiliando o controle do peso.

Os grupos de animais que receberam soluções de café com menor concentração de cafeína (CC5 e CC25) apresentaram peso corporal semelhante ao grupo controle e maior ganho de peso comparado ao grupo que recebeu a solução de café com maior teor (CC1). Resultados semelhantes foram observados por Carvalho et al. (2011), na qual animais que foram tratados com infusões de café a baixas concentrações não apresentaram diferenças estatisticamente significativas no peso quando comparados ao grupo controle. O mesmo não ocorreu aos animais tratados com concentrações maiores, sugerindo que baixos teores de cafeína não são eficazes em reduzir o peso.

Entretanto, vale ressaltar que as soluções de café com menor concentração de cafeína também apresentaram menores concentrações das outras substâncias, o que poderia explicar a ausência de efeito no peso corporal.

5.1.2 Ingestão de ração

Na ingestão de ração (Figura 8), a ANOVA indicou efeito de tratamento ($F_{(4, 126,40)} = 3,158$, $p < 0,05$), semanas ($F_{(4, 283,79)} = 72,79$, $p < 0,0001$) e de interação entre os fatores tratamento e semanas ($F_{(16, 12,69)} = 3,255$, $p < 0,0005$). Os animais do grupo CC1 ($22,52 \pm 4,27g$) consumiram menor quantidade de ração do que os do grupo C ($27,33 \pm 5,25g$) ($p < 0,05$). Os animais de todos os grupos aumentaram a ingestão com o passar das semanas ($p < 0,05$).

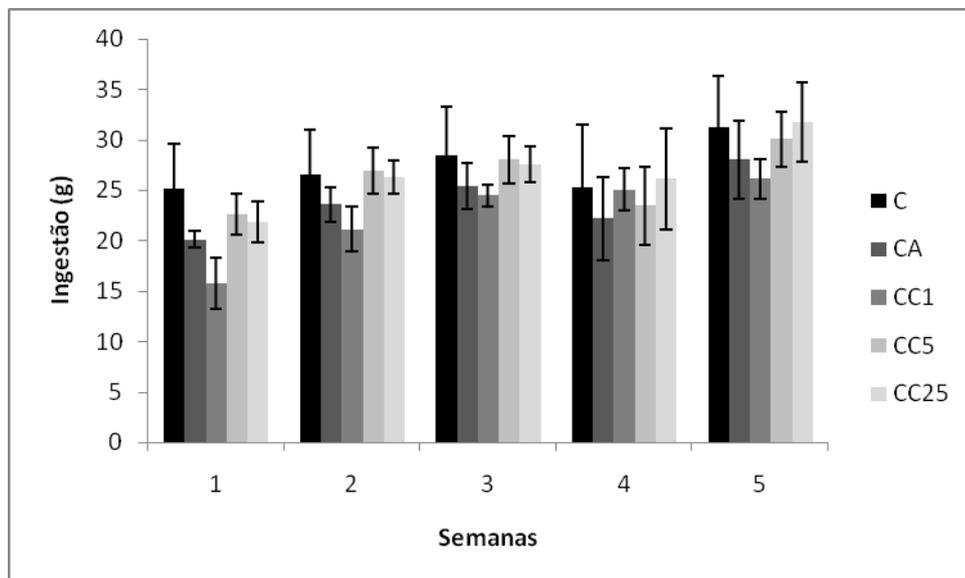


Figura 8 – Ingestão de ração pelos animais durante cinco semanas de tratamento. Diamantina, 2011. Legenda: Controle (C) – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média \pm DP.

Para os animais do grupo C, a ingestão na semana 5 ($31,2 \pm 5,17g$) foi maior do que nas demais semanas (1: $25,21 \pm 4,37g$, 2: $26,56 \pm 4,49g$, 3: $28,45 \pm 4,79g$ e 4: $25,21 \pm 6,31g$).

Para os CA, a ingestão na semana 2 ($23,58 \pm 1,69\text{g}$), 3 ($25,4 \pm 2,25\text{g}$) e 5 ($28,02 \pm 3,87\text{g}$) foram maiores do que na 1 ($20,09 \pm 0,82\text{g}$); na semana 2 foi maior do que na 5 e na 5 maior do que na 4 ($22,17 \pm 4,12\text{g}$). Para os CC1 na semana 2 ($21,12 \pm 2,23\text{g}$), 3 ($24,49 \pm 1,07\text{g}$), 4 ($25,06 \pm 2,07\text{g}$) e 5 ($26,16 \pm 1,96\text{g}$) a ingestão foi maior do que na semana 1 ($15,77 \pm 2,49\text{g}$); na 4 ($25,06 \pm 2,07\text{g}$) e 5 ($26,16 \pm 1,96\text{g}$) foram maiores do que na 2 ($21,12 \pm 2,23\text{g}$). Para os CC5, a ingestão na semana 2 ($26,94 \pm 2,32\text{g}$), 3 ($28,04 \pm 2,34\text{g}$) e 5 ($30,04 \pm 2,73\text{g}$) foi maior do que na 1 ($22,64 \pm 2,03\text{g}$); na 3 ($28,04 \pm 2,34\text{g}$) e 5 ($30,04 \pm 2,73\text{g}$) maior do que a 4 ($23,47 \pm 3,9\text{g}$). Para os CC25, o consumo na semana 5 ($31,79 \pm 3,94\text{g}$) foi maior do que na 2 ($26,31 \pm 1,6\text{g}$), 3 ($27,57 \pm 1,8\text{g}$) e 4 ($26,16 \pm 5,02\text{g}$) que por sua vez foram maiores do que na semana 1 ($21,87 \pm 1,99\text{g}$).

Na semana 1, os animais C ($25,21 \pm 4,37\text{g}$), CA ($20,09 \pm 0,82\text{g}$), CC5 ($22,64 \pm 2,03\text{g}$) e CC25 ($21,87 \pm 1,99\text{g}$) consumiram mais ração dos que os do grupo CC1 ($15,77 \pm 2,49\text{g}$) ($p < 0,05$).

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que o grupo de animais que recebeu a solução de café com 0,1% de cafeína apresentou menor consumo de ração. O grupo que recebeu a solução de cafeína pura a 0,1% mostrou valores no consumo de ração superiores, resultado semelhante ao encontrado no peso corporal. Novamente levantamos a hipótese de que somente a cafeína pode não ser responsável pela diminuição no apetite.

Pettenuzzo et al.(2008) disseram que o efeito anoréxico da cafeína ainda é controverso, pois assim como ela, alguns outros estimulantes centrais parecem reduzir o apetite, mas seus mecanismos não são totalmente compreendidos. Além disso, a maioria dos estudos sobre cafeína e consumo de alimentos foram realizadas utilizando ração padrão e o controle de alimentação pode ser alterado por vários fatores, tais como nutrientes disponíveis e estresse. Em seu estudo não foi observado variações no consumo de ração nem no peso corporal de animais tratados com cafeína pura misturada à água de beber nas doses $0,3\text{g L}^{-1}$ e $1,0\text{g L}^{-1}$.

Gavrieli et al. (2011) realizaram um estudo no qual selecionaram indivíduos saudáveis (humanos) e observaram o sentimento de fome (relatados pelos participantes) e quantificou a presença de hormônios relacionados ao apetite, antes e depois do café da manhã na qual foi oferecido café para um grupo e café descafeinado para outro. Não houve diferenças estatisticamente significativas nos resultados obtidos o que leva a crer que somente a cafeína não foi suficiente para alterar o comportamento alimentar.

Os resultados obtidos em um estudo feito por Jessen et al.(2005) relacionando os efeitos de várias doses de cafeína com nicotina no apetite mostram que não houve alterações significativas para os indivíduos tratados somente com cafeína, mas um tratamento desta substância associada à nicotina afetou a sensação de fome. A cafeína potencializou o efeito da nicotina, mas sozinha não produziu o mesmo efeito.

Os grupos de animais que receberam soluções de café com menor concentração de cafeína (CC5 e CC25) apresentaram maior consumo de ração quando comparados ao grupo que recebeu a solução de café com 0,1% de cafeína (CC1). Gavrieli et al. (2011) demonstraram que a dose de cafeína consumida pode estar relacionada com seus efeitos sobre o apetite e a quantidade normalmente ingerida diariamente pode não ser suficiente para estimular os hormônios relacionados à fome.

Pode-se então dizer que baixas concentrações de cafeína não produzem efeito na quantidade de ingestão de alimentos ou que, do mesmo modo que ocorre com o peso corporal, a cafeína não seria o único componente a afetar a ingestão de alimentos e quando é apresentada uma solução com menor quantidade de cafeína também há redução de outros componentes que por si só ou em interação com a cafeína conferem este efeito redutor de apetite.

O crescente aumento no consumo de ração apresentado ao longo do período estudado se refere ao fato de todos os animais estarem em fase de crescimento observada pelo aumento no peso corporal e, desta forma, necessitarem de um maior aporte de nutrientes.

5.1.3 Ingestão de líquidos

A ANAVA apontou efeito de semanas ($F_{(4, 345,6)} = 28,55$, $p < 0,0001$) e de interação entre os fatores tratamento e semana ($F_{(16, 47,8)} = 3,951$, $p < 0,0001$) na ingestão de líquidos (Figura 9). Os animais de todos os grupos consumiram mais líquidos nas semanas 3 ($47,43 \pm 6,96$ mL) e 5 ($47,67 \pm 7,38$ mL) do que nas semanas 2 ($44,65 \pm 6,00$ mL) e 4 ($44,11 \pm 6,84$ mL), que por sua vez foram maiores do que na semana 1 ($39,27 \pm 6,72$ mL) ($p < 0,05$).

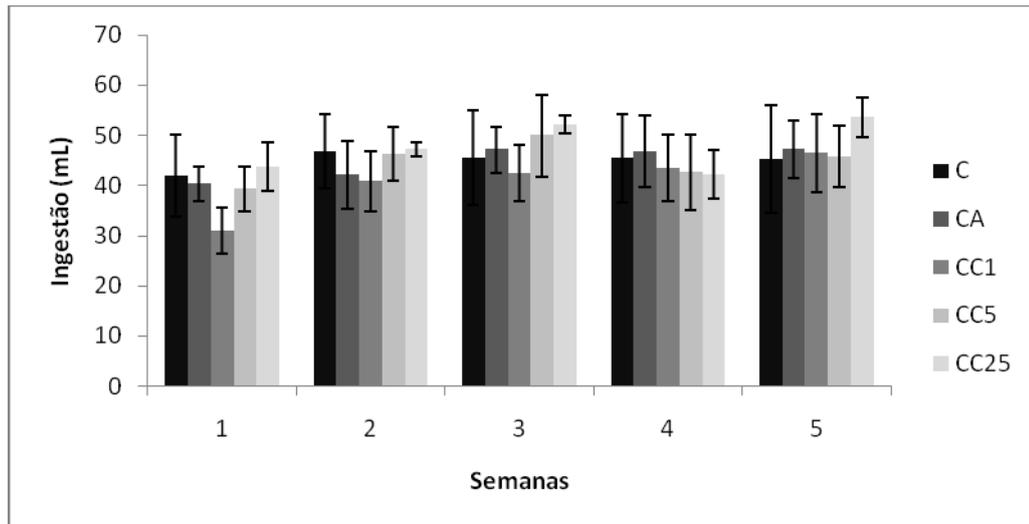


Figura 9 – Ingestão de líquidos pelos animais durante cinco semanas de tratamento. Diamantina, 2011. Legenda: Controle (C) – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média \pm DP.

Para os animais CC1 nas semanas 2 ($40,86 \pm 5,94$ mL), 3 ($42,45 \pm 5,63$ mL), 4 ($43,52 \pm 6,7$ mL) e 5 ($46,42 \pm 7,72$ mL) o consumo de líquidos foi maior do que na semana 1 ($30,99 \pm 4,65$ mL). Para os CC25 nas semanas 1 ($43,75 \pm 4,92$ mL) e 2 ($47,21 \pm 1,47$ mL) o consumo foi menor do que nas 3 ($52,1 \pm 1,75$ mL) e 5 ($53,61 \pm 3,99$ mL); nas semanas 3 ($52,1 \pm 1,75$ mL) e 5 ($53,61 \pm 3,99$ mL) foi maior do que na 4 ($42,24 \pm 4,92$ mL). Para os demais grupos (C, CA e CC5) não houve diferença no consumo entre as semanas ($p < 0,05$).

Os animais CC1 ($30,99 \pm 4,65$ mL) consumiram menos líquidos do que os C ($41,98 \pm 8,24$ mL), CA ($40,33 \pm 3,54$ mL), CC5 ($39,29 \pm 4,36$ mL) e CC25 ($43,75 \pm 4,92$ mL) na semana 1 ($p < 0,05$).

Avaliando-se o volume de líquidos ingerido pelos ratos, observa-se que o grupo tratado com a solução de café contendo maior dose de cafeína consumiu uma quantidade menor comparado aos outros grupos que apresentaram valores de consumo mais próximos. Esses resultados condizem àqueles obtidos no estudo da ingestão de ração, pois animais que comeram menos ingeriram menos líquidos. O tratamento com café e cafeína não alterou a ingestão de líquidos.

Os líquidos do organismo por serem soluções salinas aquosas fazem com que água e eletrólitos possuam uma ligação bastante estreita e para manter o equilíbrio hidro-eletrolítico do corpo é necessário que o consumo dos mesmos esteja em harmonia (DOUGLAS, 2006), por este motivo, há um equilíbrio entre a ingestão de líquidos e ração.

Grandjean et al. (2000) realizaram um experimento no qual avaliou estado de hidratação em indivíduos do sexo masculino que consumiram diferentes líquidos contendo cafeína. Os autores reconhecem as limitações do estudo, mas os resultados indicam que as bebidas consumidas contendo cafeína não alteraram significativamente o estado de hidratação medido pelo peso corporal.

5.2 Análise bioquímica

5.2.1 Glicose

A ANAVA apontou efeito de dose $F_{(4, 676)} = 4,501$, $p < 0,01$ na taxa de glicemia (Figura 10). Os animais CC25 ($131,57 \pm 14,81$) apresentaram os níveis de glicemia maiores do que os CC5 ($110,64 \pm 14,54$) que por sua vez foram maiores do que os CC1 ($111,56 \pm 11,34$) ($p < 0,05$).

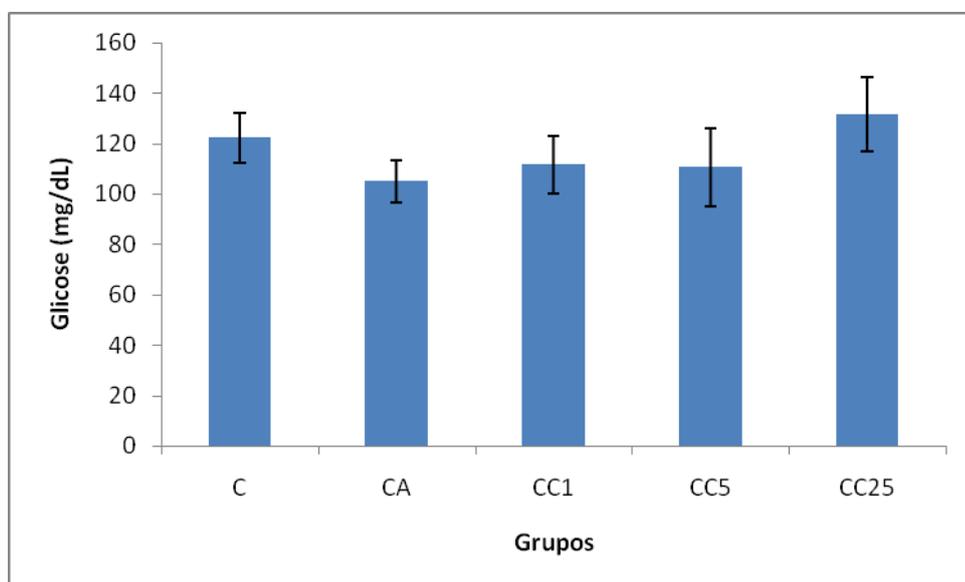


Figura10 – Taxa de glicemia dos animais dos grupos Controle (C) – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média ± DP. Diamantina, 2011.

A alteração na glicemia dos animais que receberam café foi dose dependente, ou seja, quanto menor a dose de cafeína, maior a taxa de glicemia. Em relação à cafeína pura observam-se taxas aproximadas ao grupo CC1 e uma leve redução nos valores comparando-se ao grupo controle (estes dados não foram estatisticamente diferentes).

Nos últimos anos tem-se associado o consumo de café a uma melhoria na capacidade do organismo de manter sua glicemia em níveis normais, além de estudos indicando uma redução no risco de incidência de diabetes tipo 2. Tanto a ingestão de café cafeinado como descafeinado possuem efeito protetor contra essa doença, mostrando que os outros componentes da bebida devem ser os responsáveis por este efeito. A cafeína isolada aumenta a intolerância à glicose ao contrário do café. Os ACG e outros polifenóis presentes em grandes quantidades na bebida são absorvidos e podem contribuir para maior capacidade antioxidante do plasma, sendo esse fator de importância em casos de diabetes (OLIVEIRA, 2009).

Cardoso et al.(2011) avaliaram os efeitos de café solúvel nos níveis séricos de glicose em ratos diabéticos e obteve uma redução dessas taxas. Os autores esclarecem que esse efeito se deve a uma combinação das diferentes substâncias componentes do café como ACG, trigonelina, lignina e minerais que tem a capacidade de atuar no metabolismo do corpo.

Dam (2006) relata que o efeito do café no metabolismo da glicose é dependente da quantidade, pois ao comparar os resultados do risco de diabetes tipo 2 em indivíduos que consumiram a bebida em diferentes doses observou que para menores valores de consumo os efeitos são mais modestos.

Os resultados obtidos neste estudo confirmam que em doses mais baixas o café não possui a mesma capacidade de controlar os níveis de glicose, sendo esta característica mantida para maiores doses. O tratamento com cafeína pura mostrou efeitos contrários aos encontrados em estudos anteriores reduzindo a taxa de glicemia dos animais. Esse resultado controverso pode ter sido influenciado pela menor ingestão de alimento desse grupo.

Os valores normais dos níveis de glicose no sangue devem estar entre 70 e 99 mg dL⁻¹ em humanos. A hiperglicemia é preocupante, uma vez que a longo prazo pode causar diversas complicações para o organismo, algumas delas irreversíveis, como alterações nos nervos, pequenos e grandes vasos sanguíneos (DOUGLAS, 2006).

As taxas encontradas nos animais deste experimento estão acima da faixa ideal. Apesar do tratamento com maiores doses de café ter se mostrado eficiente na redução dos níveis de glicemia, um acompanhamento da taxa glicêmica para mantê-la dentro dos parâmetros ideais pode ser igualmente importante.

5.2.2 Colesterol

A ANAVA apontou efeito de dose $F_{(4, 585)} = 3,7711$, $p < 0,05$ na taxa de colesterol (Figura 11). Os animais CC1 ($76,98 \pm 14,9 \text{ mg dL}^{-1}$) apresentaram taxa de colesterol maior do que os do grupo C ($54,74 \pm 7,68 \text{ mg dL}^{-1}$) e CC25 ($55,57 \pm 10,12 \text{ mg/dL}$) ($p < 0,05$).

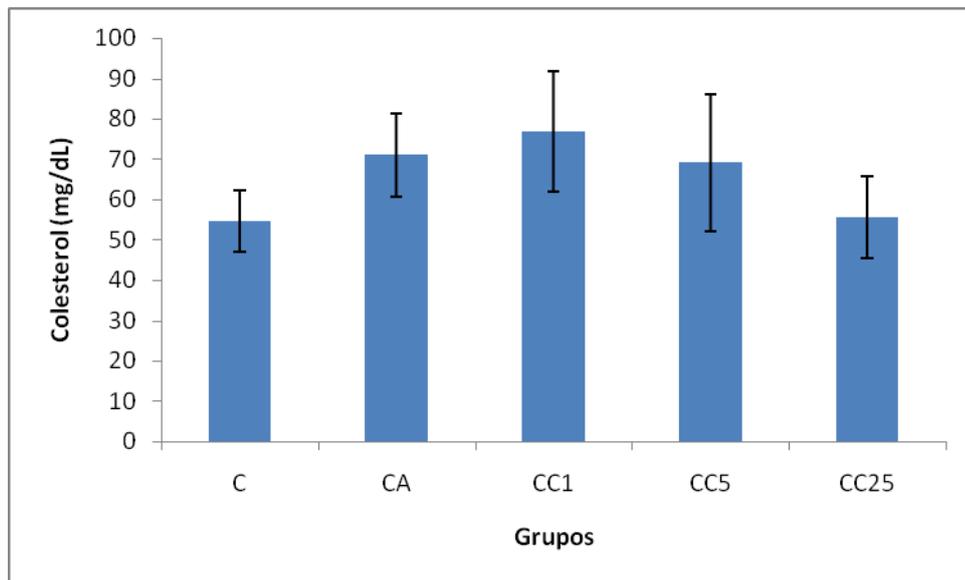


Figura 11 – Taxa de colesterol dos animais dos grupos Controle (C) – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média ± DP. Diamantina, 2011.

Os valores referentes ao colesterol total encontrados indicam que somente os animais tratados com a solução de café com maior concentração de cafeína e esta substância pura tiveram sua taxa aumentada. O grupo ao qual foi oferecida solução de café em menor concentração apresentou resultado semelhante ao controle.

Existe uma correlação entre o consumo de café e um aumento nos níveis séricos de colesterol total. Dois compostos presentes no óleo de café, o cafestol e o caveol, seriam os responsáveis por esse efeito. O mecanismo desse comportamento ainda é desconhecido, mas a forma como a bebida é preparada interfere nesse resultado. Quando o café é filtrado antes de ser consumido, o coador de pano ou o papel de filtro são capazes de impedir a passagem

desses componentes causadores do aumento dos níveis de colesterol (CARDOSO, 2011). Vale lembrar que no presente estudo se usou o café solúvel, portanto, não foi submetido ao processo de filtragem em coador de pano nem filtro de papel justificando o nível de colesterol mais alto para a maior dose de café.

Cardoso (2011) obteve resultados em seus estudos que confirmam um aumento significativo do colesterol pelo consumo de café solúvel em maiores doses. Ao passo que Oliveira (2009) encontrou indícios mostrando que a ingestão de café filtrado não aumentou as taxas de colesterol, ao contrário, obteve uma redução significativa de tais valores. O autor explica que excluindo o fator de risco, o café ainda contém substâncias antioxidantes como o ACG e ácido cafeico que diminuem a oxidação do colesterol LDL, minimizando problemas cardiovasculares.

Em relação à cafeína, Oliveira (2009), comparou os níveis de colesterol de indivíduos que ingeriram café cafeinado e descafeinado filtrados e não observou aumento nas taxas em nenhum dos dois casos, chegando à conclusão que a cafeína não causa efeitos nesse fator.

5.2.3 Triglicérides

A ANAVA não apontou diferenças entre os grupos avaliados nas taxas de triglicérides (Figura 12).

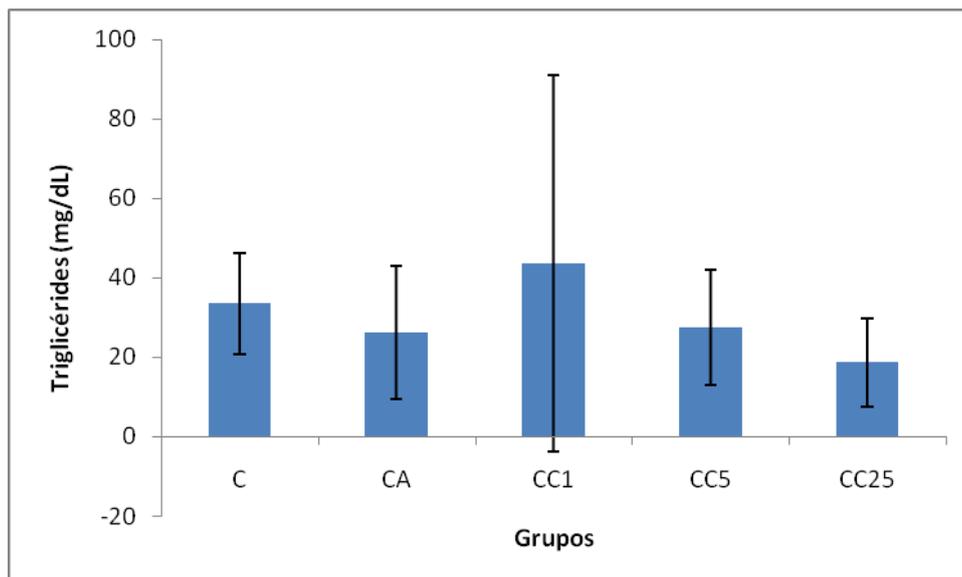


Figura 12 – Taxa de triglicérides dos animais dos grupos Controle (C) – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média ± DP. Diamantina, 2011.

Oliveira (2009) ao avaliar os efeitos de café cafeinado e descafeinado nos níveis de triglicérides não encontrou variações que indicassem que cafeína ou outros componentes do café afetassem esse fator.

5.3 Teor de minerais ósseo e comprimento da tíbia e fêmur

5.3.1 Minerais totais

Na porcentagem de cinzas, isto é, minerais totais dos ossos do fêmur e tíbia (Figura 13), a ANAVA apontou efeito de tratamento ($F_{(4, 102,51)} = 42,23$, $p < 0,0001$), na qual os animais do grupo CC5 ($37,52 \pm 0,99\%$) apresentaram maior teor de minerais do que os dos grupos CC1 ($35,39 \pm 2,05\%$) e CC25 ($35,10 \pm 1,56\%$), que por sua vez apresentaram maiores do que os do grupo C ($28,57 \pm 1,89\%$); os animais CC1 ($35,39 \pm 2,05\%$) mostraram maiores teores de minerais do que os CA ($28,75 \pm 0,98\%$) ($p < 0,05$).

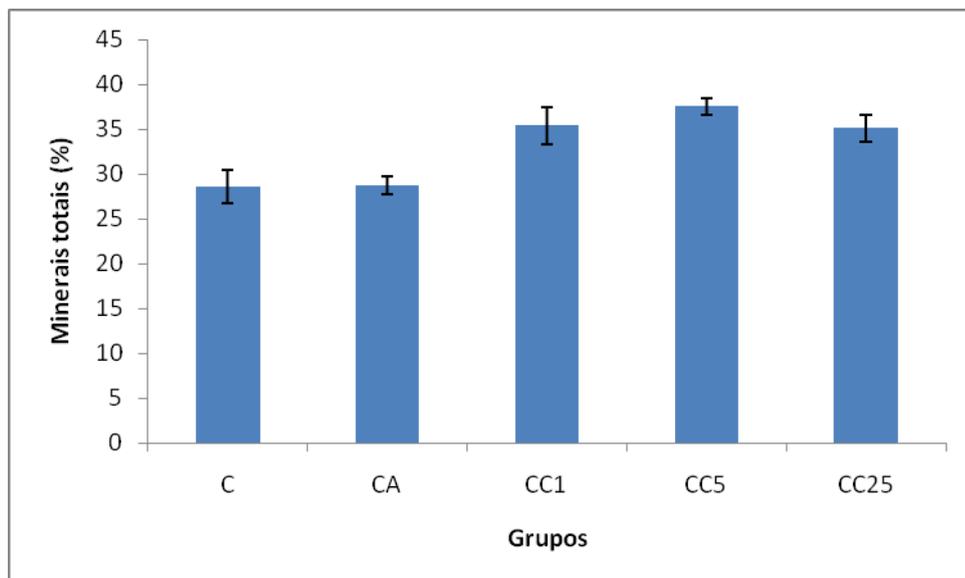


Figura13 – Minerais totais ósseo dos animais ao final de cinco semanas de tratamento. Diamantina, 2011. Legenda: Controle © – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média ± DP.

Os resultados obtidos indicam um maior teor de minerais totais nos grupos de animais tratados com café, sendo que os grupos de menores e maiores doses apresentaram valores inferiores. Os grupos controle e cafeína pura mostraram resultados semelhantes.

Indícios sugerem efeitos da cafeína no metabolismo ósseo e relatam que este composto, um dos principais constituintes do café, está associado a uma diminuição significativa de densidade mineral óssea, aumento do risco de fraturas e influência negativa sobre a retenção de cálcio. Os mecanismos pelos quais a cafeína influencia o tecido ósseo não estão totalmente elucidadas. O efeito da cafeína no osso pode estar ligado ao equilíbrio negativo de cálcio devido ao aumento da excreção urinária deste componente e redução na absorção. Outros possíveis mecanismos podem ser relacionados com a ação da cafeína sobre a viabilidade das células osteoblastos (formação óssea) (LACERDA et al., 2010).

Estudo realizado por Duarte et al. (2009) avaliando por análise histométrica o efeito da ingestão diária de altas doses de cafeína nos estágios iniciais da cicatrização óssea e densidade óssea na tíbia de ratos não encontraram influência do tratamento, contrariando resultados de outros autores. A possível explicação do que foi observado seria a idade dos animais, que neste caso são jovens e uma intervenção da cafeína parece ser mais evidente em animais mais velhos. As altas doses desta substância somente mostrou ser nociva para o início da cicatrização óssea, o que pode ter sido causado por danos nos osteoblastos.

Sakamoto et al. (2001), utilizando dietas contendo altas doses de café, não observaram nenhum efeito do consumo estimulando a perda de massa óssea em ratos, contrariando os trabalhos que relacionaram a cafeína como um fator risco para a osteoporose.

Lacerda et al. (2010) avaliaram os efeitos diários de consumo de café no metabolismo ósseo em ratos por dosagens bioquímicas de cálcio na urina, sangue e osso alveolar. Os resultados deste estudo fornecem evidência de que a ingestão diária de café retardou o processo de reparação de defeito ósseo produzido pela extração dentária, além do aumento na quantidade de cálcio encontrado na urina e plasma nos animais. Estes resultados sugerem que a deposição de cálcio no osso foi afetado pela exposição à cafeína, mudando a matriz extracelular necessárias para a deposição mineral. Entretanto, os autores não esclarecem a idade dos animais usados e este fator é importante nos processos avaliados.

A partir dos resultados obtidos no presente experimento, não pode ser afirmada uma contribuição prejudicial da cafeína para o teor de minerais totais. O grupo de animais tratados com cafeína pura apresentou valores bem próximos ao controle e significativamente abaixo do grupo de animais tratados com solução de café com mesma concentração do composto. Ao

contrário, o café apresentou efeito benéfico, elevando a taxa de minerais totais, sugerindo um efeito dos outros elementos presentes no café que poderiam ser responsáveis por esse efeito.

5.3.2 Comprimento do fêmur e da tibia

A ANAVA apontou efeito de tratamento no comprimento do fêmur ($F_{(4, 0,02)} = 4,38$, $p < 0,01$) e da tibia ($F_{(4, 0,0241)} = 4,48$, $p < 0,01$) (Figura 14). Os animais CC1 ($3,43 \pm 0,08$ cm) apresentaram menor comprimento do fêmur do que os C ($3,56 \pm 0,09$ cm), CC5 ($3,57 \pm 0,06$ cm) e CC25 ($3,55 \pm 0,05$ cm) e os animais do grupo CC1 ($3,76 \pm 0,08$ cm) apresentaram menor comprimento da tibia do que os C ($3,90 \pm 0,10$ cm), CA ($3,90 \pm 0,04$ cm), CC5 ($3,89 \pm 0,08$ cm) e CC25 ($3,91 \pm 0,04$ cm) ($p < 0,05$).

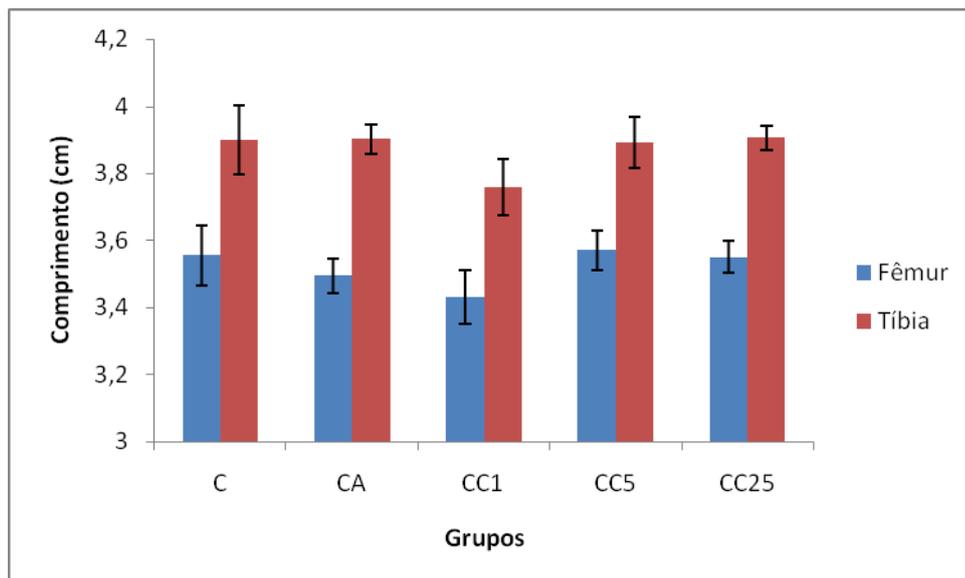


Figura 14 - Comprimento do fêmur e tibia dos animais ao final de cinco semanas de tratamento. Diamantina, 2011. Legenda: Controle © – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média ± DP.

O grupo de animais tratados com solução de café com maior concentração de cafeína apresentou o menor comprimento dos ossos do fêmur e da tibia, enquanto que o grupo ao qual foi oferecido solução de cafeína pura na mesma concentração mostrou valores

significativamente superiores para a tibia. Vale ressaltar também os resultados semelhantes entre este último grupo e os outros tratamentos.

Os estudos relacionando ingestão de cafeína e absorção de cálcio não são conclusivos. Os experimentos são feitos quantificando com exatidão a ingestão de cafeína, mas o mesmo não acontece com o consumo de cálcio. Existe um grande volume de evidências indicando que os efeitos da cafeína são sentidos somente por indivíduos que consomem cálcio em baixa quantidade na dieta. Outras variáveis não observadas e controladas também podem ser causas para diferenças encontradas. Experimento realizado com homens e mulheres avaliando consumo de bebidas contendo cafeína e massa óssea mostrou uma correlação inversa, mas essa relação desapareceu quando se levou em consideração outros fatores prejudiciais ósseos como tabagismo (HEANEY, 2002).

Em sua revisão bibliográfica, Heaney (2002) relatou ainda que estudos experimentais avaliando excreção urinária de cálcio por indivíduos que ingeriram cafeína de outras fontes que não fossem café, não encontraram nenhum efeito. Os resultados obtidos indicando um prejuízo na absorção de cálcio no tratamento de animais com café não afirmam que este seria causado pela cafeína já que o café possui em sua composição grande quantidade de outros compostos com valor biológico.

Os menores valores apresentados pelo grupo de ratos CC1 pode ser explicado pelo fato de ter consumido menos ração durante o período do experimento resultando num menor desenvolvimento ósseo, não indicando que a solução de café com maior dose de cafeína tenha sido a causa.

5.4 Análise dos órgãos

No peso do baço (Figura 15) houve efeito de tratamento ($F_{(4, 0,195)} = 6,9143$, $p < 0,001$). Os animais do grupo CC1 ($0,87 \pm 0,16g$) e CC5 ($0,71 \pm 0,06g$) pesaram menos do que os C ($1,17 \pm 0,19g$); os do grupo CC5 pesaram menos do que os do CC25 ($1,08 \pm 0,14g$) ($p < 0,05$).

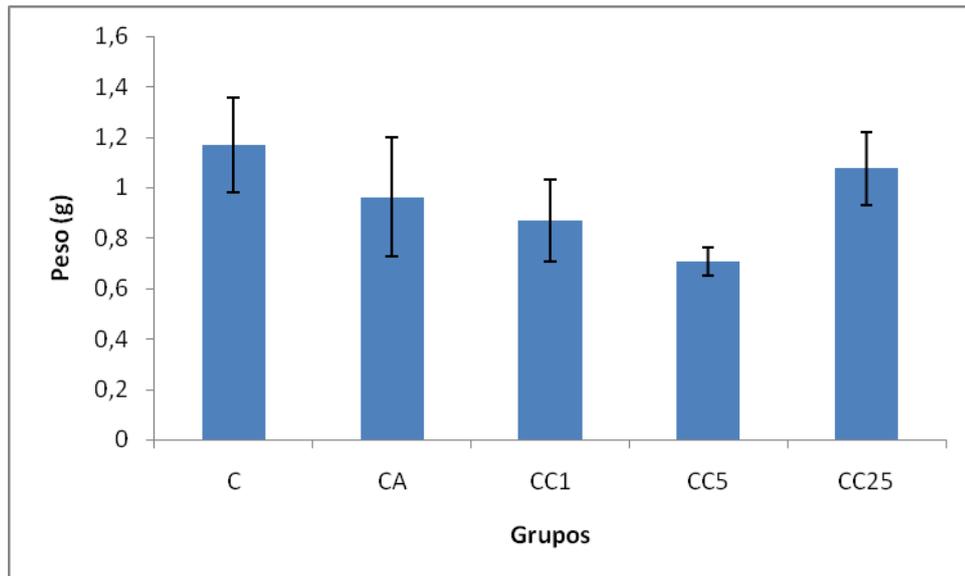


Figura 15 – Peso do baço dos animais ao final de cinco semanas de tratamento. Diamantina, 2011. Legenda: Controle (C) – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média ± DP.

Em relação ao peso do baço dos animais estudados, observou-se uma diminuição significativa nos valores encontrados nos grupos tratados com as soluções de café em maiores doses comparados com o grupo controle. Para CC25 (solução de café em menor dose e CA (cafeína pura) os valores encontrados aproximaram-se do controle. Os resultados indicam que o peso do baço somente foi afetado por tratamentos com maiores doses de cafeína.

O baço é um órgão que possui várias funções na resposta imunológica do organismo. É o maior dos órgãos linfáticos que controla, armazena e destrói células sanguíneas. A polpa branca participa do sistema de defesa, tem grande quantidade de linfócitos que produzem anticorpos muito importantes no combate às infecções. A polpa vermelha contém fagócitos que atuam na remoção de matérias inúteis ao sangue circulante, como bactérias ou células defeituosas e hemácias senescentes, destruindo-as (SILBERNAGL et al.,2009).

No peso das supra-renais ($F_{(4, 0,000087)} = 3,887, p < 0,01$) e testículos ($F_{(4, 0,0884)} = 12,01, p < 0,0001$), a ANAVA apontou efeito de tratamento. Entretanto, os pesos do coração, fígado e rins não foram alterados pelo tratamento.

As supra renais (Figura 16) dos animais do grupo CC1 ($0,039 \pm 0,005$) foram mais pesadas do que as dos grupos CA ($0,033 \pm 0,004$) e CC25 ($0,034 \pm 0,004$) ($p < 0,05$).

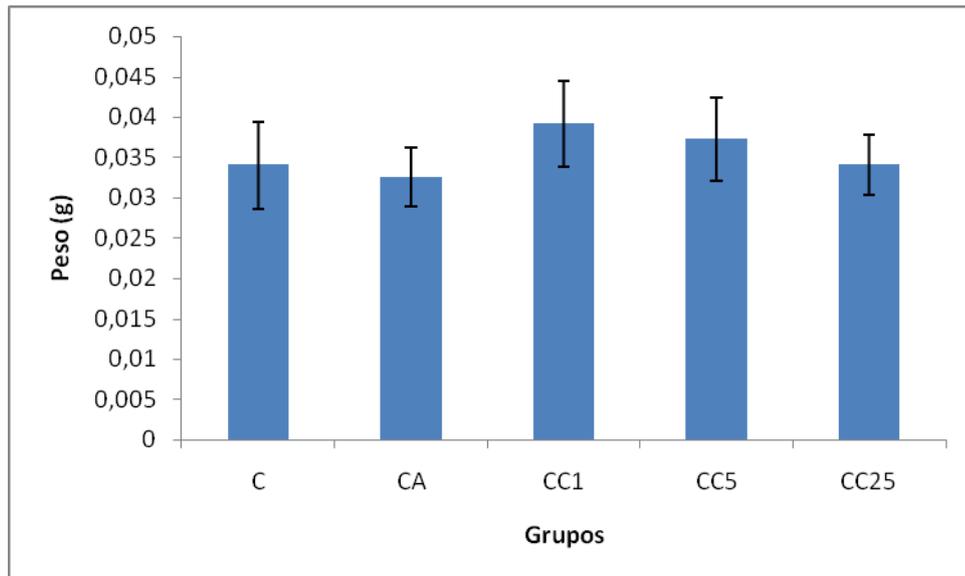


Figura 16 - Peso das supra-renais dos animais ao final de cinco semanas de tratamento. Diamantina, 2011. Legenda: Controle (C) – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média ± DP.

Os resultados do peso das supra-renais indicam um maior efeito do tratamento nos grupos de animais tratados com soluções de café com maiores doses de cafeína, sendo que a maior dose apresentou maior peso. O grupo que recebeu solução de cafeína pura não mostrou consequências semelhantes aos ratos que receberam café com mesma concentração deste componente. Não se pode afirmar que o efeito no peso deste órgão seja por causa da cafeína já que a solução pura deste composto resultou em valores semelhantes ao controle.

As supra renais são glândulas essenciais para o ser humano, pois possuem funções reguladoras do metabolismo do sódio, do potássio, da água e dos carboidratos e regulam as reações do organismo frente a situações de estresse. Secretam vários hormônios, entre os quais destacam-se a aldosterona, a adrenalina (ou epinefrina) e a noradrenalina (ou norepinefrina). Sua função básica está relacionada à manutenção do equilíbrio do meio interno, isto é, da homeostase do organismo, frente a situações diversas de modificação desse equilíbrio (tensão emocional, jejum, variação de temperatura, infecções, administração de drogas, exercício muscular, hemorragias, entre outros) (SILVERTHORN, 2010).

Apesar de parecer ser apenas um órgão, a supra-renal é na verdade duas glândulas endócrinas diferentes, o córtex supra-renal e a medula supra renal. O córtex supra-renal é a parte externa sendo responsável pela excreção dos hormônios conhecidos como corticoides.

Esses hormônios possuem funções como controlar a quantidade de alguns minerais no sangue (mineralocorticoides) e manter a concentração normal de glicose sanguínea (glicocorticoides). A medula supra-renal é parte interna da supra-renal e faz a secreção dos hormônios epinefrina (adrenalina) e norepinefrina (noradrenalina). Em situações que esta glândula é estimulada, aumenta a secreção de seus hormônios e estes auxiliam o corpo a resistir ou evitar estresse (THIBODEAU, 2002).

Os mineralocorticoides tem a função de controlar a quantidade de certos minerais no sangue, principalmente cloreto de sódio e influenciam o equilíbrio electrolítico (balanço de íons e água) do corpo. O principal mineralocorticoide é a aldosterona, que no sangue aumenta a quantidade de sódio e diminui o potássio. Esse hormônio estimula a reabsorção de sódio de forma a diminuir a quantidade desse mineral excretado pela urina e causa o efeito contrário para o potássio (THIBODEAU, 2002).

Os glicocorticoides ajudam a manter a concentração normal de glicose no sangue aumentando a gliconeogênese, que é um processo que converte aminoácidos e ácidos graxos em glicose realizado principalmente pelas células do fígado (THIBODEAU, 2002).

A adrenalina e noradrenalina são secretados em grandes quantidades depois de fortes reações emocionais. Estes hormônios são transportados pelo sangue para todas as partes do corpo onde provocam diversas reações como constrição dos vasos, elevação da pressão arterial e aumento dos batimentos cardíacos. Essas reações resultam no aumento do suprimento de oxigênio das células. A adrenalina aumenta a glicogenólise hepática e muscular e a liberação de glicose para o sangue e a combinação dessas (SILVERTHORN, 2010).

A adrenalina estimula o coração (aumenta os batimentos cardíacos) e a vaso constrição, aumenta a pressão arterial, libera a glicose armazenada no fígado e músculos. A noradrenalina é uma mediadora dos batimentos cardíacos, da pressão sanguínea e da taxa de conversão de glicogênio para energia(SILVERTHORN, 2010).

Os testículos (Figura 17) dos animais CC1($1,43 \pm 0,09$) pesaram menos do que os dos C ($1,54 \pm 0,06$), CA ($1,59 \pm 0,07$), CC5 ($1,60 \pm 0,12$) e CC25 ($1,66 \pm 0,06$); os dos CC25 ($1,66 \pm 0,06$) pesaram mais do que os testículos dos animais C ($1,54 \pm 0,06$) ($p < 0,05$). Os resultados mostram efeitos do tratamento com solução de café com maior dose de cafeína, mas não indicam que sejam causados por este composto já que não foram encontradas observações semelhantes no grupo de ratos que receberam solução de cafeína pura na mesma concentração. Os efeitos podem estar relacionados a outros componentes presentes no café.

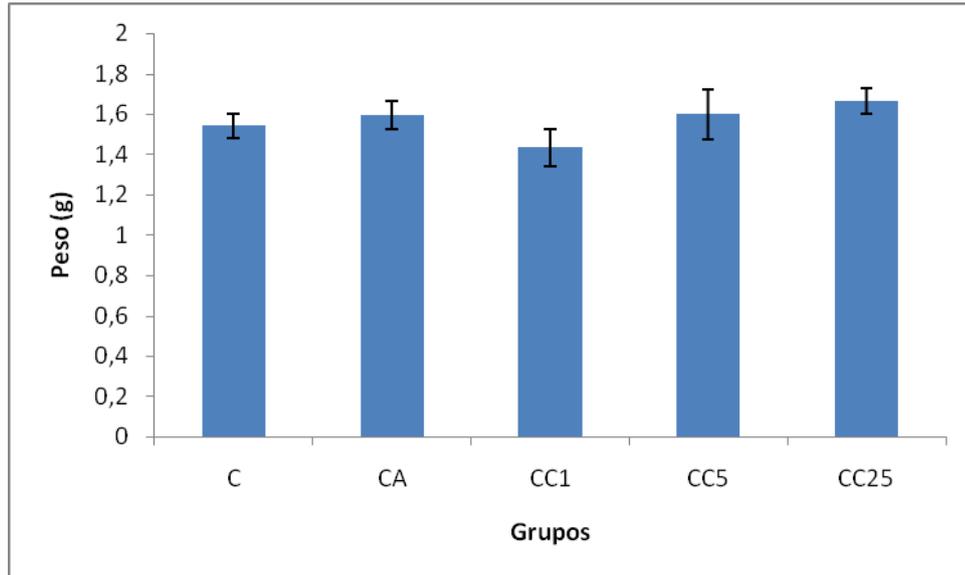


Figura 17 – Peso dos testículos dos animais ao final de cinco semanas de tratamento. Diamantina, 2011. Legenda: Controle (C) – receberam ração e água *ad libitum* (n=6); Cafeína 0,1% (CA) – receberam ração e solução de cafeína a 0,1% *ad libitum* (n=6); Café 0,1% (CC1) – receberam ração e café contendo 0,1% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,05% (CC5) – receberam ração e café contendo 0,05% de cafeína *ad libitum* (n=6); Café 0,025% (CC25) – receberam ração e café contendo 0,025% de cafeína *ad libitum* (n=6). Cada coluna representa a média \pm DP.

O testículo é a gônada sexual masculina responsável pela produção de espermatozoides (gametas masculinos) e hormônios sexuais masculinos (testosterona).

A testosterona é responsável pelo desenvolvimento e manutenção das características masculinas, pela função e desempenho sexual. Altas taxas estão relacionadas com aumento do comportamento agressivo. É também o responsável pelo maior desenvolvimento de massa muscular nos machos em relação às fêmeas.

Sobreiro et al. (2005) avaliaram efeitos do consumo de café (controle, 1 a 3 xícaras por dia, 4 a 6 xícaras por dia e mais de 6 xícaras por dia) nas características seminais em uma população de indivíduos férteis. Observaram efeitos do café na motilidade dos espermatozoides onde o grupo controle apresentou motilidade progressiva média de 57,1% enquanto que os pacientes que consumiram mais de 6 xícaras por dia, em média de 62,4%. Os parâmetros volume de sêmen, concentração de esperma e morfologia do esperma não apresentaram diferenças significativas.

Pesquisa com modelos animais sugeriram que a cafeína quando adicionada ao esperma pode aumentar a motilidade do espermatozoide. Em humanos os resultados são inconclusivos principalmente por causa da dificuldade de quantificar o consumo diário de cafeína levando em conta o fato de diferentes alimentos conterem essa substância atualmente. Outra questão

importante é o controle de outras variáveis que podem aumentar ou diminuir a motilidade dos espermatozoides, ficando difícil estabelecer com precisão a forma como a cafeína afeta as características do esperma do homem (SOBREIRO et al., 2005).

No presente estudo não foi feita análise morfológica e nem análise da função dos órgãos sendo necessárias pesquisas futuras que avaliem esses parâmetros, pois o funcionamento dos mesmos é mais importante do que somente seu peso, muito embora a redução de peso já seja um indício de prejuízos.

A exposição ao tratamento com cafeína e café neste estudo não pode ser considerada como crônica, pois para isso o tempo de estudo deveria ser, no mínimo, de 90 dias.

6 CONCLUSÕES

O café na dose mais elevada, mas não a cafeína, reduziu o peso corporal, a ingestão de ração, o peso do baço, das supra renais, dos testículos, do comprimento dos ossos (fêmur e tibia) e aumento no colesterol total.

O aumento no teor de minerais totais nos grupos que receberam café e redução na glicemia na dose mais elevada mostraram um efeito benéfico do consumo desta bebida.

Os efeitos do café parecem estar relacionados a outros componentes presentes na bebida uma vez que a cafeína pura não alterou estes parâmetros, ou então há sinergismo das substâncias presentes no café.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; LIMA, A. R.; FERREIRA, E. B.; MALTA, M. R. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1799-1804, dez. 2008.

ABREU, R. V.. Efeito Promnésico e antioxidante do café no Sistema Nervoso Central de ratos. 2009. 115 p. Tese (Doutorado em Ciência de alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

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

ARRUDA, A. C.; MINIM, V. P. R.; FERREIRA, M. A. M.; MINIM, L. A.; SILVA, N. M.; SOARES, C. F.. Coffee consumption and non-consumption justifications and motivations. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, V. 29, n. 4, p. 754-763, 2009.

ASSOCIATION OF ANALITICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis of the AOAC International (18.ed.). Gaithersburg, Maryland, 2005.

BEZERRA, J. P. Influência da ingestão crônica de altas doses de cafeína na periodontite induzida por ligadura e na densidade e reparo ósseo em tíbias de ratos: estudo histométrico. 2008. 47f. Dissertação (Mestrado em Odontologia, área de concentração em Periodontia) - Universidade Guarulhos, Guarulhos, 2008.

CARDOSO, L. M.; OLIVEIRA, T. T.; PINTO, A. S.; CHAVES, A. R. M.; LEÃO, M. A.; COSTA, M. R.; FONSECA, M. K. A.; SANTOS, A.; ZATTI, R. A.; NAGEM, T. J. Efeito das tinturas de café torrado e moído nos níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e glicose em ratos diabéticos. *Ver. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, 2011;32(1):77-81, 2011.

CARDOSO, L.M.; OLIVEIRA, T.T.; PINTO, A.S.; CHAVES, A.R.M.; LEÃO, M.A.; COSTA, M.R.; FONSECA, M.K.A.; SANTOS, A.; ZATTI, R.A.; NAGEM, T.J. Efeito das tinturas de café torrado e moído nos níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e glicose em ratos diabéticos. *RevCiêncFarm Básica Apl.*, V. 32, p. 77-81, 2011.

CARVALHO, D. do C.; BRIGAGÃO, M. R. P. L.; SANTOS, M. H. dos; PAULA, F. B. A. de; GIUSTI-PAIVA, A.; AZEVEDO, L.. Organic and Conventional Coffea arabica L.: A Comparative Study of the Chemical Composition and Physiological, Biochemical and Toxicological Effects in Wistar Rats. *Plant Foods Hum Nutr.* V. 66, p. 114–121, 2011.

CHOI, Eun-Y.; PARK, Seo-Y.; CHO, Youn-O. Freeze-dried instant coffee can promote the activities of antioxidant enzymes and induce weight loss but also aggravate the plasma cholesterol profile in rats. *Nutrition* v.27, p. 1202–1205, 2011.

DAM, R. M. van. Coffee and type 2 diabetes: from beans to beta-cells. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease, Oxford*, V. 16, n. 1, p. 69 – 77, 2006.

DINGLE, R. N. ; DREUMONT-BOUDREAU, S. E.; LOLORDO, V. M.. Caffeine dependence in rats: Effects of exposure duration and concentration. *Physiology & Behavior*, v. 95, p. 252–257, 2008.

DOUGLAS, C. R.. Fisiologia Aplicada à Nutrição. 2 ed.. Rio de Janeiro, RJ. Editora Guanabara Koogan S. A., 2006. 1074p.

DUARTE, P. M.; MARQUES, M. R.; BEZERRA, J. P.; BASTOS, M. F.. The effects of caffeine administration on the early stage of bone healing and bone density: A histometric study in rats. *Archives of Oral*. V. 54, p. 717–722, 2009.

DUARTE, S. M. S.; ABREU, C. M. P.; MENEZES, H. C.; PAULA, F. B. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; GOUVEIA, C. M. C. P. Efeito da bebida de café descascado sobre a atividade antioxidante, os parâmetros hematológicos e bioquímicos em ratos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 29, n. 4, p. 703-708, out./dez. 2009.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiol.*, v. 18, n. 1, p. 23-36, 2006.

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

GARCIA, E. L.; DAM, R. M van; RAJPATHAK, S.; WILLETT, W. C; MANSON, J. E.; HU, F. B. Changes in caffeine intake and long-term weight change in men and women. *The American Journal of Clinical Nutrition*. V. 83, p. 674–680, 2006.

GAVRIELI, A.; YANNAKOULIA, M.; FRAGOPOULOU, E.; ARGARITOPOULOS, D.; CHAMBERLAND, J. P.; KAISARI, P.; KAVOURAS, S. A.; MANTZOROS, C. S.. Caffeinated Coffee Does Not Acutely Affect Energy Intake, Appetite, or Inflammation but Prevents Serum Cortisol Concentrations from Falling in Healthy Men. *The Journal of Nutrition*. 2011.

GRANDJEAN, A. C.; REIMERS, K. J.; BANNICK, K. E.; HAVEN, M. C.. The Effect of Caffeinated, Non-Caffeinated, Caloric and Non-Caloric Beverages on Hydration. *Journal of the American College of Nutrition*, V. 19, No. 5, p. 591–600, 2000.

HEANEY, R.P.. Effects of caffeine on bone and the calcium economy. *Food and Chemical Toxicology*, V. 40, p.1263–1270, 2002.

HIGDON, J.V.; FREI, B. Coffee and health: a review of recent human research. *Crit. Rev. FoodSci Nutr.*, v. 46, p. 101-123, 2006.

HOLMES, D. S. Psicologia dos transtornos mentais.2. ed. Editora Artes Médicas Sul LTDA, 1997.

JESSEN, A.; BUEMANN, B.; TOUBRO, S.; SKOVGAARD, I. M.; ASTRUP, A.. The appetite-suppressant effect of nicotine is enhanced by caffeine. *Diabetes, ObesityandMetabolism*. V. 7, p. 327–333, 2005.

LACERDA, S. A.; MATUOKA, R. I.; MACEDO, R. M.; PETENUSCI, S. O.; CAMPOS, A. A.; BRENTGANI, L. G..Bone Quality Associated with Daily Intake off Coffee: A Biochemical, Radiographic and Histometric Study. *Braz Dent J*. V. 21, p. 199–204, 2010.

LACERDA, S. A.; MATUOKA, R. I.; MACEDO, R. M.; PETENUSCI, S. O.; CAMPOS, A. A.; BRENTGANI, L. G. Bone quality associated with daily intake of coffee: a biochemical, radiographic and histometric study. *Braz. Dent. J.*, v. 21, n. 3, p. 199-204, 2010.

LIMA, F. A. de; SANT'ANA, A. E. G.; ATAÍDE, T. da R.; OMENA, C. M. B. de, MENEZES, M. E. da S.; VASCONCELOS, S. M. L.. Café e saúde Humana: um enfoque nas substâncias presentes na bebida relacionadas às doenças cardiovasculares. *Rev. Nutr.*, V. 23, n. 6, p. 1063 – 1073, 2010.

LOPES, A. C.. Diagnóstico e Tratamento – Sociedade Brasileira de Clínica Médica. V. 2. Barueri, SP. Manole, 2006. 2112p.

MONTEIRO, M. C.; TRUGO, L. C. Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 637-641, ago.2005.

NAWROT,P.; JORDAN, S.; EASTWOOD, J.; ROTSTEIN, J.; HUGENHOLTZ, A.; FEELEY, M.. Effects of caffeine on human health. *Food Additives and Contaminants*, V. 20, n. 1, p. 01–30, 2003.

OLIVEIRA, R. M. E.. Consumo de café cafeinado e descafeinado por indivíduos adultos: Parâmetros Bioquímicos, Fisiológicos, Físicos e Antropométricos. 2009. 103p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PEDROSO, G. L.; MENDES, R. H.; PERSCH, K.; JAHN, M. P.; KUCHARSKI, L. C.. Efeito do extrato aquoso de *ilexparaguariensis* sobre o metabolismo de ratos machos. *Rev HCPA* v. 30, p. 241-246, 2010.

PETTENUZZO, L. F.; NOSCHANG, C.; TOIGO, E. von P.; FACHIN, A.; VENDITE, D.; DALMAZ, C.. Effects of chronic administration of caffeine and stress on feeding behavior of rats. *PhysiologyandBehavior*. V. 95, p. 295–301, 2008.

RODARTE, M. P.; ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; MALTA, M. R. Compostos não voláteis em cafés da região sul de Minas submetidos a diferentes pontos de torração. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v. 33, n. 5, p. 1366-1371, set./out. 2009.

SAKAMOTO,W.; NISHIHIRA,J.; FUJIE, K.; IIZUKA, T.; HANDA, H.; OZAKI, M.; YUKAWA, S.. Effect of coffee consumption on bone metabolism. *Bone*. V. 28, p.332–336, 2001.

SILBERNAGL, S.; DESPOPOULOS, A.. Fisiologia: Texto e atlas. 7 ed.. Porto Alegre, RS. Artmed S. A., 2009. 441p.

SILVA, E. G. F.; ALEXANDRE, A. A.; NASCIMENTO, G. K. B. O.; OLIVEIRA, J. B.; NEVES, E. S.; COSTA SOBRINHO, A. V.; SILVEIRA, M. F. G. Study of sensory-motor and somatic development of the offspring of rats (Wistar) treated with caffeine. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 45, n. 4, Oct./Dec., 2009.

SOBREIRO, B. P.; LUCON, A. M.; PASQUALOTTO, F. F.; HALLAK, J.; ATHAYDE, K. S.; ARAP, S.. Semen analysis in fertile patients undergoing vasectomy: reference values and variations according to age, length of sexual abstinence, seasonality, smoking habits and caffeine intake. *Sao Paulo Med J.*;V.123,N.4, P. 161-166, 2005.

SOUZA, R. M. N.; CANUTO, G. A. B.; DIAS, R. C. E.; BENASSI, M. T. Teores de compostos bioativos em cafés torrados e moídos comerciais. *Quim. Nova*, v. 33, n. 4, p. 885-890, 2010.

SWITHERS, S. E.; MARTIN, A. A.; CLARK, K. M.; LABOY, A. F.; DAVIDSON, T.L.. Body weight gain in rats consuming sweetened liquids. Effects of caffeine and diet composition. *Appetite*. v. 55, p. 528-533., 2010.

THIBODEAU; P.. Estrutura e Funções do Corpo Humano. 11 ed. Barueri, SP. Manole, 2002. 528p.

WESTERTERP-PLANTENGA, M. S.; LEJEUNE, M. P.; KOVACS, E.M..Body weight loss andweight maintenance in relation to habitual caffeine intake and green tea supplementation. *Obes Res*, V.13, P.1195– 1204, 2005