

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANDRÉA TARZIA

**EFEITO DO PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA SOBRE AS FRAÇÕES
POLISSACARÍDICAS DOS GRÃOS DE CAFÉ (*Coffea Arabica*)
E SUAS BEBIDAS**

CURITIBA

2010

ANDRÉA TARZIA

**EFEITO DO PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA SOBRE AS FRAÇÕES
POLISSACARÍDICAS DOS GRÃOS DE CAFÉ (*Coffea Arabica*)
E SUAS BEBIDAS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências - Bioquímica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Lúcia de Oliveira Petkowicz

CURITIBA

2010

Com muito amor:

À minha mãe, Maria de Lourdes

Ao meu irmão, André

Ao Daniel, meu marido, e a minha querida Gabriela

AGRADECIMENTOS

Agradeço muito à minha mãe e meu irmão, pelo apoio em todos os momentos da minha vida. Ao meu marido, Daniel e a Gabriela, pela compreensão, incentivo e carinho nos momentos difíceis.

Aos amigos e amigas: Dalton, Scheila e Adriana por acreditarem em mim; Lúcia, Mariana, Heid e João pela companhia, pelo carinho, pela ajuda nos experimentos e principalmente, pela imensa amizade;

À Rosimeire, Ana Luiza e Cíntia, pelo apoio nos momentos finais e mais difíceis,

À Emanuelle e a Luely, pelo carinho e ajuda na realização deste trabalho,

À minha orientadora, Profa. Dra. Carmen, pelo apoio, dedicação, paciência, e por permitir a realização deste trabalho,

À minha professora e amiga, Dra. Maria Berenice, pelos seus abraços. Ao Prof. Dr. Emanuel e a Profa. Dra. Leda, pelas orientações,

À Dra. Maria Brígida, pelas amostras de café, pelas orientações e amizade,

As técnicas de laboratório Andréia e Rosane, pelo auxílio nas análises realizadas. A Rose e ao Walter, pela disposição, carinho e amizade,

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Bioquímica, pela dedicação ao curso,

À todos aqueles que estiveram ao meu lado e apoiaram a realização deste trabalho.

E se formos ignorantes de nosso passado, se formos indiferentes à nossa história e às pessoas que tanto fizeram por nós, não estaremos sendo apenas estúpidos, mas estaremos sendo rudes.

Da 146ª Colação de Grau do Beloit College
12 de maio de 1996, Ganhador do Prêmio Pulitzer David McCollough

Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
“Esses são os imprescindíveis.”

Bertolt Brecht

RESUMO

A bebida de café é consumida mundialmente e sua qualidade final depende da composição química dos grãos. Neste estudo, frutos frescos de *C. arabica* cultivar IAPAR 59 foram submetidos, em paralelo, a três diferentes tipos de processamento pós-colheita: frutos intactos foram processados utilizando o método natural (CN), frutos descascados foram processados utilizando o método semi-úmido (CD) e frutos despulpados foram processados pelo método úmido (CP). A extração dos polissacarídeos a partir do endosperma isolado dos frutos de café processados e não processados indicou que arabinogalactanas e (galacto)mananas foram os principais polissacarídeos dos grãos verdes de café. Entre os tratamentos, menores quantidades de galactomananas solúveis em água foram obtidas a partir dos grãos CN e CP. De acordo com os resultados, o tratamento pós-colheita pode causar alterações nos polissacarídeos dos grãos verdes. Bebidas foram preparadas por filtração usando os grãos CN, CD e CP e os polissacarídeos solúveis presentes foram precipitados. As frações polissacarídicas obtidas apresentaram diferenças no rendimento percentual e nos teores de carboidrato total e proteínas. Man, Gal e Ara foram os principais carboidratos, sugerindo que a maioria dos polissacarídeos presentes nas bebidas também foram (galacto)mananas e arabinogalactanas-AGPs (confirmado com o teste de difusão radial em gel com reagente Yariv β -glucosyl). As galactomananas foram acetiladas, sendo o conteúdo acetil menor para a fração obtida a partir do café natural. Apesar das diferenças encontradas na composição química, não foram observadas diferenças na viscosidade ou na tensão superficial das bebidas de café. O café despulpado apresentou menor atividade seqüestrante de radicais DPPH que os cafés natural e descascado, sugerindo que agentes redutores também foram influenciados pelo método de processamento pós-colheita.

Palavras chave: Carboidratos. *Coffea arabica*. Viscosidade. Tensão superficial. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

Coffee beverage is consumed worldwide and its final quality depends on the chemical composition of the beans. In this study, fresh fruits from *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59 were subjected to three different types of post-harvest processing: intact fruits were processed using the dry method (CN), hulled fruits were processed using the semi-wet method (CD) and fruits were processed using the wet method (CP). The extraction of polysaccharides from the endosperm isolated from the coffee fruits unprocessed and processed indicated that arabinogalactans and (galacto)mannans were the main polysaccharides in green coffee beans. Among the treatments, lower amounts of water soluble galactomannans were obtained from coffee beans processed by dry and wet method. According to the results the post-harvest processing of coffee may cause changes in the polysaccharides from coffee beans. Coffee beverages were prepared by filtration using beans processed using beans of the CN, CD and CP methods. Soluble polysaccharides present in the beverages were precipitated. The polysaccharide fractions showed different yields and total carbohydrate and protein contents. The monosaccharide composition of the samples was similar. Man, Gal and Ara were the main monosaccharides, suggesting that the majority of the polysaccharides present in the coffee beverages were also galactomannans and arabinogalactans-AGPs (confirmed with the radial gel diffusion assay with β -glucosyl Yariv reagent). Galactomannans from coffee infusions were acetylated being the acetyl content lower for fraction obtained from coffee processed by dry method. Although differences were found in the chemical compositions, no differences were observed in the viscosity or surface tension of coffee beverages from CN, CD and CP. The pulped coffee had lower DPPH radical scavenging activity of the natural coffees or pulped coffees, suggesting that reducing agents were also influenced by the method of post-harvest processing.

Keywords: Carbohydrates. *Coffea Arabica*. Viscosity. Surface tension. Antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	- ESTRUTURA DA PAREDE CELULAR DE VEGETAIS SUPERIORES.....	18
FIGURA 2	- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA PAREDE CELULAR PRIMÁRIA DO TIPO I E DO TIPO II.....	19
FIGURA 3	- ESTRUTURA DA CELULOSE NA PAREDE CELULAR.....	22
FIGURA 4	- ESTRUTURA ESQUEMÁTICA DAS SUBSTÂNCIAS PÉCTICAS.....	23
FIGURA 5	- ESTRUTURA DA ARABINOGALACTANA DO CAFÉ.....	25
FIGURA 6	- ESTRUTURA DA GALACTOMANANA.....	28
FIGURA 7	- ESTRUTURA DA MANANA PURA.....	28
FIGURA 8	- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO FRUTO DE CAFÉ.....	30
FIGURA 9	FOTOGRAFIA DO FRUTO DE CAFÉ COLETADO EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO.....	33
FIGURA 10	- PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA DAS AMOSTRAS DE <i>Coffea arabica</i> CULTIVAR IAPAR 59.....	41
FIGURA 11	- FLUXOGRAMA DAS EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS PARA OBTENÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DOS GRÃOS VERDES DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	46
FIGURA 12	- RENDIMENTO PERCENTUAL DAS FRAÇÕES OBTIDAS POR EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS VERDES DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	47
FIGURA 13	- TEOR DE CARBOIDRATO TOTAL DAS FRAÇÕES OBTIDAS POR EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS VERDES DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	53

FIGURA 14	-	TEOR DE PROTEÍNAS DAS FRAÇÕES OBTIDAS POR EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS VERDES DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	54
FIGURA 15	-	COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DAS EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS VERDES DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	60
FIGURA 16	-	PERFIL DE ELUIÇÃO POR HPSEC DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DAS EXTRAÇÕES AQUOSAS A 4, 25 E 60 °C DOS GRÃOS VERDES DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	67
FIGURA 17	-	RENDIMENTO PERCENTUAL, TEORES DE AÇÚCAR TOTAL E PROTEÍNAS DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE GRÃOS DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	69
FIGURA 18	-	COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE GRÃOS DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	72
FIGURA 19	-	PERFIL DE ELUIÇÃO POR HPSEC DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE GRÃOS DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	73
FIGURA 20	-	ENSAIO DE DIFUSÃO RADIAL EM GEL DE AGAROSE NA PRESENÇA DE REAGENTE β -GLUCOSIL YARIV PARA DETECÇÃO DE ARABINOGALACTANA-PROTEÍNAS NAS FRAÇÕES ISOLADAS DAS BEBIDAS DE <i>Coffea arabica</i>	77

FIGURA 21	- CURVA DE FLUXO DAS BEBIDAS PREPARADAS COM GRÃOS DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	78
FIGURA 22	- VALORES MÉDIOS DA ATIVIDADE SEQÜESTRANTE DE RADICAIS DPPH DAS BEBIDAS PREPARADAS COM GRÃOS DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	81

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	- RENDIMENTO PERCENTUAL, TEORES DE CARBOIDRATO TOTAL E PROTEÍNAS DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DOS GRÃOS VERDES DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	55
TABELA 2	- COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DAS EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS DE <i>Coffea arabica</i> VERDE SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA	61
TABELA 3	- RENDIMENTO PERCENTUAL, TEORES DE AÇÚCAR TOTAL E PROTEÍNAS DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE GRÃOS DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	70
TABELA 4	- COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE GRÃOS DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	72
TABELA 5	- VALORES MÉDIOS DE TENSÃO SUPERFICIAL DAS BEBIDAS DE <i>Coffea arabica</i> PROVENIENTES DE DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA.....	79
TABELA 6	- VALORES DE EC50 DAS BEBIDAS PREPARADAS COM GRÃOS DE <i>Coffea arabica</i> SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGP	Arabinogalactana-proteína
BSA	Albumina de soro bovino
C	Café cereja controle (não processado)
CD	Café cereja descascado
CN	Café cereja natural
CP	Café cereja despulpado
Di	Diâmetro interno
DMSO	Dimetilsulfóxido
GLC	Cromatografia líquido-gasosa
HÁ	Hemicelulose A
HB	Hemicelulose B
HPSEC	Cromatografia de exclusão estérica de alta pressão
MALLS	Espalhamento de luz laser em multiângulos
RI	Índice de refração

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	OBJETIVO GERAL.....	16
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	PAREDE CELULAR.....	17
2.1.1	Parede primária.....	18
2.1.2	Parede secundária.....	20
2.2	POLISSACARÍDEOS DA PAREDE CELULAR.....	21
2.2.1	Celulose.....	21
2.2.2	Substâncias pécticas.....	22
2.2.3	Hemiceluloses.....	26
2.3	POLISSACARÍDEOS DE RESERVA DA PAREDE CELULAR.....	27
2.3.1	Galactomananas e mananas.....	27
2.4	O GÊNERO <i>COFFEA</i>	29
2.4.1	Importância histórica e econômica do café.....	31
2.4.2	Processamento do café.....	33
2.4.3	Fatores que influenciam na qualidade da bebida de café.....	36
2.4.3.1	Polissacarídeos do café.....	37
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE <i>Coffea arabica</i>	40
3.1.1	Processamento pós-colheita do <i>Coffea arabica</i>	40
3.1.2	Controle da fermentação.....	42
3.1.3	Controle da secagem.....	42
3.2	Extração dos polissacarídeos presentes nos grãos verdes de <i>Coffea arabica</i>	44

3.3	PREPARO DAS BEBIDAS DE <i>Coffea arabica</i> PARA ANÁLISE DAS FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS.....	45
3.3.1	Torrefação.....	45
3.2.2	Determinação de luminosidade do café torrado.....	45
3.3.3	Preparo da bebida e isolamento dos polissacarídeos solúveis.....	45
3.4	ANÁLISES DAS FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS OBTIDAS A PARTIR DOS GRÃOS VERDES E DAS BEBIDAS DE <i>Coffea arabica</i> ..	46
3.4.1	Rendimento, teores de açúcar total, ácidos urônicos e acetil.....	46
3.4.2	Composição monossacarídica.....	47
3.4.3	Cromatografia de exclusão estérica de alta pressão.....	48
3.5	Detecção de arabinogalactana-proteínas usando um ensaio de difusão em gel de agarose com o reagente β -glucosil Yariv.....	48
3.6	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS BEBIDAS DE <i>Coffea arabica</i>	49
3.6.1	Viscosidade das bebidas de <i>Coffea arabica</i>	49
3.6.2	Tensão superficial das bebidas de <i>Coffea arabica</i>	49
3.7	Atividade antioxidante das bebidas de <i>Coffea arabica</i>	50
3.8	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	50
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1	Controle do processamento pós-colheita.....	51
4.2	Rendimento percentual, teores de açúcar total e proteínas das frações obtidas a partir dos grãos verdes de <i>Coffea arabica</i> submetidos a diferentes métodos de processamento pós-colheita.....	51
4.3	Análise da composição monossacarídica das frações obtidas por extração dos grãos verdes de <i>Coffea arabica</i> submetidos a diferentes métodos de processamento pós-colheita.....	58

4.4	Perfil de eluição por Cromatografia de Exclusão Estérica de Alta Pressão das frações polissacarídicas obtidas a partir dos grãos verdes de <i>Coffea arabica</i> submetidos a diferentes métodos de processamento pós-colheita.....	66
4.5	Análises das bebidas preparadas com grãos de <i>Coffea arabica</i> submetidos a diferentes métodos de processamento pós-colheita	68
4.6	Perfil de eluição por Cromatografia de Exclusão Estérica das frações polissacarídicas solúveis nas bebidas de <i>Coffea arabica</i> submetido a diferentes métodos de processamento pós-colheita.....	75
4.7	Análises de viscosidade e tensão superficial das bebidas de <i>Coffea arabica</i>	78
4.8	Análise da atividade sequestrante de radical DPPH das bebidas de <i>Coffea arabica</i>	80
5	CONCLUSÃO	83
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

1 INTRODUÇÃO

O café é a matéria prima de uma das bebidas mais consumidas no mundo. O Brasil figura como o maior produtor e exportador de café, mas vêm enfrentando problemas de desvalorização do preço, se comparado ao de outros países, devido à qualidade do seu produto.

O termo qualidade do café pode ser definido como um conjunto de atributos físicos, químicos, sensoriais e de segurança que atendam os gostos dos consumidores. Um dos principais fatores responsáveis pela qualidade do café é a composição química dos grãos, os quais possuem substâncias que vão formar o aroma e o sabor da bebida.

É bem conhecido que o método de processamento pós-colheita (natural, semi-úmido ou úmido) é um dos fatores que determina a composição química e qualidade do café e estabelece as diferenças nas características finais de sua bebida. Por exemplo, o café produzido pelo método úmido tem menos corpo, maior acidez e é mais aromático que o produzido pelo método natural, por isso é considerado de melhor qualidade. Entretanto, ainda não são totalmente compreendidos quais componentes são responsáveis por essas diferenças.

Entre as centenas de compostos presentes nos grãos de café, destacam-se os polissacarídeos. Os polissacarídeos são os principais constituintes dos grãos e contribuem para as características sensoriais da bebida do café uma vez que atuam na formação de substâncias flavorizantes, retenção de substâncias voláteis, aumentam a viscosidade e afetam a formação de espuma. Assim, variações na composição química dos polissacarídeos presentes nos grãos de café decorrentes do método de processamento pós-colheita poderiam gerar diferenças nas características sensoriais e, conseqüentemente, na qualidade das bebidas preparadas a partir destes grãos. A capacidade de controlar e modificar as propriedades finais da bebida do café depende do conhecimento exato da composição química do material processado. Portanto, conhecer o efeito dos diferentes métodos de processamento pós-colheita sobre a composição química dos polissacarídeos presentes nos grãos de café e a relação entre estes compostos e a qualidade da bebida é de suma importância na escolha do método mais adequado para produção de café de melhor qualidade.

1.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o efeito de três diferentes métodos de processamento pós-colheita sobre a composição dos polissacarídeos presente nos grãos de *Coffea arabica* L. cultivar IAPAR 59 e em suas bebidas e correlacionar os resultados obtidos com as características físico-químicas da bebida.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter e analisar a composição química dos polissacarídeos presentes nos grãos verdes de *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59 submetidos a três diferentes métodos de processamento pós-colheita: natural, semi-úmido e úmido,

- Obter e analisar a composição química dos polissacarídeos solúveis presentes nas bebidas obtidas a partir dos grãos de *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59 provenientes dos diferentes tipos de processamento pós-colheita,

- Determinar a viscosidade das bebidas obtidas a partir dos grãos de *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59 provenientes dos diferentes tipos de processamento pós-colheita,

- Determinar a tensão superficial das bebidas obtidas a partir dos grãos de *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59 provenientes dos diferentes tipos de processamento pós-colheita,

- Determinar a atividade antioxidante das bebidas obtidas a partir dos grãos de *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59 provenientes dos diferentes tipos de processamento pós-colheita.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PAREDE CELULAR

A parede celular é uma estrutura típica da célula vegetal, depositada exteriormente a membrana plasmática, sendo composta principalmente por polissacarídeos (CARPITA, McCANN, 2000).

Uma grande diversidade de funções é atribuída à parede celular, tais como: proporcionar resistência mecânica à célula, manter sua morfologia, controlar a expansão celular e o transporte intercelular, proteger a célula contra a maioria dos organismos potencialmente patógenos e predadores, participar na comunicação intercelular e contribuir em alguns casos como reserva alimentar (CARPITA; GIBEAUT, 1993; COSGROVE, 1999; CARPITA, McCANN, 2000).

A parede celular é capaz de modificar-se nos diferentes estádios de desenvolvimento da planta e permitir assim a ocorrência de vários eventos fisiológicos como a germinação das sementes, desenvolvimento por expansão celular, abscisão das folhas e flores e amadurecimento de frutos (CARPITA; GIBEAUT, 1993; BUCKERIDGE, SANTOS, TINÉ, 2000).

Em termos de composição química, a parede celular dos vegetais superiores é constituída por três domínios independentes: celulose-hemicelulose, pectinas e proteínas (WHISTLER, 1970; CARPITA; GIBEAUT, 1993, CARPITA; McCANN, 2000). A proporção entre estes componentes depende da espécie vegetal, entre outros fatores. No modelo proposto por Carpita e Gibeaut (1993) a parede celular é formada essencialmente por microfibrilas de celulose envolvidas e interligadas por polímeros de hemiceluloses. Este domínio está imerso em uma matriz de polímeros pécticos, a qual “cimenta” todo o sistema. A ultraestrutura da parede celular de vegetais superiores compreende uma camada intercelular, composta por camadas de constituição química e anatômica distintas, sendo separadas em parede primária e parede secundária (ALBERSHEIM, 1975; CARPITA; GIBEAUT, 1993) (Figura 1). Entre as paredes primárias de células adjacentes encontra-se a lamela média.

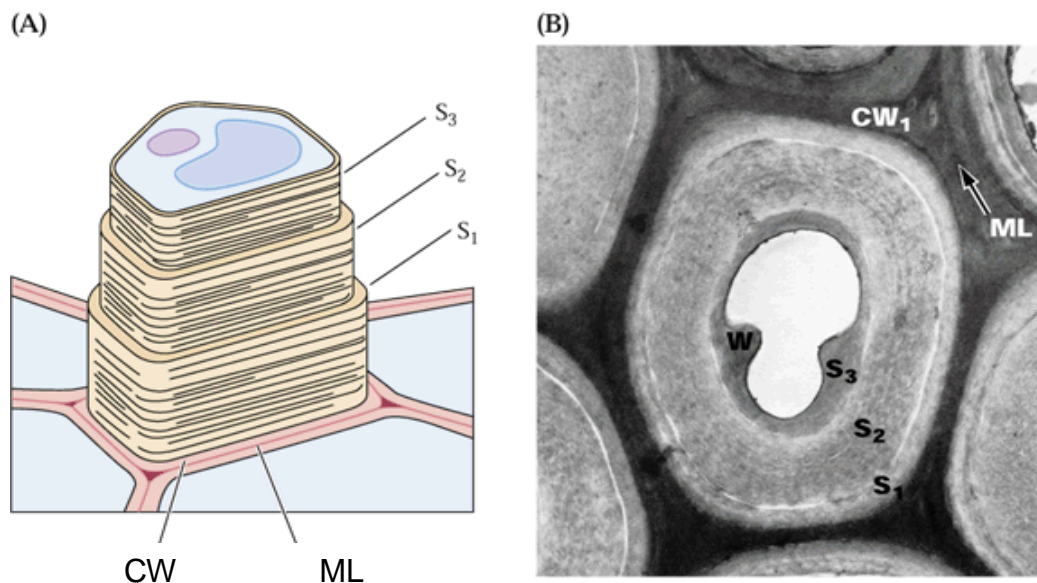


FIGURA 1 – ESTRUTURA DA PAREDE CELULAR DE VEGETAIS SUPERIORES

FONTE: CARPITA; McCANN (2000)

NOTA: (A) Representação esquemática e (B) microscopia eletrônica das camadas de uma parede celular de vegetais superiores. Célula vegetal mostrando a parede celular primária (CW), a lamela média (ML) e as diferentes camadas da parede celular secundária: parede secundária externa (S1); parede secundária média (S2); parede secundária interna (S3)

2.1.1 Parede primária

As fases iniciais do desenvolvimento celular são caracterizadas por possuírem uma parede primária, extremamente fina e semi-rígida, que permite o crescimento da célula (CARPITA; GIBEAUT, 1993; CARPITA; McCANN, 2000). É composta de aproximadamente 90% de polissacarídeos (celulose, hemicelulose e substâncias pécnicas) e 10% de proteínas, normalmente, glicoproteínas.

A parede primária apresenta extraordinária complexidade estrutural e sua arquitetura é precisamente regulada (McNEIL; DARVILL; FRY, 1984; SCHINDLER, 1998). Uma das suas principais funções, por exemplo, é a capacidade de expansão em resposta à pressão de turgor exercida dentro da própria célula (SJÖSTRÖM, 1993; CARPITA; McCANN, 2000; O'NEILL; YORK, 2003).

Segundo o modelo clássico, a parede celular primária é constituída por duas fases, uma microfibrilar e outra matricial (COSGROVE, 1999). A fase microfibrilar distingue-se da matricial pelo alto grau de cristalinidade visível ao

microscópio eletrônico e por possuir uma composição química relativamente homogênea. A fase microfibrilar é composta por estruturas longas e finas designadas microfibrilas, constituídas por moléculas de celulose associadas entre si por pontes de hidrogênio e alinhadas paralelamente ao longo das microfibrilas. Juntamente às zonas cristalinas encontram-se nas microfibrilas de celulose, zonas amorfas nas quais as fibras de celulose não têm orientação regular. A fase matricial consiste em uma variedade de polissacarídeos, glicoproteínas e compostos fenólicos, variando a sua composição com as diferentes camadas da parede, tipos de células e diferentes fases do ciclo celular.

Em relação à arquitetura e à dinâmica de expansão da parede primária, o modelo mais aceito atualmente é o proposto por Carpita e Gibeaut (1993), que denomina a parede celular de dicotiledôneas como parede celular do tipo I e a de monocotiledôneas, pertencentes a Ordem Poales (gramíneas), como parede tipo II (Figura 2).

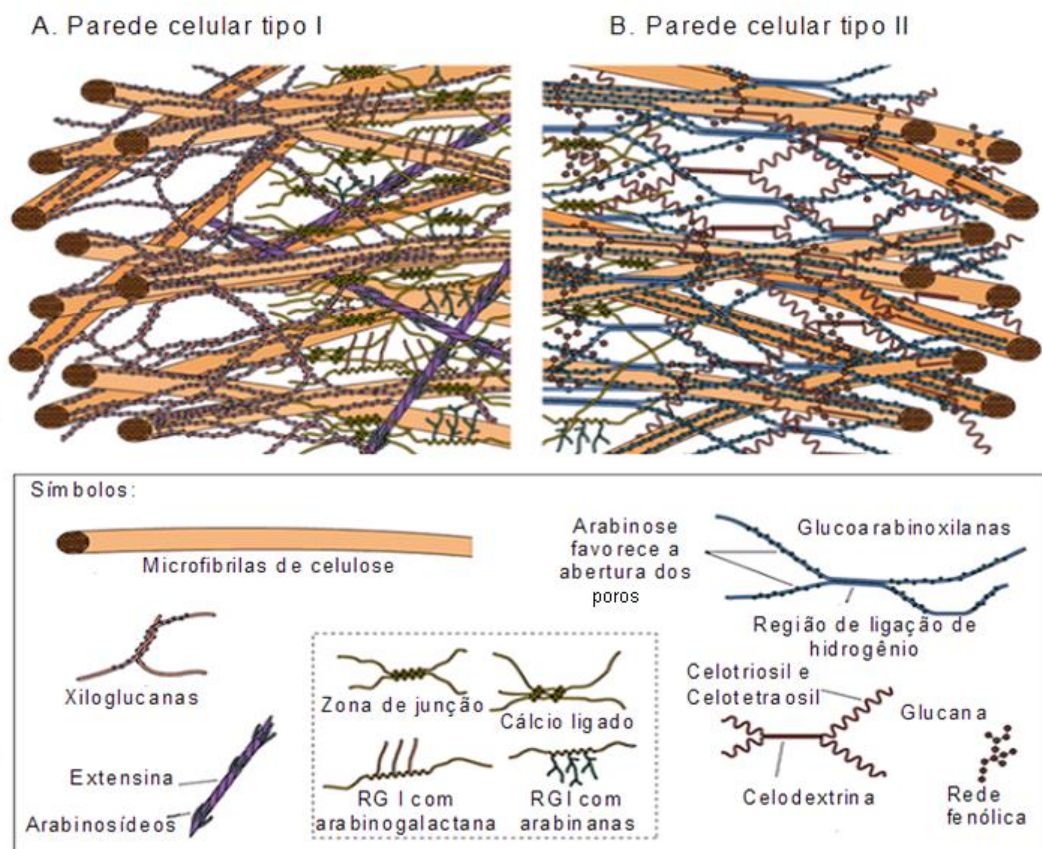


FIGURA 2 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA PAREDE CELULAR PRIMÁRIA DO TIPO I E DO TIPO II.
 FONTE: CARPITA; McCANN (2000)

As paredes do tipo I seriam constituídas, fundamentalmente, por uma rede de microfibrilas de celulose envolvidas e interconectadas por cadeias de xiloglucanas. Outros polissacarídeos hemicelulósicos também podem ser encontrados, porém em menores quantidades. Toda a rede de polissacarídeos estaria embebida em uma matriz péctica formada, principalmente, por homogalacturonanas e ramnogalacturonanas do tipo I (RG-I).

Nas paredes do tipo II, as microfibrilas de celulose estão envolvidas e interconectadas por cadeias de glucuronoarabinosilanas, ao invés de xiloglucanas. As pectinas encontram-se presentes em menores quantidades e compostos fenólicos podem estar envolvidos na formação de ligações cruzadas entre os polímeros da parede.

2.1.2 Parede secundária

Em algumas células especializadas, ao final da expansão celular, ocorre deposição de uma parede secundária internamente à parede primária pré-existente (ALBERSHEIM *et al.*, 1996; REID, 1997). A conversão da parede primária em secundária ocorre após o processo de lignificação, o qual interrompe o crescimento celular, e indica, portanto, o amadurecimento celular e a diferenciação terminal da célula (ALBERSHEIM *et al.*, 1996). Este tipo de parede é constituída, majoritariamente, por microfibrilas de celulose (50-80%) entre as quais se encontram localizadas porções de lignina (15-35%) e hemiceluloses (5-30%) (SJÖSTROM, 1993). A forma e a composição da parede celular estão intimamente relacionadas com a função de cada tipo especializado de célula.

As células com parede celular secundária encontram-se geralmente mortas. Podem ser muito alongadas (fibras) e terem funções de suporte, como as células de esclerênquima, ou serem isodiamétricas (escleritos) e terem funções de proteção, como nas sementes. Os escleritos podem também ocorrer em pequenos grupos de células, como nas pêras, sendo as responsáveis pela textura por vezes "arenosa" que a polpa apresenta (SELVENDRAN; O'NEILL, 1987).

A parede secundária contém tipicamente 3 camadas distintas: parede secundária externa (S1) parede secundária média (S2) e parede secundária interna

(S3), que diferem em espessura, orientação de microfibrilas e composição. A S1 e a S3 possuem microfibrilas orientadas de maneira transversal; a S2 é muito mais grossa que as outras duas e apresenta microfibrilas orientadas longitudinalmente em relação ao comprimento da célula. Esta orientação proporciona à célula grande resistência a tensão e a compressão (CARPITA, 1996; CARPITA; McCANN, 2000)

2.2 POLISSACARÍDEOS DA PAREDE CELULAR

A composição da parede celular varia consideravelmente com o tipo de tecido, podendo a comparação entre os polissacarídeos de cada grupo ser útil à compreensão das propriedades das paredes celulares.

A classificação que tem sido adotada para os polissacarídeos das paredes celulares é baseada no modo de extração. As pectinas são os polissacarídeos extraídos da parede com agentes quelantes, água quente ou ácidos diluídos (CARPITA; McCANN, 2000). Já as hemiceluloses, são extraídas com soluções alcalinas de bases fortes como o KOH ou NaOH (ASPINALL, 1969; WHISTLER, 1970; WHISTLER, 1993; DEY; HARBORNE, 1997). A celulose por sua vez é obtida a partir dos resíduos da extração de pectinas e hemiceluloses sendo, portanto, não solúvel em álcali (CARPITA; McCANN, 2000).

2.2.1 Celulose

A celulose constitui entre 15 a 30% da matéria seca das paredes celulares primárias (McNEIL; DARVILL; FRY, 1984) e 40% das paredes celulares secundárias, sendo o composto orgânico mais abundante no mundo (FRY, 1988). Ela ocorre em todas as partes dos vegetais, sendo formada por cadeias lineares de glucose ligadas $\beta(1\rightarrow4)$ (Figura 3). As longas cadeias de celulose dispõem-se lado a lado formando microfibrilas com estrutura quase cristalina, cuja integridade é mantida por ligações de hidrogênio entre os numerosos grupos OH-adjacentes.

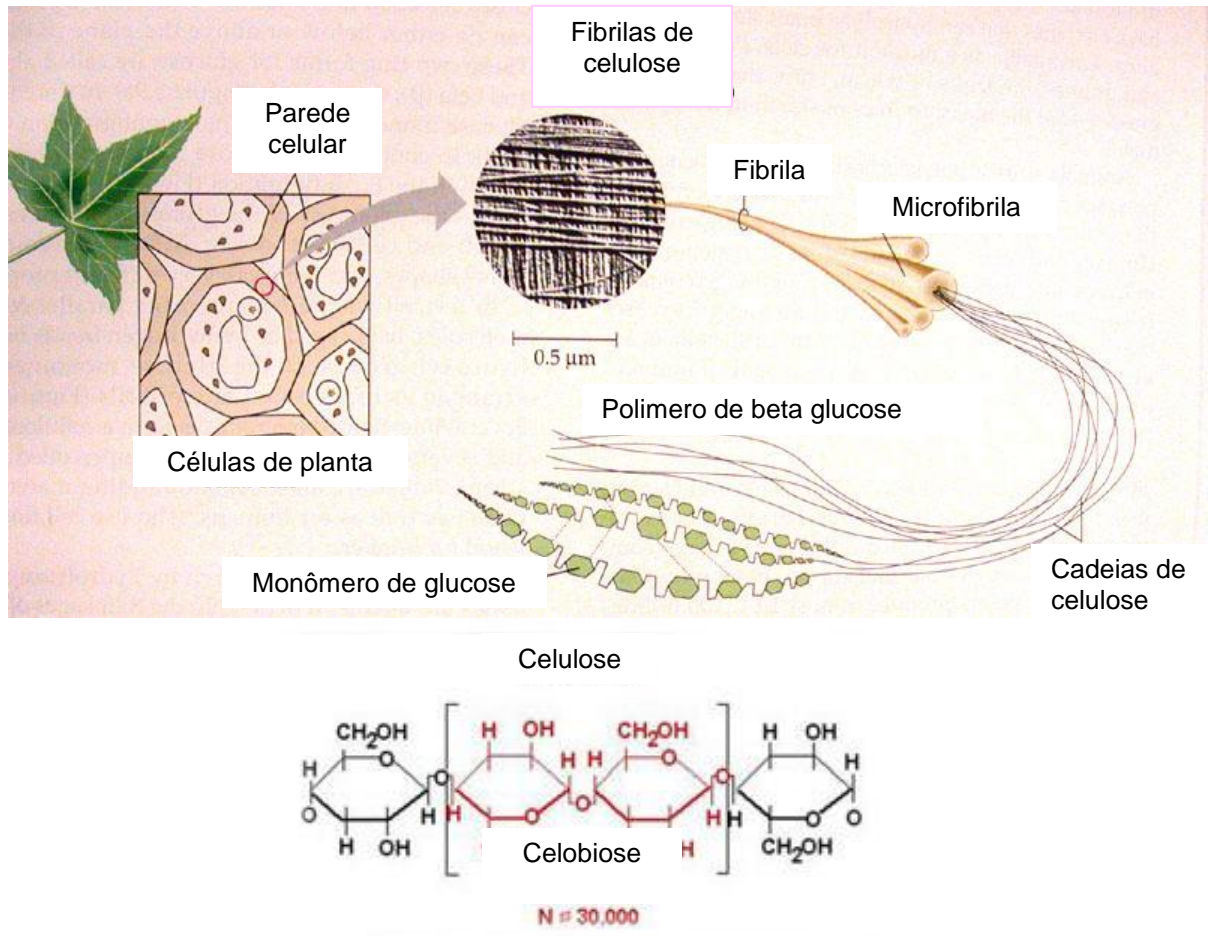


FIGURA 3 – ESTRUTURA DA CELULOSE NA PAREDE CELULAR
 FONTE: CARPITA; McCANN (2000)

2.2.2 Substâncias Pécicas

As pectinas ocorrem, praticamente, em todas as plantas superiores e se encontram na lamela média, onde são responsáveis por regular a adesão entre as células (MOHNEN, 1999), e na parede primária, propiciando rigidez aos diferentes tecidos, incluindo os frutos verdes (CROOKES; GRIERSON, 1983). As pectinas da lamela média encontram-se associadas por pontes de Ca^{+2} , são menos ramificadas e possuem cadeias laterais mais curtas do que as da parede primária (JARVIS, 1982, 1984). Estes polissacarídeos também apresentam várias outras funções fisiológicas: determinam a porosidade da parede, promovem superfícies carregadas que modulam o pH da parede e o balanço iônico e atuam como moléculas de

reconhecimento que sinalizam o ataque de organismos simbiotes, patógenos e insetos desencadeando respostas de defesa (KEEGSTRA *et al.*, 1973; ROBERTS, 1990). Estas substâncias estruturais compõem cerca de 35% da matéria seca das paredes celulares primárias de angiospermas, sendo também abundantes nas gimnospermas (VARNER; LIN, 1989).

As substâncias pécticas são polissacarídeos ricos em ácido galacturônico e incluem: polímeros em que o ácido galacturônico se encontra metil-esterificado (pectinas), polímeros em que este se encontra desesterificado (ácidos pécticos) e polissacarídeos neutros que apesar de não possuírem uma cadeia de ácido galacturônico se encontram geralmente em associação com as pectinas (arabinanas, galactanas e arabinogalactanas) (RIDLEY; O'NEILL; MOHNEM, 2001).

Os principais tipos de polissacarídeos pécticos são as homogalacturonanas (HGA), as ramnogalacturonanas do tipo I (RG-I), as ramnogalacturonanas do tipo II (RG-II) e as xilogalacturonanas. Estes polissacarídeos têm sido analisados detalhadamente permitindo a detecção de algumas características estruturais específicas (RIDLEY; O'NEILL; MOHNEM, 2001) (Figura 4).

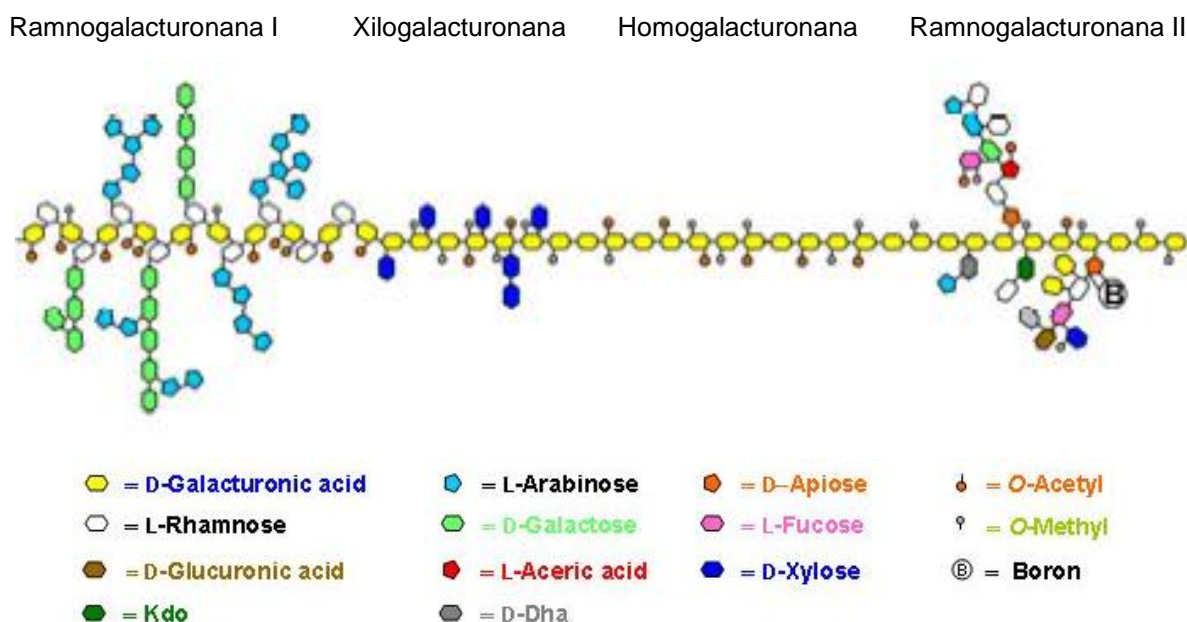


FIGURA 4 – ESTRUTURA ESQUEMÁTICA DAS SUBSTÂNCIAS PÉCTICAS

FONTE: www.jbei.org/images/feedstocks/pectin_structure.png

As HGA são compostas por cadeias lineares de ácido D-galacturônico ligados $\alpha(1\rightarrow4)$, nas quais parte das unidades de ácido galacturônico encontra-se esterificada com metanol. Ocasionalmente, unidades de ramnose podem ser encontradas na HGA (RIDLEY; O'NEILL; MOHNEM, 2001).

As RG-I são polímeros ramificados, que consistem de uma cadeia principal de unidades alternadas de ácido D-galacturônico e ramnose ligadas $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow2)$, respectivamente. Os principais pontos de ramificação são as posições C-4 das unidades de ramnose, havendo também cadeias laterais ligadas diretamente ao C-2 ou C-3 de unidades de ácido galacturônico (De VRIES, 1988; SCHOLS; VORAGEN, 2002). As cadeias laterais são compostas principalmente por polissacarídeos neutros como arabinanas, galactanas e arabinogalactanas do tipo I (SCHOLS; VORAGEN, 2002). Entretanto, a extração de arabinanas (JOSELEAU *et al.*, 1977), galactanas (VORAGEN *et al.*, 1995) e arabinogalactanas (ASPINALL; COTTRELL, 1971) com métodos não degradativos sugere a existência destes polissacarídeos também como entidades individualizadas.

As arabinanas apresentam uma cadeia principal de unidades de L-arabinose furanosídica unidas por ligações $\alpha(1\rightarrow5)$, com ramificações nas posições O-2 e/ou O-3 (VORAGEN *et al.*, 1995; PÉREZ, MAZEAU; du PENHOAT, 2000)

Devido às diferenças nas ligações químicas envolvidas na cadeia principal das arabinogalactanas estas são classificadas em dois grandes grupos: as arabinogalactanas do tipo I e II. As primeiras são formadas por uma cadeia linear de unidades piranosídicas de D-galactose ligadas $\beta(1\rightarrow4)$ substituídas em O-3 por cadeias de arabinanas ligadas $\alpha(1\rightarrow5)$ (VORAGEN *et al.*, 1995; PÉREZ, MAZEAU; du PENHOAT, 2000). O conteúdo de arabinose nas arabinogalactanas do tipo I é muito variável, podendo chegar a 50%. Estruturas químicas de arabinogalactanas tipo I contendo ramnose, xilose, manose e glucose foram caracterizadas por vários autores (CAPEK *et al.*, 2003; DIALLO *et al.*, 2003; CIPRIANI *et al.*, 2004; KARDOSOVÁ *et al.*, 2004). As arabinogalactanas do tipo II são altamente ramificadas e consistem de cadeias de unidades de β -D-galactose ligadas $(1\rightarrow3)$ e $(1\rightarrow6)$ com ramificações por unidades de arabinose. As ramificações podem ainda conter unidades de D-GlcpA, 4-O-metil-D-GlcpA e D-GalpA (ASPINALL, 1969; FINCHER *et al.*, 1983, STEPHEN, 1983; McNEIL; DARVILL; FRY, 1984). Estes polissacarídeos podem estar associados a proteínas formando as

arabinogalactanas-proteínas, conhecidas como AGPs. A estrutura da AGP proposta por Redgwell *et al.* (2002) do café está representada na Figura 5.

A RG II é formada por uma cadeia principal de homogalacturonana, com cadeias laterais curtas, mas formadas por ligações glicosídicas de vários tipos, e vários monossacarídeos, incluindo açúcares raros, como o ácido acérico, a apiose, o Dha (ácido 3-deoxi-D-lixo-heptulosárico) e o Kdo (ácido 2-ceto-3-deoxi-D-mano-octulosônico) (DARVILL; McNEIL; ALBERSHEIM, 1978; McNEIL; DARVILL; FRY, 1984).

As xilogalacturonanas são cadeias de homogalacturonanas substituídas em O-3 por β -D-xilose. A presença de xilogalacturonanas ou galacturonanas ricas em xilose foi identificada em grãos de soja, ervilha, melancia, casca de limão e maçã. As unidades de xilose estão presentes como cadeias laterais de uma única unidade ligada à posição O-3 das unidades piranosídicas de ácido galacturônico (VORAGEN *et al.*, 1995; ALBERSHEIM *et al.*, 1996).

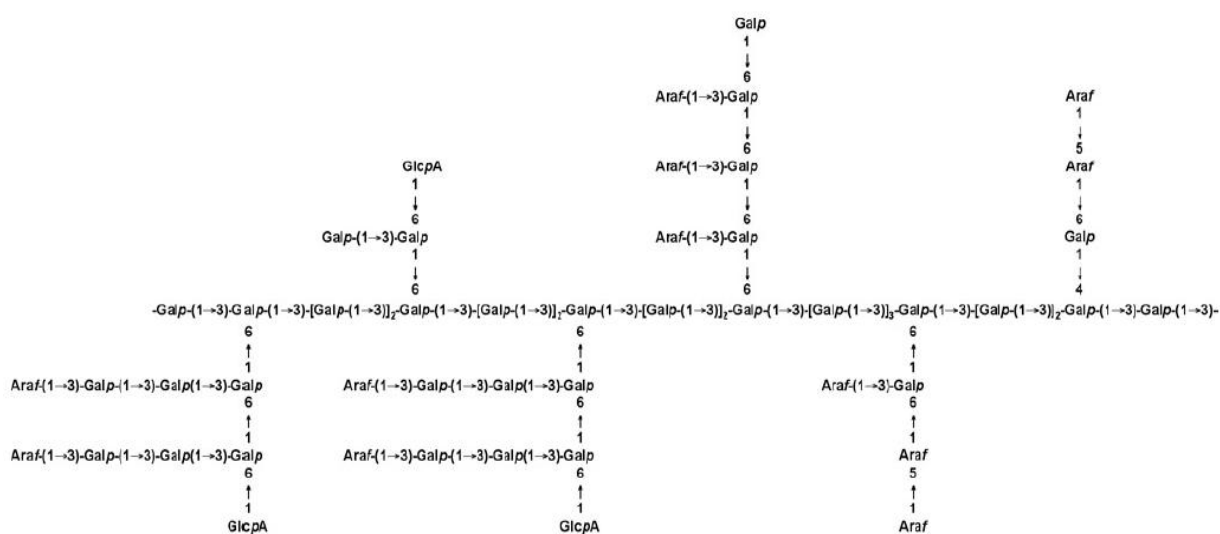


FIGURA 5 – ESTRUTURA DA ARABINO GALACTANA-PROTEÍNA DO CAFÉ.
 FONTE: REDGWELL *et al.* (2002)

2.2.3 Hemiceluloses

Para alguns autores, as hemiceluloses são heteropolissacarídeos que se associam à celulose e à lignina na parede celular (COLLINS; FERRIER, 1995). Outros adotam a definição descrita por Aspinall (1969) e Timell (1964), na qual o termo hemicelulose refere-se aos polissacarídeos presente em tecidos vegetais que ocorrem juntamente com a celulose e que podem ser isolados através de extrações alcalinas (GABRIELLI *et al.*, 2000). As hemiceluloses constituem cerca de 20% da massa seca da parede celular (DEY; HARBORNE, 1997). Em geral, as hemiceluloses são constituídas de longas cadeias, muitas vezes com numerosas ramificações curtas, constituídas de uma ou várias unidades monossacarídicas, que normalmente são diferentes daquelas que constituem a cadeia principal (WHISTLER, 1993).

As duas hemiceluloses mais abundantes em paredes primárias são as xiloglucanas e as glucuroarabinoxilanas (CARPITA, McCANN, 2000). Estes polissacarídeos de ligação-cruzada estão presentes em todas as paredes primárias das angiospermas.

As xiloglucanas apresentam uma cadeia principal de unidades de D-glucose unidas por ligações $\beta(1\rightarrow4)$. A cadeia principal pode ser substituída em O-6 por unidades de α -D-xilopiranosose, a qual também pode ser substituída em O-2 por unidades de β -D-galactopiranosose, e estas por sua vez podem ser substituídas em O-2 por unidades de α -L-fucose (McNEIL *et al.*, 1984; FRY, 1988; HAYASHI, 1989; CARPITA; GIBEAUT, 1993).

As glucuronoarabinoxilanas consistem de cadeias de D-xilose ligadas $\beta(1\rightarrow4)$ apresentando ramificações em O-2 e O-3 por unidades arabinofuranosídicas e ácido glucurônico (CARPITA; McCANN, 2000).

Outras hemiceluloses são encontradas em menores quantidades na parede celular primária, tais como, (galacto)glucomananas, galactomananas, mananas e glucanas (PULS; SCHUSEIL, 1993; KAKURÁKOVÁ *et al.*, 2000)

As principais hemiceluloses da parede secundária de gimnospermas são as galactoglucomananas e menores quantidades de arabinoxilanas ácidas

(SJÖSTROM, 1993), enquanto as angiospermas apresentam principalmente xilanas ácidas (TIMELL, 1964; REICHER, CORRÊA; GORIN, 1984).

As xilanas consistem de cadeias lineares de xilose ligadas $\beta(1\rightarrow4)$ e são o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza (CARPITA; McCANN, 2000). Podem estar associadas com outros monossacarídeos como arabinose e ácido glucurônico, formando arabinoxilanas, glucuronoxilanas e arabinoglucuronoxilanas .

2.3 POLISSACARÍDEOS DE RESERVA DE PAREDE CELULAR

As angiospermas apresentam diferentes estratégias de adaptação aos seus respectivos ambientes, entre as quais está o acúmulo de certos compostos de reserva em suas sementes. Estas substâncias são mobilizadas após a germinação, durante o desenvolvimento das plântulas, e seus produtos de degradação são usados para diferentes propósitos, tais como a geração de energia e a produção de matéria prima (proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e lipídeos) para a construção de novos tecidos e células (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1975). Dentre as principais substâncias armazenadas pelas plantas, muitos polímeros de carboidratos foram selecionados durante a evolução. Entre os polímeros de reserva destacam-se os polissacarídeos de reserva de parede celular (PRPC) (REID; EDWARDS, 1995). Nas plantas superiores, os polímeros conhecidos como PRPC são: mananas, galactomananas, glucomananas, galactoglucomananas e xiloglucanas.

2.3.1 Galactomananas e mananas

As galactomananas de vegetais superiores são formadas por uma cadeia linear de unidades D-manopiranosídicas ligadas $\beta(1\rightarrow4)$, apresentando substituições por unidades simples de D-galactose, unidas à cadeia principal por ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ (Figura 6). Dependendo da fonte botânica e das condições de extração, o conteúdo de galactose nas galactomananas é variável, sendo que

quando abaixo de 10% de ramificação, os polímeros tornam-se insolúveis (DEA *et al.*, 1986), sendo considerados mananas puras (Figura 7).

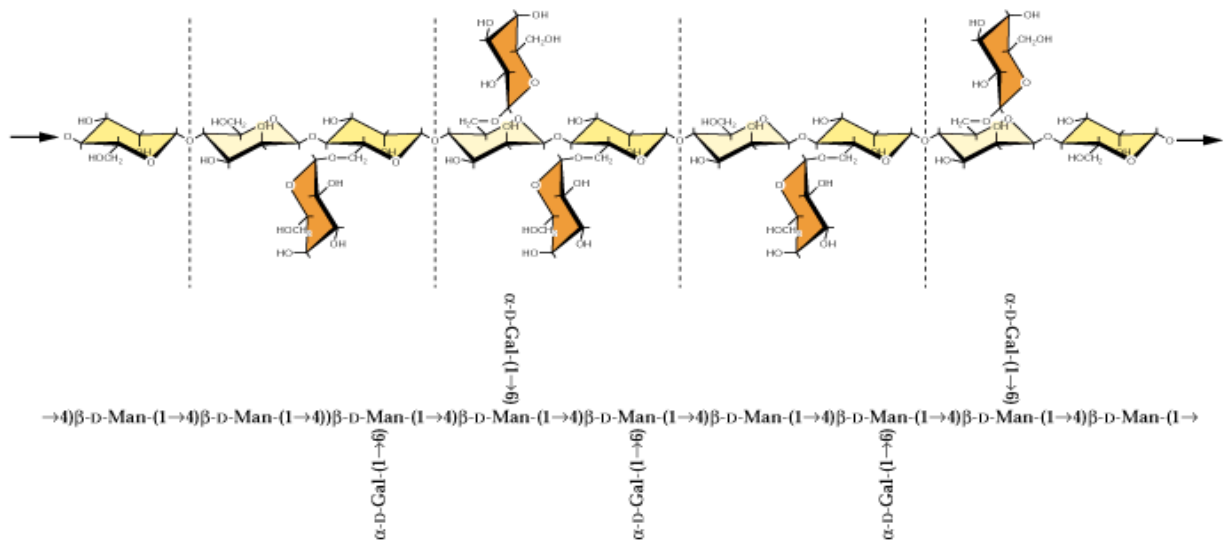


FIGURA 6 – ESTRUTURA DA GALACTOMANANA

FONTE: FONTE: CARPITA; McCANN (2000)

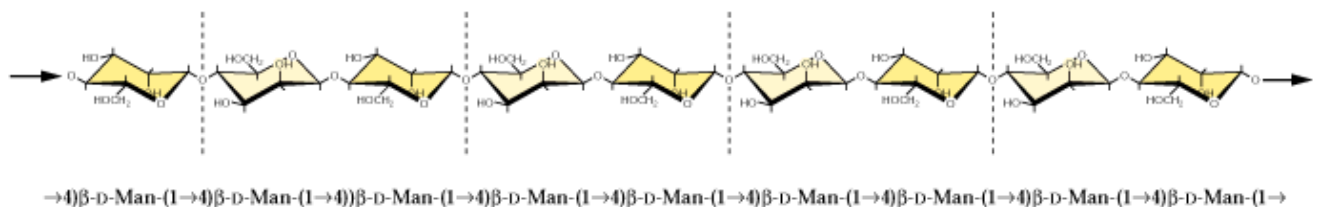


FIGURA 7 – ESTRUTURA DA MANANA PURA

FONTE: CARPITA; McCANN (2000)

As galactomananas de reserva ocorrem tipicamente em endospermas de sementes de Leguminosae, mas elas também estão presentes em sementes de espécies de outras famílias como *Compositae* de *Convolvulaceae* (DEA; MORRISON, 1975; GUZMÁN; HERNANDEZ, 1982).

A mobilização de galactomananas foi estudada em algumas espécies de leguminosas (REID; MEIER, 1972; McCLEARY; MATHESON, 1976; BUCKERIDGE

et al., 1995; BUCKERIDGE; DIETRICH, 1996), sendo detectada a presença de três enzimas hidrolíticas (α -galactosidase, endo- β -mananase e β -manosidase).

As cadeias de manana apresentam um comportamento semelhante a celulose, estando fortemente associadas por interações intermoleculares, formando cristais na parede celular, o que confere dureza e diminui sua solubilidade. As mananas são encontradas em endospermas de sementes de espécies de monocotiledôneas (por exemplo, as palmeiras, *Phoenix dactylifera* e *Phytelephas macrocarpa*) e dicotiledôneas (*Coffea arabica*) (WOLFROM; LAYER; PATIN, 1961; REID, 1985).

Mananas como compostos de reserva também foram caracterizadas em sementes de espécies como pimenta (WALTKINS *et al.*, 1985), aipo (JACOBSEN; PRESSMANN, 1979), tomate (GROOT *et al.*, 1988) e alface (HALMER; BEWLEY, 1979). Em todas as sementes onde a manana foi caracterizada como material de reserva foi observado a presença de atividade de endo- β -mananase. Estas espécies apresentam endospermas mais finos em relação às palmeiras e sua presença têm sido correlacionadas com a restrição mecânica para a protusão da radícula. Na maioria dos casos, a degradação da manana pode ser induzida por ácido giberélico, que promove a germinação e, em alguns casos é inibida por ácido abscísico (POTOMATI; BUCKERIDGE, 2002). Paralelamente, outros autores afirmam que as mananas presentes em endosperma de sementes de tomate (TOOROP *et al.*, 1996) e de café (TAKAKI; DIETRICH, 1980; GIORGINI; COMOLI, 1996) são completamente degradadas após a germinação, confirmando seu papel como composto de reserva.

2.4 O GÊNERO *Coffea*

O café é uma planta proveniente da África (Etiópia) que teve sua difusão a partir da Arábia (CHINNAPA; WAGNER, 1981). A planta de café pertence à família das Rubiaceas e ao gênero *Coffea* (LAGO, 2001). O cafeeiro é uma planta perene, dicotiledônea, de porte arbustivo ou arbóreo, de caule lenhoso, folhas persistentes e flores hermafroditas. Mais que 100 espécies do gênero são conhecidas mundialmente, dentre as quais, somente a *Coffea arabica* (café arábica) e *C.*

canephora Pierre (café robusta) são cultivadas no Brasil e respondem respectivamente por 75 e 25% da produção mundial (BERTHAUD; CHAVIER, 1988).

O fruto de café pode ser definido como uma drupa elipsóide, formado pelo exocarpo, mesocarpo e o endocarpo, contendo dois lóculos e duas sementes (DEDECA, 1957). O exocarpo ou casca, o revestimento externo do fruto, é representado por uma única camada de células, que corresponde à epiderme do ovário (DEDECA, 1957). O mesocarpo no estágio maduro é uma região formada por mais de 20 camadas de células parenquimatosas ricas em tanino, açúcares, gomas e mucilagens, responsáveis pela consistência suculenta do fruto maduro. O endocarpo, composto por cerca de cinco a sete camadas de células, envolve individualmente cada semente e é denominado de pergaminho após a secagem (Figura 8).

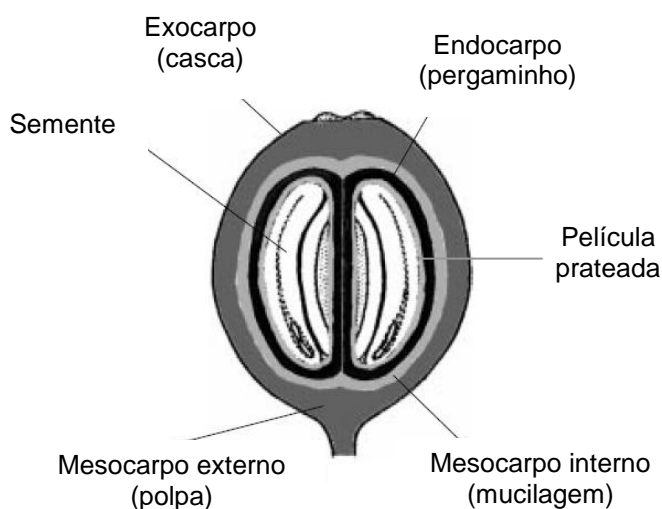


FIGURA 8 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO FRUTO DE CAFÉ

FONTE: AVALLONE *et al.* (2000)

NOTA: Corte longitudinal de um fruto de café.

As sementes de café têm formato plano-convexas, elípticas ou ovais, contendo um sulco longitudinal na face plana e são constituídas de embrião, endosperma e película prateada ou espermoderma (DEDECA, 1957; RENA; MAESTRI, 1986; ILLY; VIANI, 1995). A película prateada é uma fina camada que recobre individualmente cada semente e origina-se a partir de um único tegumento

do óvulo, a primina (ou perisperma) (MENDES, 1941). O endosperma, que constitui quase que todo o grão de café é de natureza triplóide (MENDES, 1941; MEDINA, 1964, 1965) e se divide em endosperma *cap*, o qual envolve a radícula, e endosperma lateral, ou seja, o restante do endosperma, no qual ficam armazenadas as substâncias de reserva da semente. O embrião é muito pequeno e está localizado na base da semente, na sua face convexa, sendo composto por um eixo hipocótilo/radícula e dois cotilédones cordiformes (DEDECA, 1957; HUXLEY, 1964; RENA; MAESTRI, 1986). O endosperma garante as reservas de energia necessárias nos processos de germinação e emergência da radícula, sendo composto principalmente de polissacarídeos (WOLFROM; LAYER; PATIN, 1961, SILVA; CORTELAZZO; DIETRICH, 1998).

O grão verde de café é composto por mais de 700 componentes, incluindo alcalóides como a cafeína, minerais, ácidos clorogênicos, ácidos alifáticos, lipídeos, carboidratos e aminoácidos (SOBOLÍK *et al.*, 2002).

2.4.1 Importância histórica e econômica do café

O café chegou ao Brasil em 1727 e foi trazido de Caiena, na Guiana Francesa, para Belém do Pará, pelo sargento Francisco de Melo Palheta. Ainda no mesmo século, a cultura foi levada para Bahia e depois ao sul do país. No Rio de Janeiro, o plantio de café teve início em 1773 e rapidamente expandiu-se pelo Vale do Paraíba chegando a São Paulo e depois a Minas Gerais, Espírito Santo e Paraná (NAGAMATO, 2001). Em 1850, o Brasil já era o maior produtor mundial, participando com 40% da produção total e alcançando a marca de 81% no início do século XX (NAGAMATO, 2001).

Atualmente, o Brasil mantém as posições de maior produtor e exportador de grãos de café do mundo, com cerca de 35% (46 milhões de sacas de 60 kg) da produção mundial e 31% (30 milhões de sacas de 60 kg) das exportações do produto (ABIC, 2009). O café arábica e o café robusta respondem, respectivamente, por 80% e 20% da produção no Brasil (PEREIRA *et al.*, 2000). A predominância do café arábica sobre o café robusta é devida essencialmente à preferência dos consumidores em relação ao seu aroma e sabor que são considerados de qualidade superior ao café robusta. Por outro lado, o café robusta apresenta outros

aspectos que o tornam um competidor viável em relação ao café arábica. Os custos de produção são mais baixos e a produtividade é maior que a do café arábica (MENDES *et al.*, 2001).

Entretanto, a posição brasileira de líder produtor isolado vem enfrentando desgastes nas últimas duas décadas, devido à ação das demais nações produtoras de café, em especial a Colômbia. A cafeicultura colombiana, através de uma forte política nacional de melhoria da qualidade do grão exportado, otimização da colheita e com intensa campanha publicitária no exterior, tem conseguido excelente desempenho nas exportações, aumentando significativamente sua parcela no total produzido mundialmente. O café colombiano é hoje sinônimo de alta qualidade, com aroma e sabor marcante, independente de sua origem interna.

No estado do Paraná, a cafeicultura teve sua maior expansão na década de 50 e início dos anos 60 quando a área cultivada chegou a quintuplicar, passando de quase 300 mil hectares em 1951 para 1,6 milhões de hectares em 1962. Os preços internacionais neste período estavam favoráveis devido à redução dos estoques mundiais, incentivando o aumento do plantio no estado, atingindo seu apogeu em 1962, quando colheu 21,3 milhões de sacas de 60 kg, correspondendo a 28% da safra mundial (NAGAMATO, 2001). Nos últimos dez anos, o Paraná colheu em torno de 2,0 milhões de sacas anuais, com uma participação de 7,5% da produção nacional, que no período foi de 27 milhões de sacas/ano, ficando classificado como o quarto produtor nacional de café arábica e robusta, e terceiro lugar, quando se considera apenas o café arábica (ABIC, 2009).

O cultivar IAPAR 59 de café arábica, tem sido recomendado para plantio no Estado do Paraná desde 1993, ocupando atualmente mais de 12 mil hectares da área total plantada no Estado (IAPAR, 2006). Esta variedade apresenta como principal característica a resistência a ferrugem do cafeeiro, eliminando a necessidade de aplicação de produtos químicos para o controle da doença. Isso propicia economia de investimento de 5 a 10 milhões de reais por ano e evita a contaminação do ambiente com 150 a 620 mil kg de fungicidas por ano (AYUB; GEBIELUCA, 2003).

2.4.2 Processamento do café

Todo o processamento do café inicia-se pela colheita dos frutos, a qual afeta diretamente a qualidade da sua bebida, e o seu sucesso depende da época de início, do período de duração e da maneira que é realizada. A colheita pode ser feita a dedo, por derrixa no solo ou no pano e deve ser realizada quando a maioria dos frutos se encontra no estágio maduro (cereja), estando a menor parte destes verdes ou secos. A cor da cereja varia da tonalidade marrom ao vermelho segundo a variedade e a exposição ao sol (FIGURA 9).

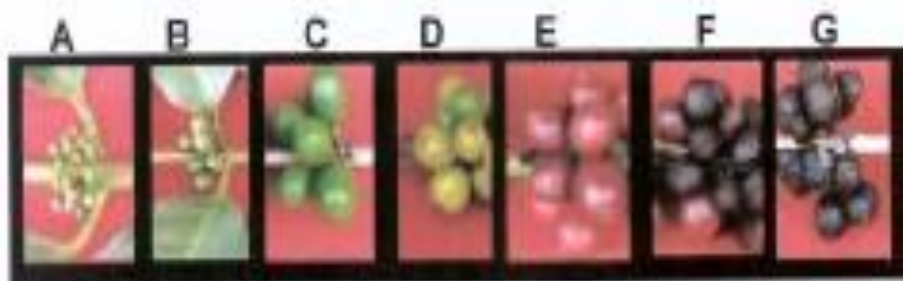


FIGURA 9 – FOTOGRAFIA DO FRUTO DE CAFÉ COLETADO EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

FONTE: SILVA (2006)

NOTA: (A) Chumbinho; (B) Chumbão; (C) Verde; (D) Verde Cana; (E) Cereja; (F) Passa e (G) Seco.

Comercialmente, os frutos vermelhos são mais apreciados, pois são considerados de melhor qualidade. A presença de grãos verdes e de grãos secos resultantes do processo de colheita altera significativamente a composição química dos grãos de café e conseqüentemente a qualidade da bebida (SCHOLZ *et al.*, 2001). A colheita deve ser concluída em um intervalo de 2 a 3 meses. Quanto mais prolongado esse período mais sujeitos os grãos ficam à incidência de chuvas na colheita e secagem, comprometendo a qualidade (CLARKE, 1985).

Após a colheita, segue-se a lavagem dos frutos para eliminar as impurezas tais como: folhas, galhos, terra e pedras. A separação das impurezas de maior tamanho é realizada em peneiras de pré-limpeza e a separação da terra e das pedras é feita por diferença de densidade em água (flotação) onde se realiza a separação dos cafés verde e cereja das demais impurezas restantes e do café bóia (frutos marrons secos ou parcialmente secos na árvore) (NAGAMOTO, 2001).

Depois de lavados, os frutos são encaminhados para a secagem, que pode ser realizada de formas distintas (natural, semi-úmido ou úmido), diferenciando-se pela retirada de partes externas aos grãos.

No Brasil, o método de secagem mais utilizado é o natural, no qual os frutos de café são secos integralmente (com todas as camadas) e, posteriormente, descascados mecanicamente, dando origem ao café natural. Este processo é responsável por aproximadamente 80% do processamento do café arábica e praticamente todo o processamento do café robusta (ABIC, 2009).

O café tratado pelo método úmido, também chamado de café lavado ou despulpado, é característico da América Central, Colômbia e Quênia (BRAND, 1999). Nesses, depois de colhidos, os frutos são mecanicamente descascados e submetidos a um processo de fermentação, para eliminação da mucilagem, a qual constitui um obstáculo para secagem. Normalmente, o processo de fermentação consiste na imersão das sementes em água por um período mínimo de 24 horas. O tempo de fermentação do café depende de uma série de fatores, incluindo a quantidade de café a fermentar, temperatura da água e umidade. Durante a fermentação, os microrganismos quantitativamente mais importantes são as bactérias lácticas (AVALLONE *et al.*, 1999). O período de fermentação precisa ser controlado para evitar fermentação excessiva, fato que pode diminuir a qualidade dos grãos e, conseqüentemente, da bebida (BARBOZA; AMAYA, 1996; AVALLONE *et al.*, 2002). Depois da fermentação, a mudança da textura é observada e a mucilagem remanescente aderida ao pergaminho é removida manual ou mecanicamente, ou por lavagem do café com água corrente durante 6-16 h (AVALLONE *et al.*, 2000; MAZZAFERA; PURCINO, 2004; ARYA; RAO, 2007).

A terceira forma de processar o café é através do método semi-úmido, na qual os frutos são descascados e parcialmente despulpados mecanicamente antes da secagem, obtendo-se o café descascado. Neste café, parte da mucilagem permanece envolvendo o grão.

A secagem dos grãos de café pode ser realizada de modo natural em terreiros, ou artificial com o auxílio de secadores mecânicos. Em todos os processos, a secagem completa-se quando os frutos ou grãos atingirem 11-12% de umidade, sendo mais rápida para o café despulpado que o natural (BRAND, 1999). A secagem no terreiro é ainda a predominante no Brasil. A secagem em secadores é realizada a temperatura de 45 °C e os grãos imaturos se transformam em grãos

preto-verdes, piorando aspecto, tipo e a qualidade da bebida do café (VILELA, 1997). Posteriormente à secagem, é realizado o descasque mecânico para eliminação das partes externas aos grãos (pergaminho/casca) e após seleção o produto final (café natural, descascado ou despulpado) é armazenado na forma de grãos verdes (crus) beneficiados (BRAND, 1999).

Para a produção da bebida, o último processo a que os grãos são submetidos é a torrefação, considerada mais uma das etapas mais importantes no processamento do café (MASSINI *et al.*, 1990; FRANÇA; OLIVEIRA; VITORINO, 2001). Durante o processo de torrefação, o café é submetido ao aquecimento gradual de um torrador (basicamente um grande cilindro rotatório quente) e a água residual dentro de cada célula é convertida em vapor que desencadeia uma série de reações químicas complicadas entre açúcares, proteínas, lipídeos e minerais contidos no seu interior. Portanto, a torrefação propicia sabor e aroma e sem a sua existência nenhum dos elementos do café poderia ser apreciado no produto final.

O aroma do café verde contém cerca de 250 espécies moleculares voláteis diferentes, enquanto o do torrado possui mais de 1000 (DE MARIA; MOREIRA, TRUGO, 1998). O Quadro 1 apresenta os principais constituintes do grão verde e sua contribuição na formação das características sensoriais da bebida de café.

COMPONENTES	CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS	REFERÊNCIAS
Proteínas e aminoácidos	Aromas	GUYOT; CHRISTOPHE; GUEULE, 1997; MONTAVÓN; MAURON; DURUZ, 2003
Sacarose	Aromas	GUYOT <i>et al.</i> , 1996, AVELINO <i>et al.</i> , 2002
Trigonelina	Aromas, gosto amargo	VIANI; HORMAN, 1974; DECAZY <i>et al.</i> , 2003
Compostos fenólicos	Aromas, sabor adstringente	GINZ <i>et al.</i> , 2000, MAZZAFERA, 1999, FARAH <i>et al.</i> , 2006
Ácidos clorogênicos e cafeína	Aromas, gosto amargo e ácido	GUYOT <i>et al.</i> , 1997; FRANK; ZEHENTBAUER; HOFMANN, 2006; GINZ; ENGELHARDT, 2001
Polissacarídeos	Aromas, corpo e espuma	REDGWELL <i>et al.</i> , 2002a, NUNES <i>et al.</i> , 1997; NUNES; COIMBRA, 1998
Lipídeos	Aromas, corpo	FERIA-MORALES, 1991; LARAESTRADA, 2005
Ácidos orgânicos de cadeia curta	Gosto ácido	GINZ <i>et al.</i> , 2000; NEBESNY; BUDRYN, 2006

QUADRO 1 - COMPOSTOS RESPONSÁVEIS PELA FORMAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DA BEBIDA DO CAFÉ

FONTE: SCHOLZ (2008)

2.4.3 Fatores que influenciam na qualidade da bebida de café

A qualidade da bebida de café está na dependência de vários fatores, destacando-se entre eles a composição química do grão. Nos últimos anos, diferentes estudos têm sido conduzidos para estabelecer a relação entre a composição química e a qualidade do café, procurando substâncias ou precursores que podem ser responsáveis pela aceitação ou rejeição da bebida (CLIFFORD, 1985; ROGERS *et al.*, 1999a, b; SHIMIZU; MAZZAFERA, 2000; SELMAR *et al.*, 2002; MONTAVON *et al.*, 2003; MONTAVON; MAURON; DURUZ, 2003).

As diferenças quanto à qualidade da bebida e a composição química dos grãos têm sido mostradas geralmente entre as espécies de café arábica e robusta. O grão verde de café arábica possui 49,8% de carboidratos, sendo 4% de sacarose (ANDERSON *et al.*, 2003), além de 6% de ácidos clorogênicos, 14% de óleos e 1% de cafeína, enquanto que o grão verde de café robusta contém 54,4% de carboidratos, sendo 8% de sacarose (ANDERSON *et al.*, 2003), e 10% de ácidos clorogênicos, 11% de óleos e 2% de cafeína (FRANÇA; OLIVEIRA; VITORINA, 2001; SCHOLZ *et al.*, 2001). Estudos realizados por Pádua *et al.* (2001) mostraram também a existência de diferenças significativas nas medidas de polifenóis, pH, acidez titulável, fibra bruta e resíduo mineral fixo entre as espécies de café arábica e café robusta na forma de grãos verdes.

A composição do solo, as práticas culturais, as técnicas de colheita e de estocagem, podem determinar as mais variadas composições químicas do grão verde de café e assim definir a qualidade do produto final (ARYA; RAO, 2007). A altitude e o sombreamento também afetam significativamente os componentes do aroma, podendo retardar a maturação dos grãos e assim favorecer um aumento do índice de acidez e dos açúcares presentes nos grãos de café (SCHOLZ *et al.*, 2001).

Com relação às condições de processamento pós-colheita, é bem conhecido que o método utilizado (natural, semi-úmido ou úmido) é um dos fatores que determina a qualidade do café verde beneficiado correspondente, e estabelece as diferenças nas características finais de sua bebida. Por exemplo, o café produzido pelo método úmido tem menos corpo, maior acidez e é mais aromático que o produzido pelo método natural, por isso é considerado de melhor qualidade

(CLARKE, 1985). A explicação inicial para esta diferença foi baseada no fato que, em geral, somente frutos maduros são usados no processamento úmido, enquanto o processamento natural inclui frutos de vários estádios de maturação. Contudo, segundo Selmar *et al.* (2002, 2005a), as variações na qualidade da bebida relacionadas ao processamento são devido a diferenças específicas nas reações bioquímicas, decorrentes de um metabolismo germinativo, que ocorre nos grãos de café durante o processamento, levando ao acúmulo de diferentes produtos químicos.

2.4.3.1 Polissacarídeos do café

O presente trabalho destaca, entre os componentes do café, os polissacarídeos, que são os principais constituintes dos grãos verdes (~50% da massa da matéria seca) (WOLFROM; PLUNKETT; LAYER, 1960; CLIFFORD, 1985; OOSTERVELD *et al.*, 2003).

Os grãos verdes das espécies de café arábica e café robusta apresentam como polissacarídeos predominantes (galacto)mananas (50%), arabinogalactanas (30%) e celulose (15%), além de pectinas e xiloglucanas em menores quantidades (5%) (WOLFROM; PLUNKETT; LAYER, 1960, 1961; BRADBURY; HALLIDAY, 1987; BRADBURY, 2001; FISCHER *et al.*, 2001; REDGWELL *et al.*, 2002a; OOSTERVELD *et al.*, 2003).

Nos últimos anos, avanços no conhecimento da química dos polissacarídeos dos grãos de café tem se concentrado, principalmente, na caracterização estrutural das (galacto)mananas e arabinogalactanas (NUNES, COIMBRA, 2002; OOSTERVELD *et al.*, 2003; OOSTERVELD *et al.*, 2004).

A (galacto)manana presente em grãos verdes de café foi descrita pela primeira vez por Wolfrom, Layer e Patin (1961) como um polímero de unidades de manose ligadas $\beta(1\rightarrow4)$ substituído por uma unidade de galactose ligado em C-6 na cadeia lateral a cada 47 unidades de manose. De acordo com estes autores, esta manana representa 5% da massa da matéria seca, compondo aproximadamente 20-25% do total de manana do grão verde. Ainda existem dúvidas quanto à frequência dos pontos de ramificação na cadeia da manana nos polímeros

encontrados nos grãos verdes de café. Alguns trabalhos atribuem razões de Gal/Man entre 1:130 para o café robusta (BRADBURY; HALLIDAY, 1990); e 1:7 e 1:40 para o café arábica (REDGWELL *et al.*, 2003), embora, devido a dificuldade de extração, nenhum desses estudos representa o total de galactomananas da parede celular. Mais recentemente, além das unidades de galactose (10 mol%), foram também identificadas unidades de arabinose (2 mol%) nas cadeias laterais e glucose (6 mol%) na cadeia principal das (galacto)mananas dos grãos verdes de café arábica (NUNES; DOMINGUES; COIMBRA, 2005). Com base nestes resultados, estes autores classificaram as moléculas de (galacto)mananas do café como arabinogalactoglucomananas.

As arabinogalactanas presentes em grãos verdes de café apresentam ligações características de arabinogalactanas do tipo II, um polímero que geralmente está covalentemente ligado a proteínas (AGPs) (BRADBURY; HALLIDAY, 1990; FISCHER *et al.*, 1999; FISCHER *et al.*, 2001). Redgwell *et al.* (2002a) relataram que as AGPs encontradas no café consistem de uma mistura extremamente heterogênea de polímeros que contêm entre 6-10% de ácido glucurônico. A heterogeneidade destes polímeros está relacionada ao seu grau de ramificação e a composição dos monossacarídeos de suas cadeias laterais.

Em relação às espécies, segundo Fischer *et al.* (2001), o café robusta contém quantidades de uma arabinogalactana altamente solúvel com mais pontos de ramificação e cadeias laterais mais extensas do que aquelas do café arábica (FISCHER *et al.*, 2001). Além disso, em ambas as espécies, as arabinogalactanas foram eluídas antes do que as galactomananas na cromatografia de gel-permeação, indicando que apresentavam maior massa molar.

De um modo geral, a quantidade, a composição e a solubilidade dos carboidratos presentes nos grãos de café são dependentes também do grau de torrefação (OOSTEVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003b). A hidrólise dos polissacarídeos durante a torrefação resulta na liberação de oligossacarídeos e monossacarídeos, que por sua vez são convertidos até seus produtos de degradação ou de pirólise, que contribuem para a formação dos compostos de cor, aroma e sabor (TRUGO, 1985; VIANI, 1993; DE MARIA *et al.*, 1994; NUNES *et al.*, 1997; STEINHAUSER; OESTREICH-JANSEN; BALTES, 1999; OOSTEVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003b). Grande parte dessas reações está associada às reações de Maillard, a degradação de Strecker com a formação de moléculas de

baixa massa molecular e a caramelização dos açúcares. Devido à formação destes produtos, análises de polímeros de carboidratos oriundos do café torrado envolvem consideráveis dificuldades no seu isolamento e caracterização. Portanto, apenas um número limitado de investigações foram encontradas em relação aos polissacarídeos e seus derivados no café torrado (REDGWELL *et al.*, 2002b,c; OOSTEVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003b), em extratos de café (NUNES *et al.*, 1997; NAVARINI *et al.*, 1999; OOSTEVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003a) e no café instantâneo (SOBOLIK *et al.*, 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE *Coffea arabica*

Foram utilizadas amostras de *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59, provenientes da área experimental do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), localizado em Londrina, no Estado do Paraná, Brasil. As etapas de colheita, processamento e torrefação das amostras foram desenvolvidas no período de março a maio de 2006 sob a responsabilidade da mesma Instituição.

3.1.1 Processamento pós-colheita de *Coffea arabica*

Amostras idênticas de *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59 no estágio maduro (cereja) foram submetidas, em paralelo, a processamento pós-colheita pelos métodos natural, semi-úmido e úmido, gerando os cafés natural, descascado e despulpado, respectivamente. Para tal, 500 kg de frutos frescos de *Coffea arabica* L. cultivar IAPAR 59 foram colhidos por derrça, lavados, separados por estágio de maturação e processados de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 10.

Durante o passo de lavagem (depois da colheita), os frutos secos na planta flutuaram no tanque de lavagem. Estes frutos, denominados café bóia, foram selecionados e excluídos dos futuros passos de processamento pós-colheita. A porção formada pelos frutos verde e maduro foi dividida em três partes. A primeira parte desse café, após a separação manual dos frutos verdes, foi levada diretamente para secar em terreiro suspenso e resultou no café cereja natural (CN). As outras duas partes foram conduzidas para o descascador (Pinhalense) onde apenas o fruto maduro foi descascado. A metade do café descascado foi levada diretamente para secar em terreiro convencional e correspondeu ao café cereja descascado (CD). A outra metade foi colocada em um tanque plástico e coberta com água para fermentar. Após 36 h, quando a mucilagem foi totalmente degradada (pH da água do tanque de fermentação de 4,3), o café foi intensamente lavado para

a remoção da mucilagem e espalhado para secar no terreiro suspenso. Este café foi denominado cereja despulpado (CP). Independente do método de processamento, os grãos foram secos ao sol até atingirem 12% de umidade.

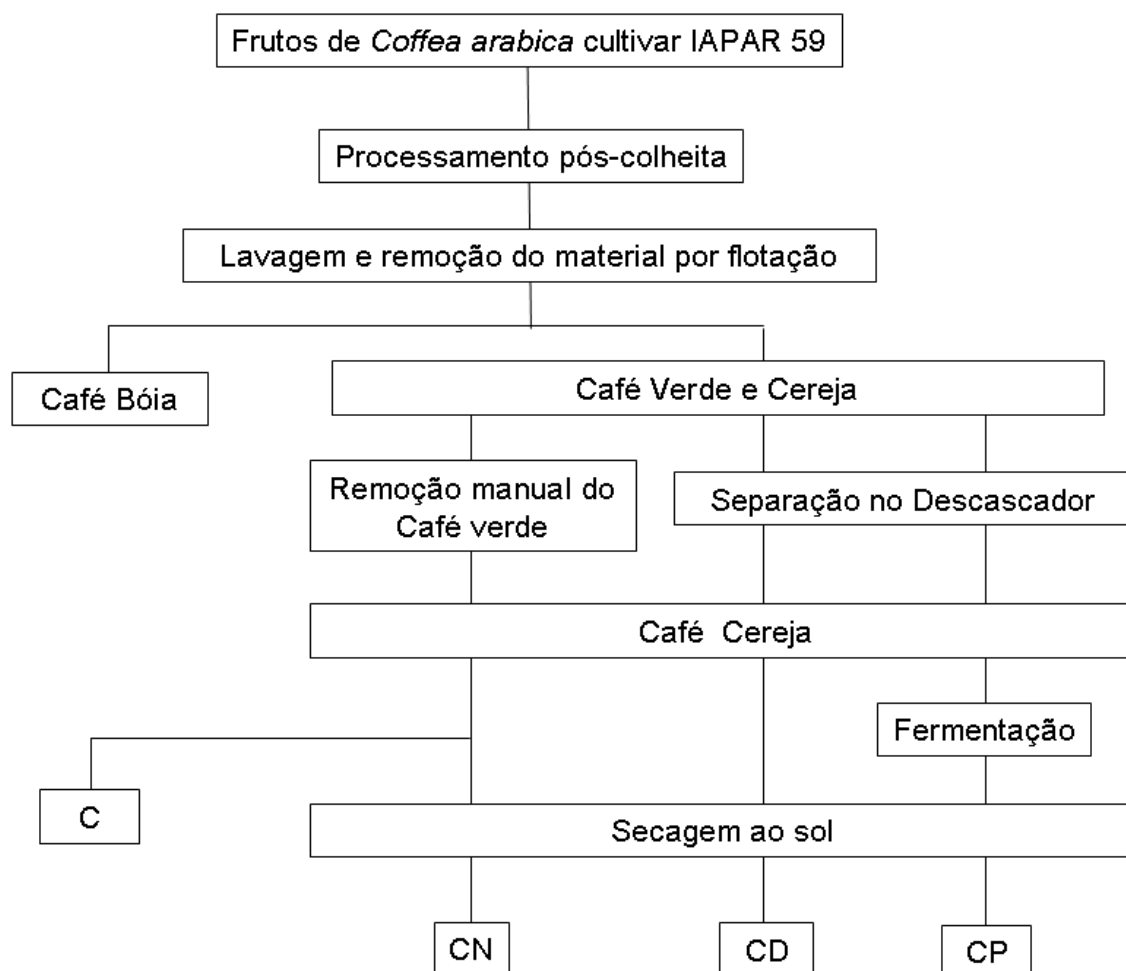


FIGURA 10. PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA DAS AMOSTRAS DE *Coffea arabica* CULTIVAR IAPAR 59

FONTE: A autora (2010)

NOTA: C: controle (café não processado); CN: café natural; CD: café descascado; CP: café despulpado.

Após o processamento, uma parte do material processado foi congelada em freezer horizontal (-18 °C) e utilizada para o estudo das frações polissacarídicas dos grãos verdes (crus).

Uma amostra de frutos no estágio cereja não processados, identificado com a letra C (controle), foi mantida congelada e utilizada para comparação nas análises de composição química antes e depois do processamento pós-colheita.

Uma segunda parte do café processado, após a remoção mecânica da casca e/ou do pergaminho, foi torrada e utilizada no preparo e análise da bebida de café.

3.1.2 Controle da fermentação

Durante a fermentação, a cada 12 horas foram coletadas amostras de água dos tanques de fermentação para controle do pH (AVALONE *et al.*, 1999). O pH foi determinado em 50 mL de água do tanque de fermentação em pHmetro digital após calibração com padrão de pH 4 e 7. O processo de fermentação foi finalizado por lavagem do café após a degradação total da mucilagem (pH 4,3; 36 horas).

3.1.3 Controle da secagem

Durante a secagem, todos os dias o café foi revolvido a cada 30 minutos, entre as 10 horas e as 15 horas e, no final deste tempo de movimentação, foram cobertos com lonas plásticas. Este procedimento repetiu-se todos os dias do período de secagem e a cada dois dias foram feitas amostragens para o controle da umidade.

Para determinar a umidade, os grãos de café foram secos em estufa a 60 ° C com circulação forçada de ar por 36 horas ou até massa constante (AOAC, 1990). A secagem foi concluída quando o nível de umidade atingiu 12%. No final da secagem foram obtidos cerca de 50 kg de café seco, em cada caso.

3.2 Extração dos polissacarídeos presentes nos grãos verdes de *Coffea arabica*

O endosperma (grão) dos frutos de *Coffea arabica* não processados (controle, identificado com a letra C) ou processados pelos três diferentes métodos (CN, CD e CP) foi isolado manualmente dos tecidos externos e imediatamente tratados com uma mistura etanol-água (4:1 v/v) sob refluxo para inativação de enzimas endógenas. Posteriormente, as amostras foram deslipidificadas, em aparelho Soxhlet, com uma mistura de solvente tolueno-etanol (2:1, v/v), por 72 horas a 40 °C. A fase lipídica foi descartada e os grãos foram secos em estufa a vácuo à temperatura ambiente. Os grãos deslipidificados e secos foram moídos em um moedor de café marca Cadence (Modelo MDR301), submetidos a uma segunda etapa de deslipidificação e secos em estufa à vácuo à temperatura ambiente.

A extração dos polissacarídeos foi realizada por meio de extrações seqüenciais aquosas (4 °C, 25 °C e 60 °C) e alcalinas (KOH 1 M e NaOH 1 M na presença de NaBH₄) por 3 horas a 25 °C. Após cada etapa de extração aquosa, os extratos foram separados dos resíduos em centrífuga marca HITACHI (Modelo HIMAC CR 21E) a 15.000 rpm, concentrados em evaporador rotatório e os polissacarídeos precipitados com 2 volumes de etanol absoluto a 4 °C. Após nova centrifugação, os precipitados foram lavados 3 vezes com etanol absoluto e secos em estufa a vácuo à temperatura ambiente.

Os extratos alcalinos foram neutralizados com ácido acético a 50% até pH 5,0. Neste ponto, verificou-se a presença de um precipitado que, após centrifugação (15.000 rpm), foi lavado 3 vezes com etanol absoluto e seco sob pressão reduzida à temperatura ambiente, originando a fração hemicelulose A. O sobrenadante, após diálise aberta em membrana de celulose Sigma, limite de exclusão 12000 g.mol⁻¹ por 72 horas, foi concentrado em evaporador rotatório e os polissacarídeos foram precipitados com 2 volumes de etanol absoluto a 4 °C, centrifugados (15.000 rpm) e lavados 3 vezes com etanol absoluto e secos em estufa a vácuo à temperatura ambiente, gerando a fração hemicelulose B.

O fluxograma das extrações sequenciais para obtenção dos polissacarídeos está apresentado na Figura 11. As frações obtidas foram identificadas por meio de siglas utilizando as iniciais ou letras que representassem o método de processamento pós-colheita e as condições de extração empregadas. Os tipos de

processamento (natural, semi-úmido e úmido) e a amostra controle (não processado) foram identificados pelas letras **CN**, **CD**, **CP** e **C**, respectivamente. As extrações aquosas foram identificadas pela letra **A** seguida de um número que indica a temperatura de extração. Para as extrações alcalinas, as siglas utilizadas indicam, além do método de processamento pós-colheita, o álcali empregado (**K** para **KOH** ou **Na** para **NaOH**) seguida do tipo de hemicelulose, **HA** (**h**emicelulose **A**) ou **HB** (**h**emicelulose **B**). As letras **RF** foram utilizadas na identificação do resíduo final insolúvel. Desta forma, por exemplo, a fração obtida do café natural por meio de extração aquosa a 4°C, é identificada como CNA4.

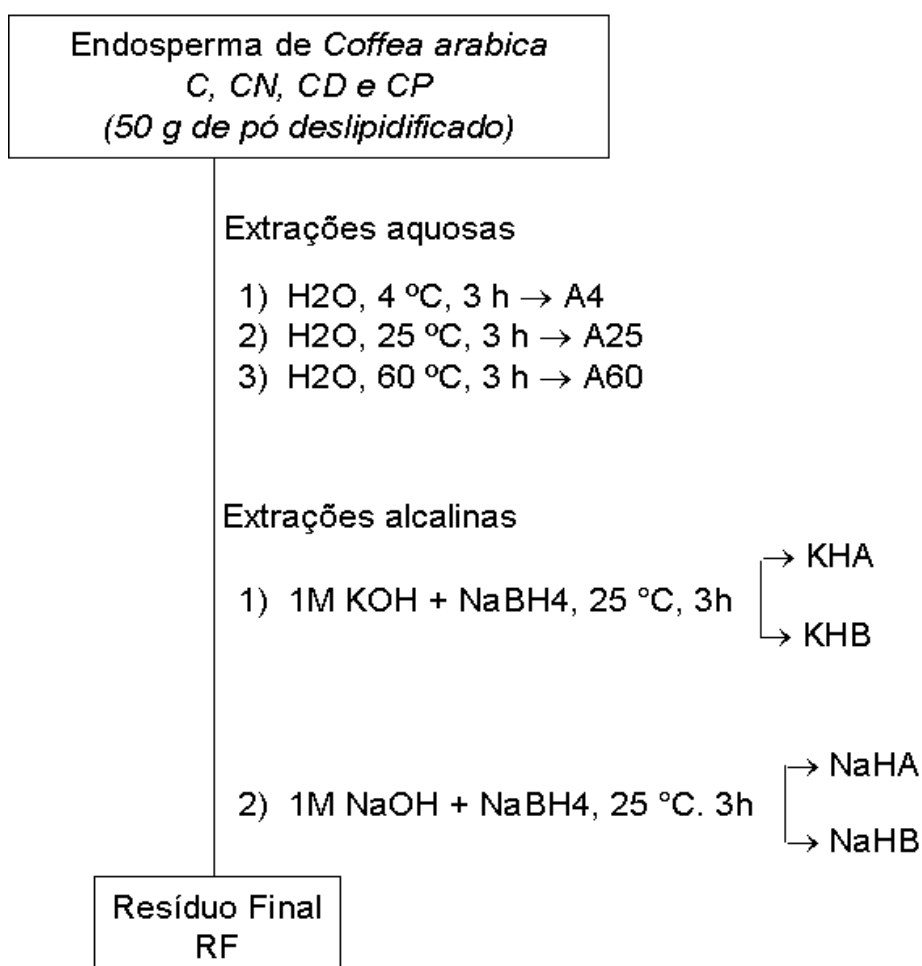


FIGURA 11 - FLUXOGRAMA DAS EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS PARA OBTENÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DOS GRÃOS VERDES DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

3.3 PREPARO DAS BEBIDAS DE *Coffea arabica* PARA ANÁLISE DAS FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS

3.3.1 Torrefação

Os grãos de café beneficiado (CN, CD e CP) foram padronizados em peneira 16 e separados dos possíveis defeitos existentes (grãos pretos, brocados, ardidos). Cerca de 500 g de grãos de café provenientes de cada método de processamento foi torrado em um torrador marca Rod Bel para pequenas amostras. A temperatura de torra variou entre 200-240 °C, durante o tempo de 8-10 minutos dependendo da umidade de cada amostra. O ponto final de torra foi controlado pela perda de peso dos grãos verdes e pela determinação de luminosidade (cor) do café torrado e moído (SCHENKER *et al.*, 2000; DECAZY *et al.*, 2003).

3.3.2 Determinação de luminosidade do café torrado

A análise de cor do café torrado foi realizada em colorímetro portátil marca Minolta (Modelo 410), onde o café torrado e moído foi colocado em um recipiente escuro, com um diâmetro de cerca de 4 centímetros, a superfície foi levemente pressionada e foram realizadas três leituras em cada amostra (SCHENKER *et al.*, 2000).

3.3.3 Preparo da bebida e isolamento dos polissacarídeos solúveis

O preparo das bebidas de café a 5% de concentração foi realizado por filtragem (DECAZY *et al.*, 2003). Para tal, os grãos de *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59 torrados foram moídos em um moedor de café marca Cadence (Modelo MDR301) e peneirados (28 mesh). Em seguida, 10 g de pó de café peneirado foi

colocado em um filtro de papel Melitta® nº 102 e filtrado com 200 mL de água destilada a aproximadamente 100 °C. A eliminação dos resíduos de pó de café presente nas bebidas foi realizada por centrifugação em centrífuga marca HITACHI (Modelo HIMAC CR 21E) por 2 minutos a 15.000 rpm. Após esta etapa, os polissacarídeos solúveis no sobrenadante foram precipitados com 2 volumes de etanol absoluto a 4 °C. Os precipitados foram lavados 3 vezes com etanol absoluto e secos em estufa a vácuo à temperatura ambiente.

3.4 ANÁLISES DAS FRAÇÕES POLISSACARÍDICAS OBTIDAS A PARTIR DOS GRÃOS VERDES E DAS BEBIDAS DE *Coffea arabica*

3.4.1 Rendimento, teores de carboidrato total, ácidos urônicos e acetil

O rendimento percentual das frações polissacarídicas foi calculado em relação aos grãos verdes de café deslipidificados ou a quantidade de pó de café usado no preparo da bebida.

O teor de carboidrato total foi determinado pelo método fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956), utilizando-se como padrão solução de manose nas concentrações de 20 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

O teor de proteínas foi determinado pelo método de Hartree (1972). O padrão utilizado foi a soroalbumina bovina (BSA) nas concentrações de 20-100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e leitura em 660 nm.

A dosagem de ácido urônico foi realizada pelo método de Filisetti-Cozzi e Carpita (1991), tendo como solução padrão ácido galacturônico nas concentrações de 20 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e leitura em 525 nm.

O conteúdo de acetil das frações polissacarídeos obtidas a partir das bebidas foi determinado pelo método colorimétrico descrito por Hestrin (1949), utilizando tetraacetato eritritol como solução padrão nas concentrações de 0,05 a 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e leitura em 540 nm.

Todas as análises foram realizadas em quadruplicata e os resultados foram expressos como a média e o desvio padrão obtido a partir de três experimentos independentes.

3.4.2 Composição Monossacarídica

Todas as frações obtidas foram analisadas, em triplicata, quanto à composição monossacarídica após hidrólise ácida total em tubos hermeticamente fechados. Para tal, utilizou-se ácido sulfúrico a 72%, em banho de gelo, sob agitação em vórtex durante 3 horas, seguido de diluição a 8%, a 100 °C, durante 15 horas. Após a hidrólise, o ácido sulfúrico foi neutralizado com BaCO₃ e o sal resultante removido por filtração (SAEMAN *et al.*, 1954). Em seguida, os monossacarídeos foram reduzidos em temperatura ambiente pela adição de cerca de 10 mg de boroidreto de sódio (NaBH₄) (WOLFROM E THOMPSON, 1963b). A remoção dos ions Na⁺ foi realizada através da adição de resina catiônica DOWEX 50W-X 8-H⁺ (marca SIGMA-ALDRICH). As soluções foram filtradas em algodão e o solvente evaporado à vácuo. Lavagens sucessivas (3 vezes) com 3 mL de metanol foram feitas para remoção do ácido bórico remanescente por co-destilação, na forma de borato de trimetila.

Os alditóis resultantes foram acetilados pela adição de 0,5 mL de anidrido acético e 0,5 mL de piridina, em tubos vedados, permanecendo durante cerca de 10 horas à temperatura ambiente (WOLFROM E THOMPSON, 1963a). A reação foi interrompida adicionando-se água gelada, sendo a seguir procedida a extração dos acetato de alditóis, através da adição de clorofórmio e posterior eliminação de piridina em tratamentos sucessivos com sulfato de cobre (CuSO₄) 5% e água destilada. Após a evaporação do clorofórmio, os acetatos de alditóis formados foram submetidos a Cromatografia Líquida Gasosa (GLC) em Cromatógrafo Packard Modelo 5890 A Série II, com detector de ionização de chama (FID injetor à temperatura de 250 °C) coluna capilar DB-210 (0,25 mm d.i. X 30 m) e nitrogênio como gás de arraste em um fluxo de 2,0 mL.min⁻¹ para análise da composição monossacarídica.

3.4.3 Cromatografia de exclusão estérica de alta pressão

As frações polissacarídicas obtidas foram submetidas a análises por cromatografia de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC). Soluções contendo 3 mg.mL⁻¹ das frações solubilizadas em nitrito de sódio (NaNO₂) 0,1 mol.L⁻¹ contendo azida de sódio (NaN₃) 200 ppm, foram filtradas em membrana de acetato de celulose (Millipore) com porosidade de 0,2 μm e injetadas em cromatógrafo de exclusão estérica de alta pressão Waters, equipado com um detector de índice de refração (RI) Waters modelo 2410, um detector de espalhamento de luz a laser em multiângulos (MALLS) Wyatt Technology modelo Dawn DSP com 18 canais acoplados em série e um detector de luz ultravioleta (UV - 280 nm). Foram utilizadas 4 colunas de gel permeação Waters, com limites de exclusão de 7.10⁶, 4.10⁵, 8.10⁴ e 5.10³, em série. As análises foram realizadas em temperatura ambiente utilizando-se como eluente uma solução de NaNO₂ 0,1 mol.L⁻¹ contendo NaN₃ 200 ppm, com fluxo de 0,6 mL.min⁻¹, monitorado através de bomba peristáltica Waters 515.

3.5 Detecção de arabinogalactana-proteínas usando um ensaio de difusão em gel de agarose com o reagente β-glucosil Yariv

Frações polissacarídicas obtidas a partir das bebidas de café foram solubilizadas em uma solução de NaCl a 0,25 M (0,5 mg.mL⁻¹) para difusão radial em gel de agarose Tipo C a 1% (Calbiochem, La Jolla, CA, USA) contendo 0,02 mg.mL⁻¹ do reagente β-glucosyl Yariv por 24 h em temperatura ambiente (VAN HOLST; CLARKE, 1985). O reagente β-glucosyl Yariv foi sintetizado como descrito por Yariv, Rapport e Graf (1962). Goma arábica (SIGMA-ALDRICH) foi usada como padrão.

3.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS BEBIDAS DE *Coffea arabica*

3.6.1 Viscosidade das bebidas de café

O comportamento de fluxo das bebidas de café a 5% de concentração foi estudado através de rampa de fluxo contínuo no modo CS (*controlled stress*) a 60 °C em reômetro HAAKE RS75 Rheostress acoplado a um banho termostatizado HAAKE K15 e termocirculador de água DC5B3. Um sensor cilíndrico-coaxial (DG41 AL) do tipo Couette foi utilizado e programado para aumentar a taxa de cisalhamento de 0,1 para 1,0 Pa em 300 s. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados foram expressos como a média e o desvio padrão obtido a partir de três experimentos independentes.

Para a análise e comparação dos resultados, as curvas de viscosidade ($\eta \times \gamma$) foram reunidas em um único gráfico através do programa Excel Viewer 2003 (Microsoft) e os valores médios de viscosidade foram calculados por meio do coeficiente angular e submetidos a tratamento estatístico.

3.6.2 Tensão superficial das bebidas de café

A tensão superficial foi medida nas bebidas de café preparadas a 5% de concentração usando o método da gota pendente no tensiometro Dataphysics Modelo OCA a 25 °C. A tensão superficial foi calculada pela análise do perfil da gota de acordo com a equação de Laplace (BOYCE; DIPRIMA, 1990) utilizando o software SCA 20. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados foram expressos como a média e o desvio padrão obtido a partir de três experimentos independentes.

3.7 Atividade antioxidante das bebidas de café

A atividade seqüestrante de radicais DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Sigma-Aldrich®) da bebida de café foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Hatano *et al.* (1997), com modificações. Cada amostra foi diluída em etanol absoluto a 50, 75, 100, 125 e 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em 4 mL de amostra adicionou-se 1 mL de solução de DPPH (Sigma) igualmente diluído em etanol, resultando em uma concentração final de 0,5 mM. A mistura foi acondicionada em tubo de ensaio ao abrigo da luz e agitada vigorosamente. Decorridos 30 min, fez-se a leitura a 517 nm em espectrômetro utilizando-se etanol absoluto como branco. A baixa absorbância indica maior atividade seqüestrante de radicais DPPH. Os testes foram realizados em triplicata e a atividade seqüestrante de radicais DPPH foi expressa em porcentagem segundo a Equação descrita abaixo:

$$\text{Atividade sequestrante (\%)} = [(A_{517} \text{ do controle} - A_{517} \text{ da amostra}) / A_{517} \text{ do controle}] \times 100$$

O valor da EC_{50} ($\mu\text{g extrato/mL}$) é a concentração efetiva na qual os radicais DPPH foram seqüestrados em 50%. BHA (Butylated hydroxyanisole) (Sigma-Aldrich®) 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foi utilizado como padrão.

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Resultados de todas as análises foram expressos como a média dos valores e seu respectivo desvio padrão. Os valores médios foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando o teste F foi considerado significativo, as médias foram comparadas usando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para tal, foi utilizada a função lme (linear mixed effects) do modelo nlme (nonlinear mixed effects) (PINHEIRO *et al.*, 2009) do programa R (R Development Core Team, 2009).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Controle do processamento pós-colheita

O controle da fermentação do café despulpado foi realizado por meio do monitoramento da degradação da mucilagem e da determinação do pH da água do tanque de fermentação. A fermentação ocorreu regularmente, estando a mucilagem totalmente degradada após 36 h (pH da água do tanque de fermentação de 4,3). Resultados semelhantes foram encontrados por Avallone *et al.* (1999), ao avaliar a fermentação do café em quantidades e condições semelhantes ao deste estudo. As condições de fermentação favorecem a formação e obtenção de café de boa qualidade porque o pH inibe a multiplicação de microrganismos indesejáveis. Acredita-se que os ácidos láctico, acético e propiônico produzidos neste processo evitem o crescimento de microrganismos que ocorrem regularmente durante o processo de fermentação.

Os grãos de café processados pelo método natural apresentaram 51,1% de umidade no início do processo de secagem, enquanto que os grãos processados pelos métodos semi-úmido e úmido, apresentaram cerca 60% de umidade inicial. Ao final do processo de secagem a quantidade de água presente foi de ~12% em todos os casos. Observou-se que os cafés descascados e despulpados apresentaram maior velocidade de secagem, requerendo um período menor (15 dias) que o café natural (30 dias) para atingir a umidade desejada.

4.2 Rendimento percentual, teores de carboidrato total e proteínas das frações obtidas a partir dos grãos verdes de *Coffea arabica* submetidos a diferentes métodos de processamento pós-colheita

A solubilização parcial dos componentes polissacarídicos presente nos grãos verdes de *Coffea arabica* cultivar IAPAR 59 processados (CN, CD, CP) e não processados (C) foi realizada por extração sequencial com água a 4 °C, 25 °C e 60 °C, KOH 1M e NaOH 1M. As Figuras 12, 13 e 14 apresentam, respectivamente, o

rendimento percentual e os teores de carboidrato total e proteínas das frações obtidas nas extrações seqüenciais aquosas e alcalinas. Esses resultados estão apresentados em conjunto na Tabela 1.

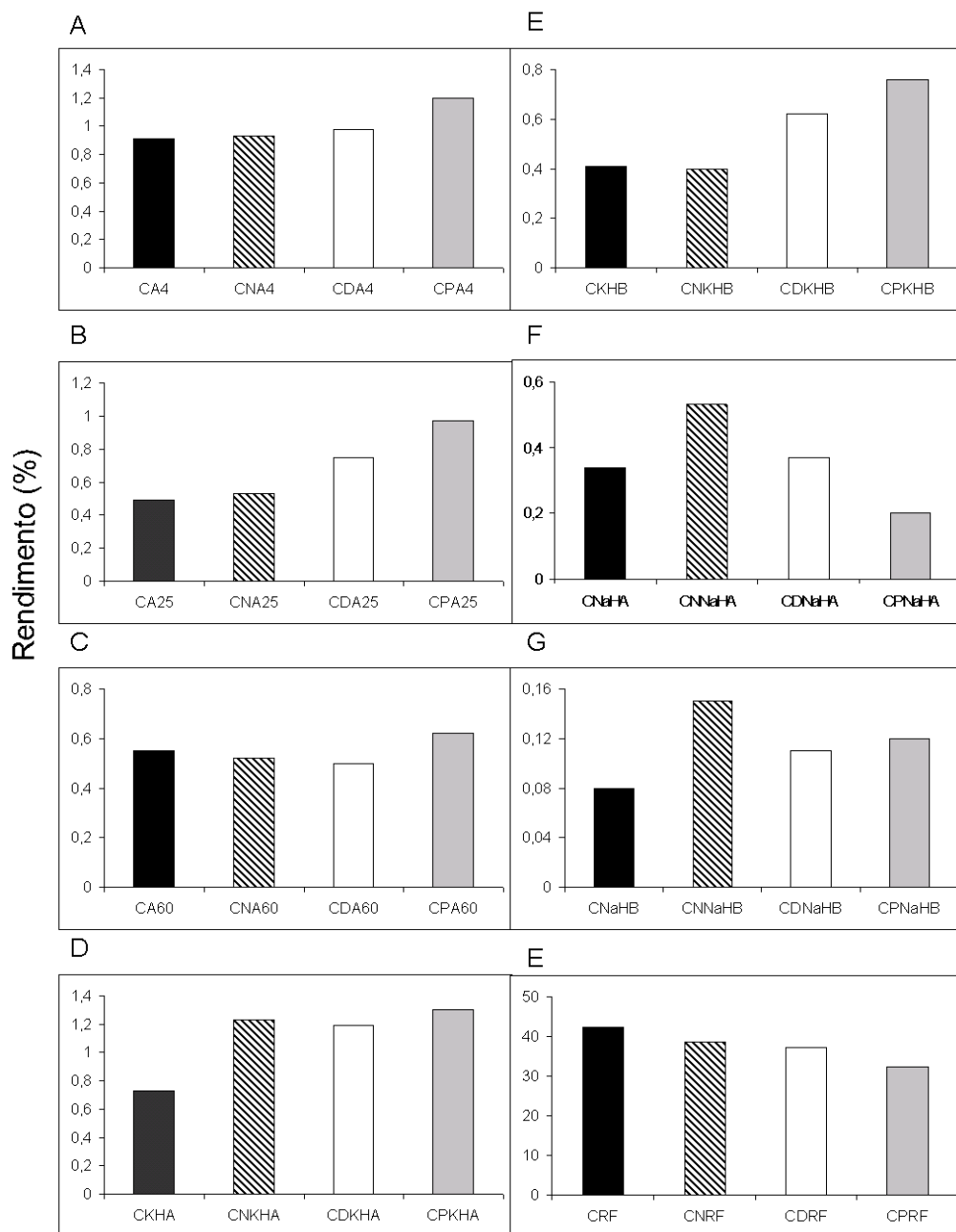


FIGURA 12 – RENDIMENTO PERCENTUAL DAS FRAÇÕES OBTIDAS POR EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS VERDES DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Rendimento percentual calculado em relação a massa seca dos grãos verdes de café deslipidificados. Frações obtidas a partir das extrações aquosas (A) 4°C, (B) 25 °C, (C) 60 °C, com (D) KOH após precipitação com ácido acético (pH 5,0), (E) KOH precipitada com etanol após eliminação da Hemi A, (F) NaOH após precipitação com ácido acético (pH 5,0), (G) NaOH precipitada com etanol após eliminação da Hemi A e dos (H) resíduos finais.

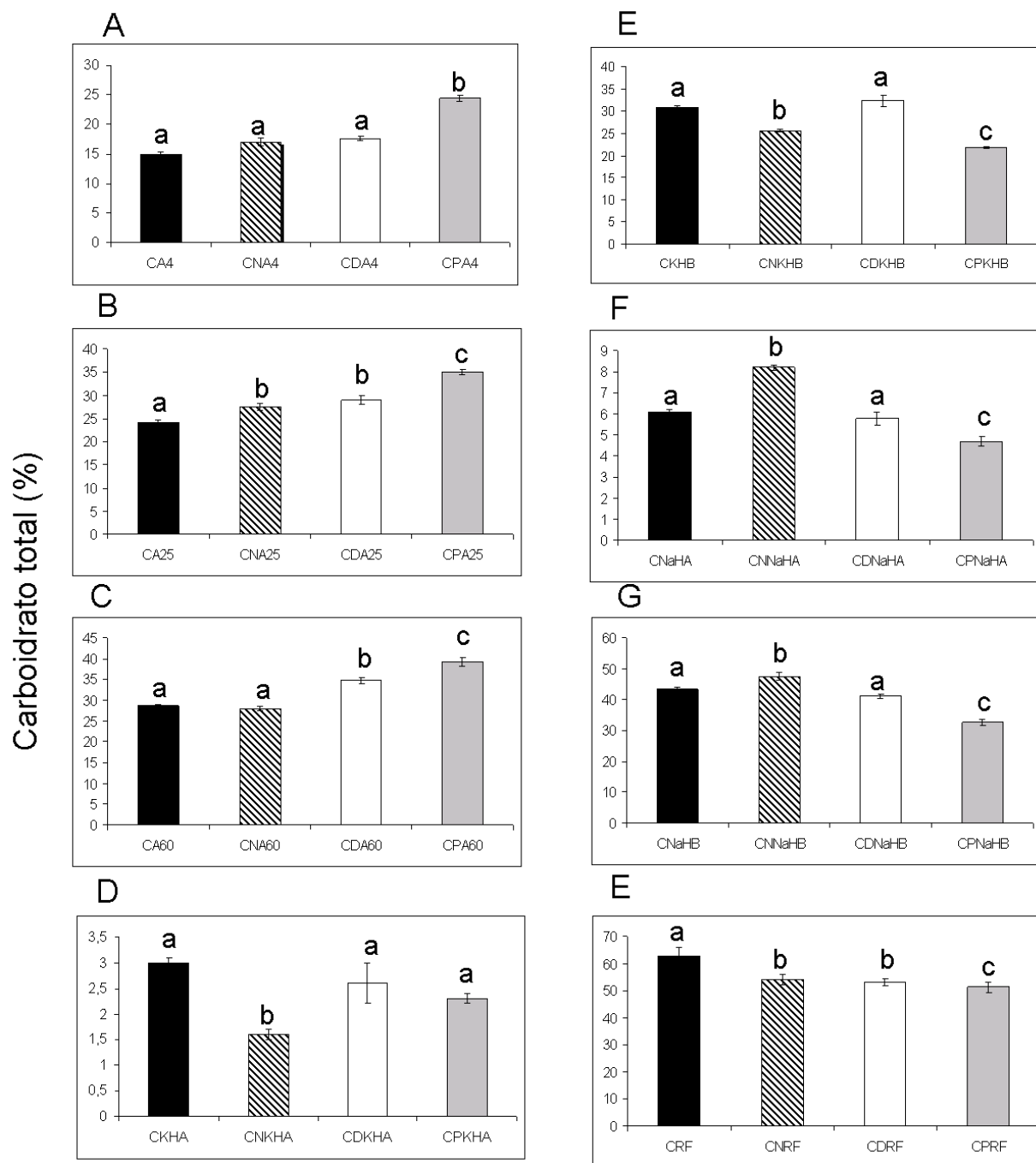


FIGURA 13 – TEOR DE CARBOIDRATO TOTAL DAS FRAÇÕES OBTIDAS POR EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS VERDES DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Carboidrato total (%) determinado pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956). Frações obtidas a partir das extrações aquosas (A) 4°C, (B) 25 °C, (C) 60 °C, com (D) KOH após precipitação com ácido acético (pH 5,0), (E) KOH precipitada com etanol após eliminação da Hemi A, (F) NaOH após precipitação com ácido acético (pH 5,0), (G) NaOH precipitada com etanol após eliminação da Hemi A e dos (H) resíduos finais. C: Controle (café não processado); CN: café natural; CD: café descascado; CP: café despolpado. Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma diferença estatística entre as colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

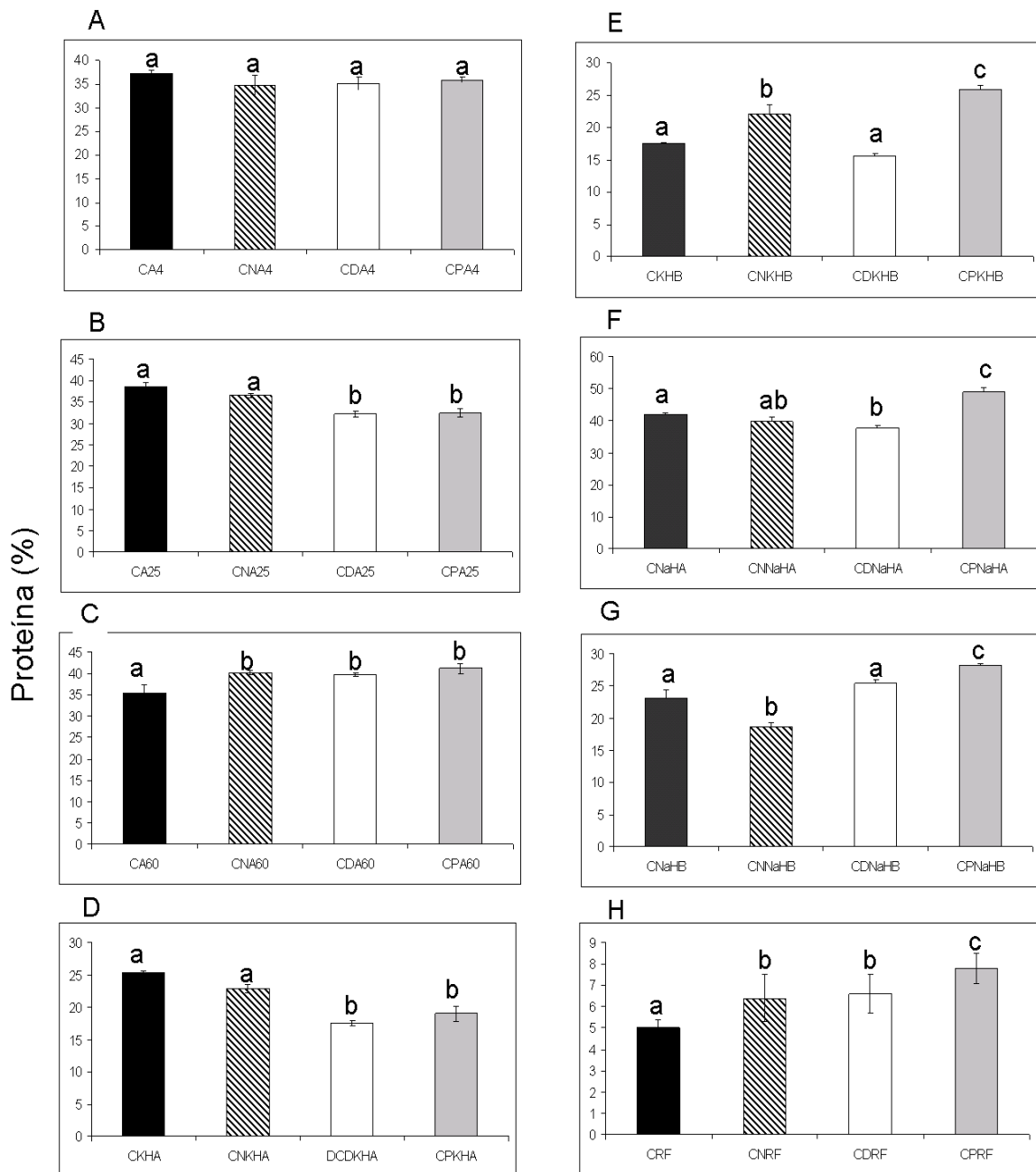


FIGURA 14 – TEOR DE PROTEÍNAS DAS FRAÇÕES OBTIDAS POR EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS VERDES DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Teor de proteínas (%) determinado pelo método de Hartree (1972). Frações obtidas a partir das extrações aquosas (A) 4°C, (B) 25 °C, (C) 60 °C, com (D) KOH após precipitação com ácido acético (pH 5,0), (E) KOH precipitada com etanol após eliminação da Hemi A, (F) NaOH após precipitação com ácido acético (pH 5,0), (G) NaOH precipitada com etanol após eliminação da Hemi A e dos (H) resíduos finais. C: Controle (café não processado); CN: café natural; CD: café descascado; CP: café despulpado. Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística entre as colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

TABELA 1 – RENDIMENTO PERCENTUAL, TEORES DE CARBOIDRATO TOTAL E PROTEÍNAS DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DOS GRÃOS VERDES DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

(continua)

Frações	Extrações	Rendimento* (%)	Carboidrato total*** (%)	Proteína** (%)
CA4	Água a 4 °C, café cereja não processado	0,91	15 ± 0,4 ^a	37,2 + 0,7 ^a
CNA4	Água a 4 °C, café cereja natural	0,93	17 ± 0,7 ^a	34,7 + 2,1 ^a
CDA4	Água a 4 °C, café cereja descascado	0,98	17,6 ± 0,4 ^a	35,1 + 1,3 ^a
CPA4	Água a 4 °C, café cereja despulpado	1,20	24,4 ± 0,5 ^b	35,9 + 0,6 ^a
CA25	Água a 25 °C, café cereja não processado	0,49	24,1 ± 0,7 ^a	38,5 + 1,1 ^a
CNA25	Água a 25 °C, café cereja natural	0,53	27,6 ± 0,8 ^b	36,5 + 0,4 ^a
CDA25	Água a 25 °C, café cereja descascado	0,75	29,0 ± 0,9 ^b	32,2 + 0,7 ^b
CPA25	Água a 25 °C, café cereja despulpado	0,97	35,0 ± 0,6 ^c	32,5 + 0,9 ^b
CA60	Água a 60 °C, café cereja não processado	0,55	28,7 ± 0,3 ^a	35,4 + 1,9 ^a
CNA60	Água a 60 °C, café cereja natural	0,52	28,0 ± 0,4 ^a	40,3 + 0,4 ^b
CDA60	Água a 60 °C, café cereja descascado	0,50	34,8 ± 0,8 ^b	39,8 + 0,5 ^b
CPA60	Água a 60 °C, café cereja despulpado	0,62	39,3 ± 1,1 ^c	41,2 + 1,1 ^b
CKHA	Hemicelulose A, KOH 1M a 25 °C, café cereja não processado	0,73	3,0 + 0,1 ^a	25,3 + 0,3 ^a
CNKHA	Hemicelulose A, KOH 1M a 25 °C, café cereja natural	1,23	1,6 + 0,1 ^b	22,9 + 0,7 ^a
CDKHA	Hemicelulose A, KOH 1M a 25 °C, café cereja descascado	1,19	2,6 + 0,4 ^a	17,5 + 0,4 ^b
CPKHA	Hemicelulose A, KOH 1M a 25 °C, café cereja despulpado	1,30	2,3 + 0,1 ^c	19,0 + 1,2 ^b
CKHB	Hemicelulose B, KOH 1M a 25 °C, café cereja não processado	0,41	30,8 + 0,5 ^a	17,5 + 0,2 ^a
CNKHB	Hemicelulose B, KOH 1M a 25 °C, café cereja natural	0,40	25,6 + 0,3 ^b	22,1 + 1,5 ^b
CDKHB	Hemicelulose B, KOH 1M a 25 °C, café cereja descascado	0,62	32,3 + 1,3 ^a	15,6 + 0,4 ^a
CPKHB	Hemicelulose B, KOH 1M a 25 °C, café cereja despulpado	0,76	21,9 + 0,2 ^a	25,9 + 0,7 ^c
CNaHA	Hemicelulose A, NaOH 1M a 25 °C, café cereja não processado	0,34	6,1 + 0,1 ^a	42,1 + 0,5 ^a
CNNaHA	Hemicelulose A, NaOH H 1M a 25 °C, café cereja natural	0,53	8,2 + 0,1 ^b	39,7 + 1,4 ^{ab}
CDNaHA	Hemicelulose A, NaOH 1M a 25 °C, café cereja descascado	0,37	5,8 + 0,3 ^a	37,6 + 0,8 ^b

TABELA 1 – RENDIMENTO PERCENTUAL, TEORES DE CARBOIDRATO TOTAL E PROTEÍNAS DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DOS GRÃOS VERDES DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

		(conclusão)		
Frações	Extrações	Rendimento* (%)	Carboidrato total*** (%)	Proteína** (%)
CPNaHA	Hemicelulose A, NaOH 1M a 25 °C, café cereja despulpado	0,20	4,7 + 0,2 ^c	49,0 + 1,2 ^c
CNaHB	Hemicelulose B, NaOH 1M a 25 °C, café cereja não processado	0,08	43,5 + 0,4 ^a	23,1 + 1,3 ^a
CNNaHB	Hemicelulose B, NaOH 1M a 25 °C, café cereja natural	0,15	47,4 + 1,2 ^b	18,7 + 0,5 ^b
CDNaHB	Hemicelulose B, NaOH 1M a 25 °C, café cereja descascado	0,11	41,2 + 0,8 ^a	25,4 + 0,6 ^a
CPNaHB	Hemicelulose B, NaOH 1M a 25 °C, café cereja despulpado	0,12	32,8 + 0,9 ^c	28,2 + 0,3 ^c
CR	Resíduo final insolúvel após extrações seqüenciais do café cereja não processado	42,3	62,9 + 3,2 ^a	5,0 + 0,4 ^a
CNR	Resíduo final insolúvel após extrações seqüenciais do café cereja natural	38,7	54,2 + 2,1 ^b	6,4 + 1,1 ^b
CDR	Resíduo final insolúvel após extrações seqüenciais do café cereja descascado	37,2	53,1 + 1,3 ^b	6,6 + 0,9 ^b
CPR	Resíduo final insolúvel após extrações seqüenciais do café cereja despulpado	32,4	51,3 + 1,9 ^c	7,8 + 0,7 ^c

FONTE: A autora (2010)

NOTA: *Rendimento percentual em relação ao peso seco dos grãos verdes de café deslipidificado. **Carboidrato total (%) determinado pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). ***Teor de Proteínas (%) determinado pelo método de Hartree (1972). Frações obtidas a partir das extrações aquosas a 4, 25 e 60 °C e alcalinas: Hemicelulose A, extrações com KOH ou NaOH 1M seguida de precipitação com ácido acético (pH 5,0) e Hemicelulose B, precipitado com etanol do sobrenadante após eliminação da hemicelulose A. Resíduos finais insolúveis.

O rendimento das frações polissacarídicas em relação ao material inicial foi baixo, variando de 0,08% a 1,3% (Figura 12 e Tabela 1). O teor de carboidrato total variou de 1,6% a 47,4% (Figura 13 e Tabela 1), dependendo do método de extração. Esses resultados demonstram que a maioria dos polissacarídeos encontra-se firmemente embebido na parede celular e foi pouco solúvel nas condições de extração utilizadas. Em extração sequencial de grãos verdes de café arábica com água, EDTA, NaOH 0,05 M, 1 M e 4 M. Oosterveld *et al.* (2003) extraíram apenas 7% dos polissacarídeos, enquanto que 68% foram encontrados no resíduo final.

O rendimento percentual e o teor de carboidrato total das frações aquosas apresentaram valores crescentes, de acordo com o método de processamento, na seguinte ordem: C, CN, CD e CP. Esses resultados indicam que o processamento pós-colheita aumenta a extratibilidade dos polissacarídeos. As frações aquosas obtidas a partir do CP também apresentaram valores superiores de carboidrato total em todas as temperaturas analisadas. A maior quantidade de carboidrato no café processado favorece a formação de compostos aromáticos durante o processo de torrefação quando estes reagem com proteínas e aminoácidos fornecendo aroma e sabor mais intenso ao café (SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2008).

Apesar da fração CNA4 apresentar um maior rendimento (0,93%), o teor de carboidrato total (17%) foi muito próximo ao valor obtido para a fração CDA4 (15,0%) (Figura 13 e Tabela 1). Valores de carboidrato total entre 15 e 18% também foram relatados por Coimbra (2001) na caracterização de compostos de alta massa molar extraído com água quente (80 °C) de grãos verdes de café arábica. No presente trabalho, valores mais elevados (28,7-39,3%) de carboidrato total foram encontrados nas frações aquosas obtidas a 60 ° C (Figura 13 e Tabela 1).

A proporção de proteínas presente nas frações aquosas e alcalinas variou de 34,7-49,0% (Figura 14 e Tabela 1). Entretanto, estes valores podem estar superestimados devido à presença de compostos fenólicos nos grãos verdes de café, que podem atuar como substâncias interferentes no método colorimétrico de Hartree (1972).

O rendimento (Figura 12 e Tabela 1) e o conteúdo de carboidrato total (Figura 13 e Tabela 1) das frações KHA e NaHA foram muito baixos. Entretanto, o conteúdo de carboidrato total pode estar subestimado devido à utilização da manose como açúcar padrão nas dosagens pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956). Uma hidrólise parcial dos polissacarídeos também pode ter ocorrido, uma vez que essas frações apresentaram-se insolúveis em água, ocasionando a perda de material.

Os resíduos apresentaram os maiores rendimentos (32,4-42,3%) e os valores de carboidrato total variaram de 51,3% a 62,9%. Pequenas quantidades de proteínas foram encontradas nos resíduos insolúveis (5,0-7,8%), indicando que a maioria das proteínas foram solubilizadas nas extrações sequenciais (Figura 14 e Tabela 1).

4.3 Análise da composição monossacarídica das frações obtidas por extração dos grãos verdes de *Coffea arabica* submetidos a diferentes métodos de processamento pós-colheita

A influência dos métodos de processamento pós-colheita sobre os polissacarídeos foi estudada por meio da composição monossacarídica das frações obtidas nas extrações sequenciais dos grãos verdes de café arábica C, CN, CD e CP. A Figura 15 e a Tabela 2 apresentam a composição monossacarídica das frações obtidas a partir das extrações sequenciais aquosas e alcalinas dos grãos verdes de café arábica.

Observa-se um predomínio de galactose, arabinose e manose em todas as frações aquosas. Estes resultados sugerem a presença de arabinogalactanas e (galacto)mananas nestas frações, como já descrito na literatura (WOLFROM; PLUNKETT; LAYER, 1960; WOLFROM; PATIN, 1965; BRADBURY; HALLIDAY, 1987; FISCHER *et al.*, 2001; OOSTERVELD *et al.*, 2003). As arabinogalactanas foram predominantes em todas as frações aquosas, enquanto que as (galacto)mananas foram menos extraídas nestas condições. Galactomananas foram solubilizadas em todas as frações, mas uma proporção mais elevada só foi recuperada com o aumento gradativo da temperatura e com o uso de álcali como agente extrator. Estes resultados demonstram o maior grau de dificuldade na extração das (galacto)mananas dos grãos verdes de café. Fischer *et al.* (2001) e Oosterveld *et al.* (2003) também demonstram que em grãos verdes de café arábica os polímeros de manose são os mais difíceis de extrair.

A comparação das frações solúveis em água obtidas a partir dos grãos verdes de CN, CD ou CP com as frações equivalentes obtidas a partir dos grãos de café C revelou que houve uma redução nos percentuais de manose e galactose após o processamento. Maiores quantidades de (galacto)mananas solúveis em água foram recuperadas a partir do café C, independente da temperatura utilizada. Entre os cafés processados, as frações CDA4, CDA25 e CDA60 apresentaram maior teor de manose. Os resultados indicam que as frações obtidas a partir dos cafés processados contêm menores quantidades de (galacto)mananas solúveis em água que o café não processado e que o grau de extratibilidade desses polímeros variou de acordo com o método de processamento pós-colheita.

Todas as frações solúveis em água apresentaram maior percentual de arabinose após o processamento, com destaque para o café natural. As diferenças na quantidade de arabinose entre os cafés CN, CD e CP sugerem que o grau de ramificação e/ou de polimerização das arabinogalactanas diferiu de acordo com o método de processamento utilizado. Considerando que as moléculas de (galacto)mananas encontradas nos grãos verdes de café estão presentes como uma mistura heterogênea de mananas puras ou pouco substituídas (WOLFROM; LAYER; PATIN, 1961; BRADBURY; HALLIDAY, 1990; FISCHER *et al.*, 1999) e que a maioria da galactose é oriunda de arabinogalactanas, o café natural parece conter arabinogalactanas mais ramificadas e/ou com cadeias laterais maiores que os cafés descascado e despulpado.

A presença de ramnose e ácidos urônicos nas frações aquosas e alcalinas sugerem a presença de pectina, embora o ácido glucurônico também seja encontrado em posições terminais em cadeias laterais de arabinogalactanas de café (REDGWELL *et al.*, 2002a). Diferenças significativas também foram observadas no conteúdo de ramnose e ácidos urônicos entre frações equivalentes provenientes dos diferentes tratamentos, sugerindo que as pectinas também podem ter sido afetadas pelo processamento pós-colheita.

Duas famílias de pectinas, ramnogalacturonanas e homogalacturonanas, já foram isoladas a partir de grãos verdes de café arábica (REDGWELL *et al.*, 2003; SUTHERLAND *et al.*, 2004).

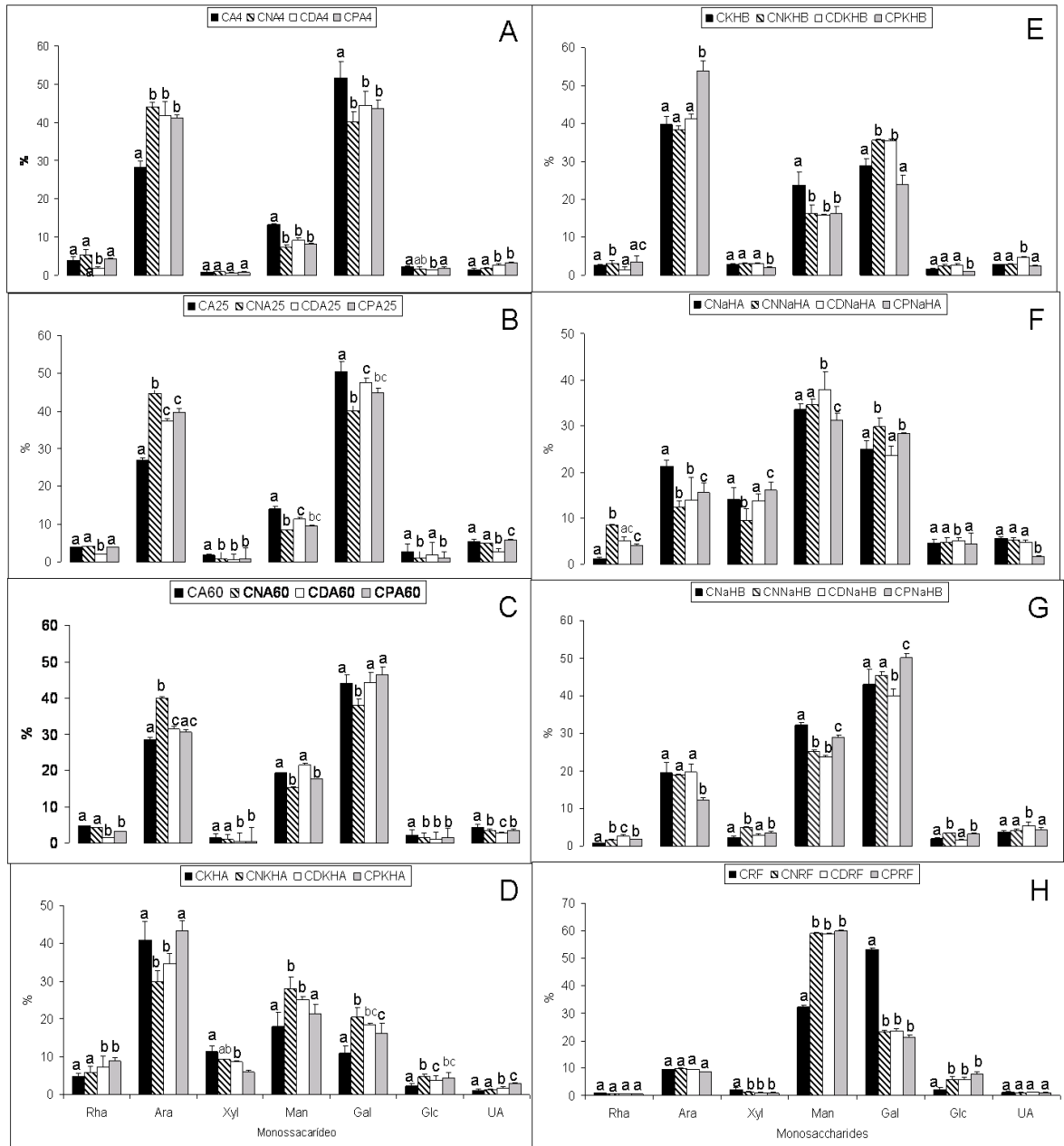


FIGURA 15 - COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DAS EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS VERDES DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

NOTA: Açúcares neutros foram analisados por GLC na forma de acetato de alditóis. Teor de ácidos urônicos foi determinado pelo método de Filisetti-Cozzi e Carpita (1991). Frações obtidas a partir das extrações aquosas (A) 4°C, (B) 25 °C, (C) 60 °C, com (D) KOH após precipitação com ácido acético (pH 5,0), (E) KOH precipitada com etanol após eliminação da Hemi A, (F) NaOH após precipitação com ácido acético (pH 5,0), (G) NaOH precipitada com etanol após eliminação da Hemi A e dos (H) resíduos finais. C: Controle (café não processado); CN: café natural; CD: café descascado; CP: café despulpado. Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística entre as colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DAS EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS DOS GRÃOS VERDES DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

Fração	Composição Monossacarídica (%)						
	Rha	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	UA
CA4	3,8 ± 1,2 ^a	28,1 ± 1,6 ^a	0,8 ± 0,6 ^a	13,3 ± 0,2 ^a	51,7 ± 4,3 ^a	2,2 ± 0,2 ^a	1,5 ± 0,3 ^a
CNA4	5,4 ± 1,4 ^a	44,1 ± 1,3 ^b	1,0 ± 0,1 ^a	7,4 ± 0,5 ^b	40,3 ± 2,5 ^b	1,7 ± 0,5 ^{ab}	1,9 ± 0,1 ^a
CDA4	1,8 ± 0,4 ^b	41,9 ± 3,6 ^b	0,7 ± 0,1 ^a	9,1 ± 0,7 ^b	44,4 ± 3,7 ^b	1,4 ± 0,1 ^b	2,6 ± 0,4 ^b
CPA4	4,2 ± 0,3 ^a	41,2 ± 0,9 ^b	0,8 ± 0,2 ^a	8,2 ± 0,1 ^b	43,6 ± 2,3 ^b	1,8 ± 0,4 ^a	3,2 ± 0,2 ^b
CA25	4,0 ± 0,6 ^a	27,0 ± 0,2 ^a	1,8 ± 0,5 ^a	14,1 ± 2,6 ^a	50,5 ± 2,1 ^a	2,6 ± 0,7 ^a	5,4 ± 0,5 ^a
CNA25	4,2 ± 0,8 ^a	44,7 ± 1,7 ^b	0,9 ± 0,2 ^b	8,5 ± 1,1 ^b	40,2 ± 1,8 ^b	1,0 ± 0,1 ^b	5,0 ± 0,1 ^a
CDA25	2,0 ± 0,6 ^b	37,5 ± 1,4 ^c	0,7 ± 0,3 ^b	11,4 ± 1,2 ^c	47,6 ± 3,3 ^c	1,9 ± 0,8 ^a	2,7 ± 0,3 ^b
CPA25	4,0 ± 0,9 ^a	39,8 ± 2,9 ^c	0,8 ± 0,2 ^b	9,6 ± 1,3 ^{bc}	44,9 ± 1,6 ^{bc}	1,1 ± 0,1 ^b	5,8 ± 0,1 ^c
CA60	4,8 ± 0,7 ^a	28,3 ± 1,1 ^a	1,4 ± 0,1 ^a	19,3 ± 2,5 ^a	44,0 ± 1,4 ^a	2,2 ± 0,9 ^a	4,2 ± 0,4 ^a
CNA60	4,3 ± 0,6 ^a	39,9 ± 1,3 ^b	1,1 ± 0,2 ^a	15,3 ± 1,7 ^b	38,0 ± 1,3 ^b	1,4 ± 0,4 ^b	3,4 ± 0,1 ^b
CDA60	1,5 ± 0,6 ^b	31,4 ± 2,3 ^c	0,5 ± 0,3 ^a	21,6 ± 2,8 ^a	44,4 ± 2,0 ^a	1,0 ± 0,3 ^b	2,8 ± 0,2 ^c
CPA60	3,3 ± 0,6 ^{ab}	30,5 ± 3,8 ^{ac}	0,5 ± 0,1 ^a	17,6 ± 2,1 ^b	46,4 ± 2,7 ^a	1,4 ± 0,3 ^b	3,5 ± 0,1 ^b
CKHA	4,7 ± 0,9 ^a	40,9 ± 4,9 ^a	11,3 ± 1,6 ^a	18,0 ± 3,7 ^a	10,9 ± 1,9 ^a	2,3 ± 0,6 ^a	1,1 ± 0,3 ^a
CNKHA	5,8 ± 1,7 ^a	30,0 ± 2,9 ^b	9,3 ± 0,1 ^{ab}	28,2 ± 2,9 ^a	20,4 ± 2,6 ^b	4,8 ± 0,5 ^b	1,3 ± 0,2 ^a
CDKHA	7,3 ± 2,9 ^b	34,7 ± 2,7 ^b	8,6 ± 0,2 ^b	25,0 ± 0,9 ^a	18,4 ± 0,4 ^{bc}	3,8 ± 1,1 ^c	1,7 ± 0,4 ^b
CPKHA	8,9 ± 0,8 ^b	43,4 ± 2,6 ^a	5,9 ± 0,5 ^c	21,2 ± 2,6 ^a	16,2 ± 2,5 ^c	4,3 ± 1,5 ^{bc}	2,9 ± 0,3 ^c
CKHB	2,7 ± 0,3 ^a	39,7 ± 2,2 ^a	2,9 ± 0,3 ^a	23,7 ± 3,5 ^a	29,0 ± 1,9 ^a	1,7 ± 0,2 ^a	2,9 ± 0,1 ^a
CNKHB	3,1 ± 0,8 ^b	38,3 ± 1,0 ^a	3,2 ± 0,2 ^a	16,3 ± 2,2 ^b	35,7 ± 0,2 ^b	2,5 ± 0,4 ^a	2,9 ± 0,3 ^a
CDKHB	1,4 ± 0,9 ^a	41,3 ± 1,2 ^a	3,1 ± 0,2 ^a	15,9 ± 0,2 ^b	35,5 ± 0,4 ^b	2,8 ± 0,4 ^a	4,8 ± 0,2 ^b
CPKHB	3,5 ± 1,8 ^{ac}	54,0 ± 2,6 ^b	2,1 ± 0,1 ^b	16,2 ± 1,9 ^b	24,0 ± 2,4 ^a	1,0 ± 0,1 ^b	2,4 ± 0,3 ^a
CNaHA	1,2 ± 0,3 ^a	21,4 ± 1,3 ^a	14,2 ± 2,5 ^a	33,5 ± 1,2 ^a	25,0 ± 1,9 ^a	4,7 ± 0,9 ^a	5,7 ± 0,3 ^a
CNNaHA	8,5 ± 0,3 ^b	12,5 ± 1,3 ^b	9,5 ± 2,5 ^b	34,6 ± 1,2 ^a	29,8 ± 1,9 ^b	4,9 ± 0,9 ^a	5,3 ± 0,5 ^a
CDNaHA	5,2 ± 0,9 ^c	13,9 ± 4,9 ^{bc}	13,7 ± 1,6 ^a	38,0 ± 3,7 ^b	23,7 ± 1,8 ^a	5,2 ± 0,6 ^a	4,8 ± 0,6 ^a
CPNaHA	4,2 ± 0,3 ^c	15,6 ± 2,1 ^c	16,1 ± 1,7 ^a	31,3 ± 1,4 ^c	28,3 ± 0,2 ^b	4,6 ± 2,3 ^a	1,7 ± 0,2 ^b
CNaHB	0,8 ± 0,1 ^a	19,5 ± 2,8 ^a	2,2 ± 0,4 ^a	32,3 ± 0,6 ^a	43,1 ± 4,0 ^a	2,1 ± 0,2 ^a	3,8 ± 0,4 ^a
CNNaHB	1,6 ± 0,2 ^b	19,0 ± 0,1 ^a	5,1 ± 0,2 ^b	25,2 ± 0,3 ^b	45,6 ± 0,9 ^a	3,5 ± 0,1 ^b	4,3 ± 0,3 ^a
CDNaHB	2,7 ± 0,3 ^c	19,7 ± 2,2 ^a	2,9 ± 0,3 ^a	23,7 ± 0,5 ^b	40,0 ± 1,9 ^b	1,7 ± 0,2 ^a	5,5 ± 0,9 ^b
CPNaHB	1,8 ± 0,1 ^b	12,3 ± 0,6 ^b	3,7 ± 0,3 ^b	28,9 ± 0,6 ^c	50,1 ± 1,0 ^c	3,2 ± 0,3 ^b	4,5 ± 0,6 ^a
CR	0,8 ± 0,1 ^a	9,5 ± 0,8 ^a	2,2 ± 0,4 ^a	32,3 ± 0,6 ^a	53,1 ± 1,0 ^a	2,1 ± 0,2 ^a	1,2 ± 0,3 ^a
CNR	0,5 ± 0,2 ^a	9,8 ± 0,4 ^a	1,0 ± 0,1 ^b	59,2 ± 0,7 ^b	23,1 ± 1,0 ^b	6,0 ± 0,3 ^b	0,9 ± 0,1 ^a
CDR	0,6 ± 0,1 ^a	9,6 ± 0,3 ^a	0,9 ± 0,2 ^b	58,9 ± 0,9 ^b	23,5 ± 0,9 ^b	5,9 ± 0,1 ^b	1,0 ± 0,3 ^a
CPR	0,6 ± 0,1 ^a	8,6 ± 0,3 ^a	0,9 ± 0,2 ^b	59,9 ± 0,9 ^b	21,3 ± 0,9 ^b	7,7 ± 0,1 ^b	0,9 ± 0,3 ^a

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística entre as colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Observa-se uma seletividade dependente do tipo de álcali utilizado em relação aos polissacarídeos obtidos nas extrações alcalinas. Nas frações HA obtidas com KOH observa-se um predomínio de arabinogalactanas, enquanto que nas frações respectivas obtidas com NaOH as (galacto)mananas foram extraídas em maior quantidade. Entre os diferentes tipos de processamento, observaram-se diferenças significativas nos conteúdos de arabinose e galactose nas frações HA, sendo os menores teores de arabinose observados nas frações CN e CD (Figuras 15D e F e Tabela 2).

Em relação às frações HB, observa-se o predomínio de arabinose nas extrações com KOH (Figura 15E e Tabela 2), enquanto que nas frações correspondentes obtidas com NaOH (Figura 15G e Tabela 2), a galactose foi o monossacarídeo predominante, sugerindo que o grau de ramificação das arabinogalactanas presentes nestas frações é menor. É possível que as arabinogalactanas mais solúveis, que continham uma maior quantidade de arabinose, tenham sido extraídas nas extrações anteriores. Resultados semelhantes foram encontrados por Redgwell *et al.* (2002a). Como as arabinogalactanas presentes nos grãos verdes de café são heterogêneas, tanto no seu grau de ramificação quanto na composição monossacarídica das suas cadeias laterais (FISCHER *et al.*, 2001a; REDGWELL *et al.*, 2002a), supõe-se que diferentes tipos de arabinogalactanas foram recuperadas nas extrações seqüenciais.

Os resultados sugerem que o padrão estrutural e de solubilidade das frações hemicelulósicas foi dependente do método de processamento aplicado. A análise do conteúdo de manose mostrou que as (galacto)mananas foram menos solúveis na fração CKHA (Figura 15D e Tabela). A fração CKHA apresentou alto conteúdo de arabinose e baixo de galactose, sugerindo a presença de arabinogalactanas altamente ramificadas e/ou arabinanas (SUTHERLAND *et al.*, 2004).

Pequenas quantidades de xilose foram encontradas nas frações aquosas (0,5- 1,4%). Entretanto nas frações alcalinas os percentuais de xilose foram mais elevados. Estes resultados indicam a presença de outras classes de polissacarídeos além das (galacto)mananas e arabinogalactanas. Os maiores percentuais de xilose foram encontrados nas frações HA obtidas com KOH 1M (5,9 -11,3%) e NaOH 1M (9,5 - 16,1%). Pequenas quantidades de fucose também foram encontradas nas frações CNaOH (0,8%); CNNaOH (1,5%), CDNaOH (0,5%) e CPNaOH (2,0%),

sugerindo a presença de xiloglucanas, conforme já observado por outros autores (FISCHER *et al.*, 2001; OOSTERVELD *et al.*, 2003). Entretanto, a comparação dos conteúdos de xilose e glucose das diferentes frações de hemicelulose sugere a presença de outro polímero rico em xilose, além das xiloglucanas. Fischer *et al.* (2001) analisando material de parede celular isolado a partir de grãos verdes de café arábica por meio de extrações sequenciais encontrou uma razão Glc:Xyl (~1:2) nas frações obtidas com KOH 4M e 8M, incompatível com uma xiloglucana. Contudo, os autores não fazem nenhuma menção sobre a presença de outro polissacarídeo, além da xiloglucanas, como fornecedor de xilose nos grãos de café. Adicionalmente, diferentes ligações para as unidades de xilose presentes em frações heterogêneas obtidas a partir de extrações seqüenciais de grãos verdes de café foram encontradas nas análises de metilação realizadas por Fischer *et al.* (2001) e Oosteveld *et al.* (2003a). Estes resultados sugerem a existência de mais de um tipo de polissacarídeo contendo xilose em sua estrutura.

Como citado anteriormente, vários trabalhos descrevem que os grãos verdes de café são compostos principalmente por arabinogalactanas, (galacto)mananas e celulose. Entretanto, a presença de polissacarídeos adicionais, que ocorrem em quantidades menores, é raramente discutida. Uma hipótese é que as frações ricas em xilose obtidas neste trabalho possam ser provenientes da parede celular secundária. Nas paredes secundárias dos vegetais, as xilanas formam pontes de hidrogênio com a celulose, ligações covalentes com as ligninas e podem formar ligações do tipo éster com grupamentos acetil e ácidos fenólicos (BUCHALA; WILKIE, 1974; MIGNÉ; PRENSIER; GRENET, 1994). Os grãos de café contêm cerca de 3 a 15% de lignina (RINANTONIO, 1987) e de acordo com alguns autores, os polissacarídeos encontram-se associados à lignina (SALES *et al.*, 2003).

Muitos dos polissacarídeos foram encontrados ainda no resíduo final insolúvel. A composição monossacarídica encontrada nas frações CNRF, CDRF e CPRF foi muito similar. Os monossacarídeos predominantes foram manose (58,7-59,2%), galactose (22,9-23,5%) e arabinose (9,6-10,1%). A predominância de manose nestas frações indica a presença de mananas puras ou muito pouco ramificadas. Certa quantidade de arabinogalactanas permaneceu ainda no resíduo, apesar de sua solubilidade intrínseca. Mas, os percentuais de arabinose foram bem menores que os de galactose, indicando a presença de arabinogalactanas pouco

ramificadas. A celulose, como esperado, também está presente, porém em pequenas quantidades quando comparado as mananas.

Confirmando a maior solubilidade das (galacto)mananas no grupo controle, estas foram recuperadas em quantidade significativamente menor no resíduo final insolúvel quando comparada as frações que foram submetidas ao processamento pós-colheita.

A composição monossacarídica das frações aquosas e alcalinas apontou diferenças entre os polissacarídeos obtidos a partir de grãos verdes de café natural, descascados ou despulpados. As diferenças também estão presentes quando se compara os grupos provenientes do processamento com o controle (não processado). Considerando que o material de partida foi idêntico, estes resultados indicam que o processamento pós-colheita promove alterações no conteúdo e na composição química dos polissacarídeos dos grãos verdes de café e que estas diferenças podem ser dependentes do método de processamento.

As diferenças nos percentuais de manose e galactose são de especial interesse porque estes açúcares são constituintes das (galacto)mananas que têm a função de reserva e são degradadas durante a germinação dos grãos que pode ser ativada durante o curso do processamento pós-colheita (REID, 1985; BYTOF; SELMAR; SCHIEBERLE, 2000; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2002; BYTOF; KNOPP; SCHIEBERLE, 2005; SELMAR *et al.*, 2005a,b). Portanto, a ativação do processo germinativo durante o processamento pós-colheita do café poderia justificar as diferenças nos percentuais de galactomananas apontadas nas frações sequenciais obtidas a partir dos cafés natural, descascado e despulpado em relação ao não processado.

As propriedades físico-químicas dos grãos de café, em particular no que diz respeito à sua solubilização por extração, são regidas tanto pelas características químicas e estruturais dos polímeros individuais, assim como pela morfologia da parede celular e o arranjo espacial dos polissacarídeos (REDGWELL *et al.* 2003a,b). Assim, a degradação dos polissacarídeos de reserva da parede celular devido ao processo germinativo pode alterar a morfologia da parede e modificar o arranjo espacial e a solubilidade dos polissacarídeos nas amostras analisadas.

A distribuição de polissacarídeos na parede celular do grão de café é heterogênea, não só no que diz respeito aos tipos de polissacarídeos, mas também

em alguns casos, ocorrem diferenças nas formas estruturais do mesmo tipo, podendo estar localizados em diferentes regiões da parede (SUTHERLAND *et al.*, 2004). Por exemplo, variações na localização das arabinogalactanas na célula podem explicar seus diferentes graus de solubilidade. Assim, uma arabinogalactana que está situada dentro ou perto da superfície da parede celular, onde é separada da maioria das fibrilas de manana e celulose, pode ser facilmente solubilizada, enquanto uma situada no meio da parede, onde é cercada e envolvida por fibrilas, podem ser insolúveis.

Diferenças no *status* metabólico dos cafés natural, descascado e despulpado durante o processamento pós-colheita também podem alterar o padrão estrutural e, conseqüentemente, a solubilidade dos polissacarídeos. Alguns trabalhos apontam que no processo úmido as condições para a germinação são mais favoráveis devido à remoção da polpa (eliminação dos inibidores) e pela presença da água (embebição das sementes) nos tanques de fermentação (BYTOF; SELMAR; SCHIEBERLE, 2000; SELMAR; BYTOF; KNOPP, 2002; BYTOF; SCHIEBERLE; KNOPP, 2005; SELMAR *et al.*, 2005a, b). No processo natural também ocorre metabolismo relacionado com a germinação, provavelmente devido a causas endógenas. Selmar *et al.* (2004) demonstraram que a intensidade e o período de curso da germinação diferem significativamente entre os cafés natural e úmido. Segundo os autores, a maior atividade germinativa ocorreu 2 dias após o início do processamento úmido, enquanto que o máximo correspondente no período de curso do processamento natural surgiu cerca de 1 semana após o início do tratamento pós-colheita. Portanto, alterações químicas distintas podem ser causadas por diferenças no *status* metabólico dos grãos de café.

4.4 Perfil de eluição por Cromatografia de Exclusão Estérica de Alta Pressão das frações polissacarídicas obtidas a partir dos grãos verdes de *Coffea arabica* submetidos a diferentes métodos de processamento pós-colheita

Os perfis de eluição dos polissacarídeos presentes nas frações aquosas obtidas a partir dos grãos verdes foram analisados por cromatografia de exclusão estérica usando os detectores: MALLS (espalhamento de luz laser multi-ângulos), RI (índice de refração) (Figura 16). O RI apresenta um sinal proporcional à concentração, enquanto o MALLS detecta polímeros de alta massa molar. As frações alcalinas não foram analisadas devido à sua insolubilidade.

Como esperado pelos dados de composição monossacarídica, em ambos os detectores (RI e MALLS), todas as frações analisadas apresentaram-se heterogêneas. Os perfis de eluição das frações obtidas por meio de extração aquosa dos grãos verdes foram distintos entre si, demonstrando que as frações analisadas apresentaram polissacarídeos de diferentes massas molares.

No detector de espalhamento de luz laser, a fração CNA4 apresentou duas populações distintas eluindo após 35 e 38 min. As frações CA4, CDA4 e CPA4 apresentaram uma população após 40 min de corrida. Estes resultados sugerem que a fração CNA4 apresenta populações de maior massa molar que as frações CA4, CDA4 e CPA4. Adicionalmente, um pico eluindo em 46 min foi detectado pelo MALLS em todas as frações aquosas obtidas a 4, 25 e 60 °C, exceto nas frações obtidas a partir do café despulpado. Polímeros menores, eluindo após 50 min, não detectados pelo MALLS, foram detectados por RI em todas as frações analisadas. O perfil de eluição utilizando o detector de RI foi similar entre as frações analisadas.

O fato dos perfis de eluição dos polissacarídeos obtidos a partir das frações aquosas dos grãos verdes apresentarem-se distintos pode ser devido às diferenças na sua estrutura molecular como: grau de ramificação e polimerização e/ou composição química das cadeias principais e/ou laterais.

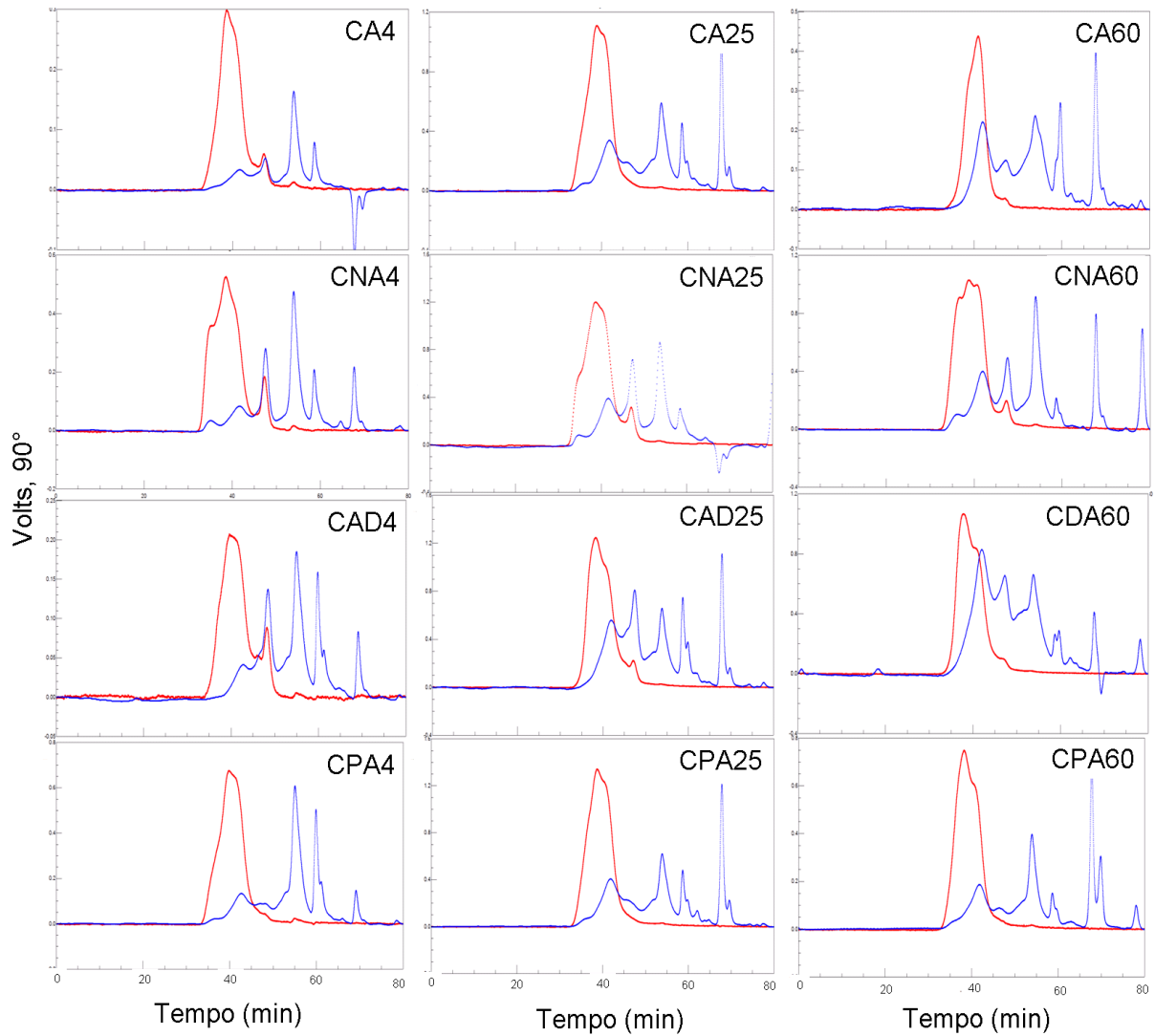


FIGURA 16 - PERFIL DE ELUIÇÃO POR HPSEC DAS FRAÇÕES OBTIDAS A PARTIR DAS EXTRAÇÕES AQUOSAS A 4, 25 E 60 °C DOS GRÃOS VERDES DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

NOTA: C: Controle (café não processado); CN: café natural; CD: café descascado; CP: café despulpado. Detector de espalhamento de luz laser (ângulo 90°) em vermelho, detector de índice de refração em azul.

4.5 Análises das bebidas preparadas com grãos de *Coffea arabica* submetidos a diferentes métodos de processamento pós-colheita

Apesar da importância dos polissacarídeos, que são responsáveis por características como viscosidade, formação de espuma e retenção de substâncias voláteis, somente mudanças em compostos de baixa massa molar presentes em bebidas de café preparadas a partir de grãos submetidos a diferentes métodos de processamento têm sido descritas (MENEZES, 1994; SELMAR *et al.*, 2005a,b; KNOPP *et al.*, 2005).

A fim de obter informações sobre os polissacarídeos presentes nas bebidas de café preparadas a partir de grãos de café natural, descascado ou despulpado, os mesmos foram torrados, moídos, peneirados e utilizados no preparo de suas respectivas bebidas.

A intensidade de torra tem efeito sobre atributos de qualidade da bebida de café (SCHENKER *et al.*, 2000) e, portanto, foi controlada por meio da luminosidade dos grãos torrados. Pode-se observar que todas as amostras tiveram o mesmo grau de torra, conforme indicado pela medida de luminosidade das amostras CN (26,9), CD (26,5) e CP (27,8).

O preparo da bebida do café, que consiste da extração do sabor e aroma do café torrado e moído com água quente, é um processo conhecido como infusão e pode ocorrer por filtração, percolação, prensagem ou pressão e cada um destes produz diferentes tipos de bebidas. O método de filtração é o mais utilizado pelos consumidores de café no Brasil (ABIC, 2009) e, portanto, foi escolhido para a preparo das bebidas. O método de preparo da bebida também é uma variável que pode influenciar na sua qualidade final (MARTINS *et al.*, 2005).

Os polissacarídeos solúveis presentes nas bebidas foram precipitados com etanol e as frações obtidas foram identificadas com as mesmas siglas utilizadas para os grãos verdes, acrescidas da letra B (CNB, CDB e CPB). Os valores de rendimento percentual, teores de carboidrato total e proteínas destas frações são apresentados na Figura 17 e na Tabela 3. A quantidade de material que pode ser extraído desempenha um papel importante na qualidade da bebida de café (CLIFFORD, 1985; ILLY; VIANI, 1995).

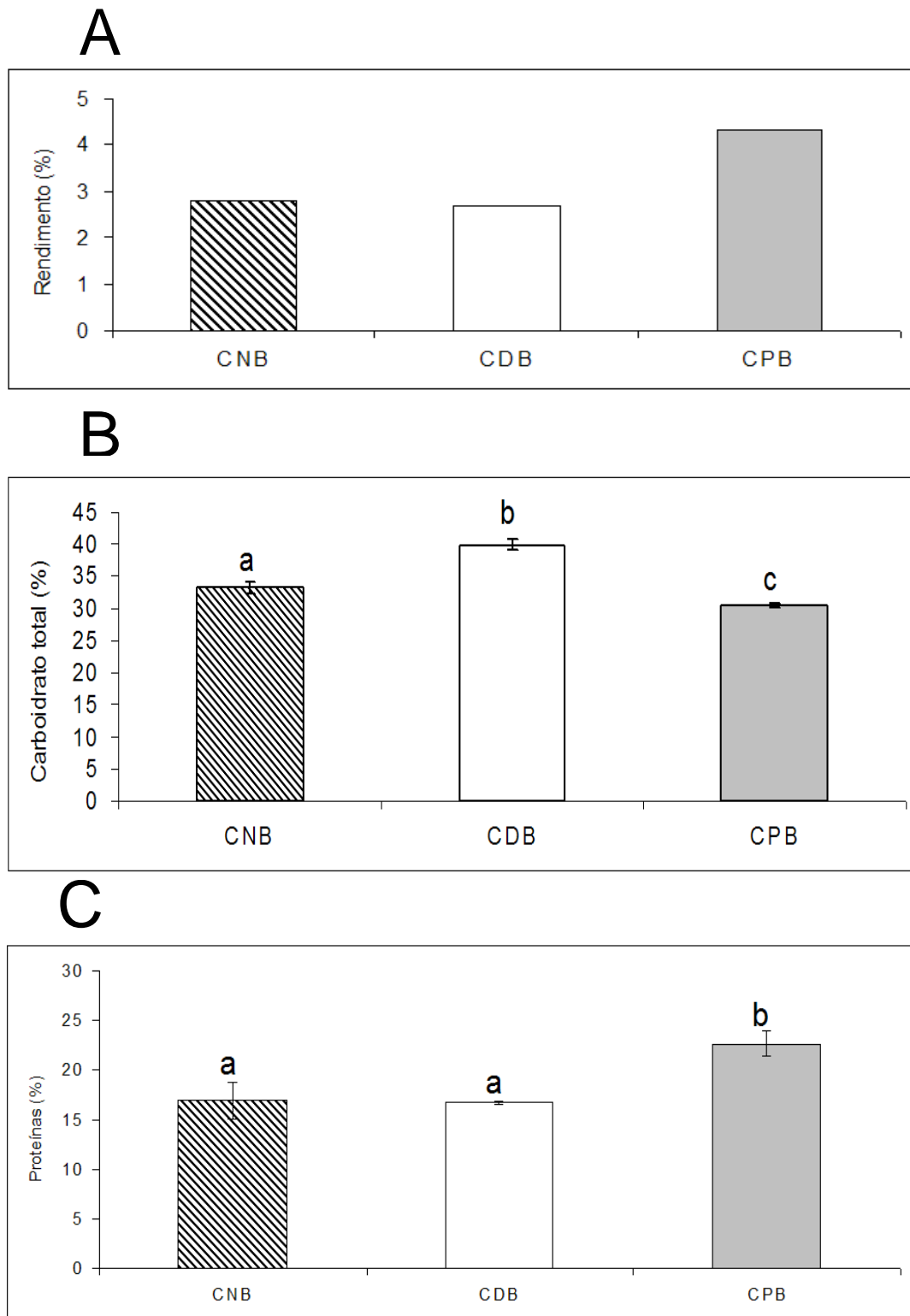


FIGURA 17 - RENDIMENTO PERCENTUAL, TEORES DE AÇÚCAR TOTAL E PROTEÍNAS DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE GRÃOS DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

NOTA: CNB: café natural; CDB: café descascado; CNB: café despulpado. Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística entre as colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

TABELA 3 - RENDIMENTO PERCENTUAL, TEORES DE AÇÚCAR TOTAL E PROTEÍNAS DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE GRÃOS DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

Frações	Extrações	Rendimento* (%)	Carboidrato total*** (%)	Proteína** (%)
CNB	Água a 95 °C, café cereja não processado	2,8	33,2 + 0,9 ^a	16,9 + 1,8 ^a
CDB	Água a 95 °C, café cereja natural	2,7	39,9 + 0,9 ^b	16,7 + 0,1 ^a
CCPB	Água a 95 °C, café cereja descascado	4,3	30,5 + 0,4 ^c	22,7 + 1,2 ^b

FONTE: A autora (2010)

NOTA: CNB: café natural; CDB: café descascado; CNB: café despulpado. Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística entre as colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O conteúdo de carboidratos ($30,5 \pm 0,4\%$ a $39,9 \pm 0,9\%$) foi maior que o de proteínas para todas as frações. Os valores são maiores que os determinados por Nunes e Coimbra (2001) para material de alta massa molar extraído de cafés torrados (29,3% - 31,4%). Thaler (1979) encontrou, para extratos obtidos a partir de grãos torrados de café, conteúdo total de carboidratos entre 20 e 38%, dependendo do grau de extração. Entretanto, Oosterveld; Vorage; Schols (2003) relataram um teor de 66% de carboidratos em extratos obtidos a partir de grãos torrados com água a 90 °C.

Nunes e Coimbra (2002) reportaram valores menores de proteína (8,9-9,7%) em material de alta massa molar obtido a partir de extração aquosa de café arábica torrado. Estes autores usaram o método de Kjeldhal para determinação das proteínas. No presente trabalho, o método colorimétrico de Lowry, modificado por Hartree (1972) foi utilizado. Como compostos fenólicos podem interferir com a quantificação de proteínas no reagente de Folin-Ciocalteu (Hartree, 1972), o conteúdo de proteínas determinado pode estar superestimado. A presença de quantidades altas de compostos fenólicos (32,7% a 42,7%) em material de alta massa molar extraído a partir de café torrado, mesmo depois de diálise em membrana de 12-14 kDa, foi observado por Nunes e Coimbra (2001).

A fração CPB mostrou o maior rendimento (4,3%) e também o maior conteúdo de proteína (22,7%), mas o menor teor de carboidrato total ($30,5 \pm 0,4\%$). O rendimento e o teor de proteínas das frações CNB e CDB obtidas a partir de cafés que não foram submetidos à fermentação foram os mesmos. A remoção da casca

antes da secagem não afetou a quantidade de proteína solúvel extraída a partir de grãos de café processados pelo método natural. Entretanto, a quantidade de proteína extraída a partir destes grãos de café foi menor que nos grãos que sofreram fermentação (CP). Selmar *et al.* (2005a) observaram maior conteúdo de aminoácido livres em café processado pelo método úmido que no correspondente obtido pelo método natural. O maior conteúdo de proteínas na fração CPB poderia causar diferenças nas características sensoriais das bebidas, visto que as proteínas estão correlacionadas com o volume de espuma no café expresso (NUNES *et al.*, 1997).

Considerando o rendimento e o conteúdo de carboidratos, a quantidade de polissacarídeos extraídos relacionados ao peso do pó de café foi de 0,93% para CNB e 1,31% para CPB. Estes valores são menores que aqueles encontrados por Nunes e Coimbra (2002), que encontraram valores entre 2,28% e 2,18% para frações extraídas a partir de cafés do Brasil (CN) e Costa Rica (CP), respectivamente. Os valores determinados por Nunes e Coimbra (2001) para cafés processados pelos métodos despulpado e natural foram muito similares, enquanto que no presente trabalho o café processado pelo método despulpado mostrou o maior rendimento. Entretanto, os autores analisaram cafés oriundos de diferentes regiões enquanto neste trabalho material original idêntico foi usado em paralelo para os diferentes métodos de processamento.

A Figura 18 e a Tabela 4 apresentam a composição monossacarídica das frações CNB, CDB e CPB. Manose foi o polissacarídeo predominante (47,6% – 55,8%), seguido de galactose (26,1% - 27,7%) e arabinose (11,8% -17,4%). Menores percentagens de ramnose, glucose, xilose e ácidos urônicos também foram observadas. Resultados similares foram encontrados por Oosterveld; Vorage; Schols (2003) em frações obtidas por extrações aquosas (90 °C) a partir de grãos torrados de café arábica.

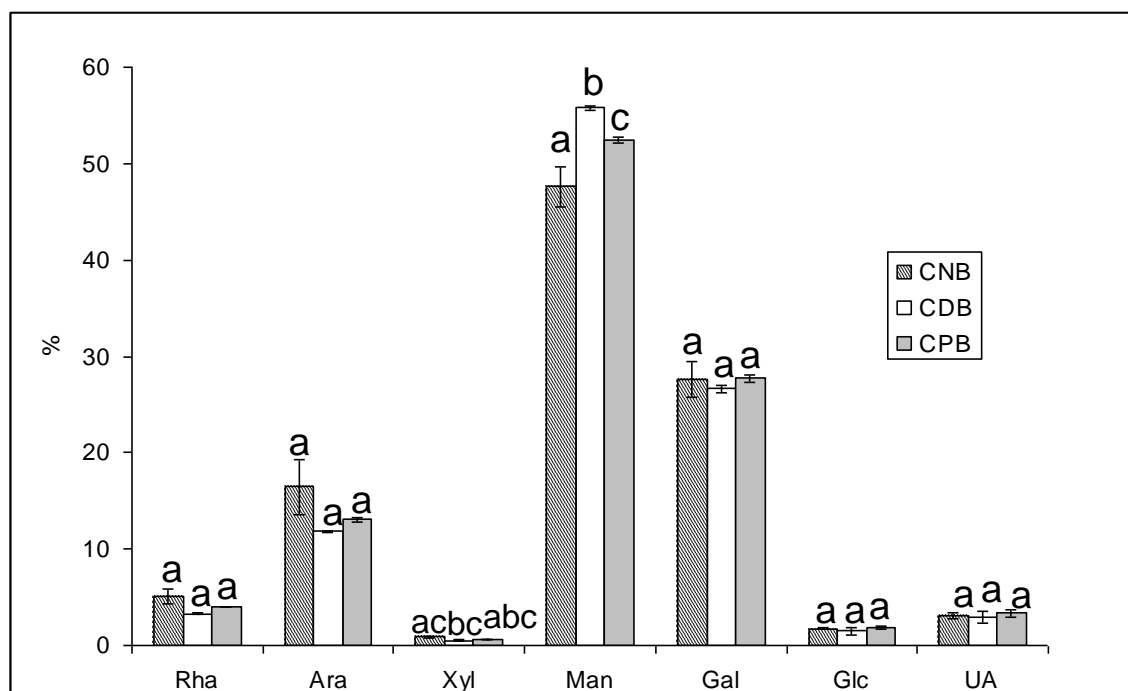


FIGURA 18 - COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE GRÃOS DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

NOTA: CNB: café natural; CDB: café descascado; CPB: café despulpado. Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística entre as colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

TABELA 4 - COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE GRÃOS DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

Fração	Composição Monossacarídica (%)						
	Rha	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	UA
CNB	5,1 + 0,54 ^a	16,2 + 2,07 ^a	0,9 + 0,05 ^{ac}	47,7 + 1,49 ^a	27,8 + 1,35 ^a	1,8 + 0,09 ^a	3,05 + 0,30 ^a
CDB	3,29 + 0,06 ^a	11,86 + 0,11 ^a	0,52 + 0,03 ^{bc}	57,01 + 2,14 ^b	25,60 + 1,79 ^a	1,40 + 0,35 ^a	2,98 + 0,60 ^a
CPB	4,04 + 0,04 ^a	13,50 + 0,79 ^a	0,62 + 0,06 ^{abc}	52,40 + 0,23 ^c	27,40 + 0,57 ^a	1,65 + 0,40 ^a	3,37 + 0,40 ^a

FONTE: A autora (2010)

NOTA: CNB: café natural; CDB: café descascado; CPB: café despulpado. Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística entre as colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

De acordo com a composição monossacarídica, a maioria dos polissacarídeos presentes nas bebidas de café foram (galacto)mananas e, em menor proporção, arabinogalactanas. Em comparação as frações aquosas obtidas a partir dos grãos verdes, estes resultados mostram que a distribuição individual dos polissacarídeos sobre os extratos mudou significativamente e a extratibilidade, principalmente das galactomananas, aumentou após a torrefação.

Alguns trabalhos têm mostrado que o processo de torrefação aumenta a extratibilidade das galactomananas do grão de café e também é responsável pela diminuição da massa molar e do grau de ramificação destes polissacarídeos. Leloup e Liardon (1993) mostraram que a solubilidade das moléculas contendo arabinose, galactose e manose a 95 °C aumentou de ~1g/100 g nos grãos verdes de café para ~ 6g/100 g nos grãos torrados. O aumento da extratibilidade dos polissacarídeos é, em parte, devido à mudanças na microestrutura do grão, como o aumento do volume dos grãos torrados e o surgimento de grandes microporos na parede celular (REDGWALL *et al.*, 2002c). Como resultado, quantidades de polissacarídeos são liberadas e hidrolisadas ou estruturalmente modificadas para uma forma diferente daquela presente no grão verde (LELOUP; LIARDON, 1993; NUNES; COIMBRA, 2001). Oligossacarídeos e monossacarídeos liberados durante a torrefação são convertidos em produtos de degradação ou pirólise, que contribuem para a formação de compostos voláteis responsáveis pelo aroma e sabor do café (TRUGO, 1985; VIANI, 1993; DE MARIA *et al.*, 1994; NUNES *et al.* 1997; STEINHAUSER; OESTREICH-JANSEN; BALTES, 1999; OOSTEVELD; VORAGEN; SCHOLS, 2003).

Em 2001, Bradbury mostrou que a degradação dos polissacarídeos durante a torrefação é seletiva e que a labilidade relativa das unidades de açúcar dos polissacarídeos segue a seguinte ordem: arabinose>galactose>manose>glucose. Posteriormente, Redgwell *et al.* (2002c) mostraram que a torrefação aumenta a solubilidade tanto das arabinogalactanas quanto das (galacto)mananas dos grãos, mas as modificações estruturais que acompanharam estas mudanças são diferentes para cada tipo de polissacarídeo. De acordo com estes autores, as arabinogalactanas do café são especialmente suscetíveis à degradação durante a torrefação enquanto as mananas são apenas moderadamente degradadas. A celulose permanece amplamente não degradada mesmo com mais tempo de torra. Uma diminuição no grau de ramificação bem como na massa molar de arabinogalactanas e galactomananas após a torra também foi observada por

Oosterveld; Vorage; Schols (2003). Segundo Nunes *et al.* (2005), a menor quantidade de unidades de galactose presentes em galactomananas de café torrado pode ser resultado da desramificação das (galacto)mananas durante a torrefação do café, igualmente ao observado para as unidades de arabinose em arabinogalactanas de café (NUNES; COIMBRA, 2001; OOSTERVELD; VORAGE; SCHOLS, 2003).

Além dos efeitos da torrefação no aumento da extratibilidade dos polissacarídeos, é importante destacar que, mesmo depois da torrefação, diferenças qualitativas e quantitativas na composição monossacarídica (somente para Man e Xyl) semelhantes as detectadas nas frações aquosas obtidas a partir dos grãos verdes foram também reveladas das frações CNB, CDB e CPB.

As frações CDB e CPB apresentaram menor percentual de arabinose (arabinogalactana) e maior de manose (galactomananas). Adicionalmente, o teor de acetil das frações CDB (2,67 + 0,02) e CPB (2,68 + 0,02) foi estatisticamente superior ao da fração CNB (2,01 + 0,06). Oosterveld *et al.* (2004) relataram a presença de grupos acetil em galactomananas isoladas por cromatografia preparativa de troca-iônica a partir de um extrato aquoso de grãos verdes de café arábica. Posteriormente, Nunes, Domingues e Coimbra (2005), usando hidrólise enzimática com endo- β -mananase e espectrometria de massa utilizando como fonte de ionização o electrospray (ESI-MS), demonstraram que tanto as mananas obtidas a partir das infusões de cafés torrados como as dos cafés verdes se encontram acetiladas (8 e 11%, respectivamente) na posição O-2 das unidades de manose. Os autores também detectaram unidades duplamente acetiladas e consecutivamente acetiladas nestes polissacarídeos.

Visto que o grupo acetil é um fator estrutural das (galacto)mananas estes resultados juntamente com a composição monossacarídica apontam para uma maior quantidade deste polissacarídeo nas frações CDB e CPB. Além disso, a presença de grupos acetil é mais um fator estrutural que pode influenciar a solubilidade das (galacto)mananas.

Pequenas quantidades de ramnose, xilose e ácidos urônicos foram também observadas em todas as frações. Redgwell *et al.* (2002c) observaram que o ácido glucurônico, componente das arabinogalactanas, foi degradado acentuadamente (70%) depois de torrados.

Considerando que, neste trabalho todas as amostras foram submetidas ao mesmo grau de torra, as diferenças na composição monossacarídica das frações CNB, CDB e CPB sugerem que a composição química das bebidas de café é dependente do método de processamento pós-colheita utilizado.

4.6 Perfil de eluição por Cromatografia de Exclusão Estérica das frações polissacarídicas solúveis nas bebidas de *Coffea arabica* submetido a diferentes métodos de processamento pós-colheita

Além do MALLS e do RI, um detector de ultra-violeta em 280 nm também foi utilizado para análise dos polissacarrídeos presentes nas frações obtidas a partir das bebidas de café. O detector de UV a 280 nm indica a presença de anéis aromáticos presente nas proteínas e/ou compostos fenólicos.

Quando comparadas entre si, todas as frações solúveis presentes nas bebidas mostraram um perfil semelhante por HPSEC (Figura 19). Um pico de alta intensidade, eluído antes de 40 min foi detectado pelo MALLS em todas as frações, indicando um componente de alta massa molar presente em muito baixa concentração. As principais frações eluíram após 52 e 60 min e não foram detectadas pelo MALLS (exceto na fração CPB), indicando uma maior massa molar.

Nas frações CNB, CDB e CPB, um pico eluído após 52 min foi detectado pelo RI e também pelo UV (280 nm), sugerindo a presença de proteínas livres ou ligadas as AGPs.

A presença das AGPs nas frações CNB, CDB e CPB foi confirmada por detecção com o reagente β -glucosil Yariv, o qual tem sido usado para precipitar e purificar AGPs (GANE *et al.*, 1995). Resultados positivos da reação com o reagente Yariv usando o método de difusão radial estão demonstrados na Figura 20. A goma arábica foi utilizada como controle positivo. Halos bem definidos foram observados em todas as frações obtidas a partir das bebidas de café, confirmando a presença de AGPs nos polissacarídeos presentes nas bebidas. Entre as frações analisadas, CNB mostrou um halo mais intenso assim como maior percentual molar de arabinose e galactose. Estes resultados sugerem uma maior quantidade do heteropolímero nesta fração. O maior percentual molar de arabinose em relação à

galactose sugere que as arabinogalactanas presente na fração CNB são menos substituídas.

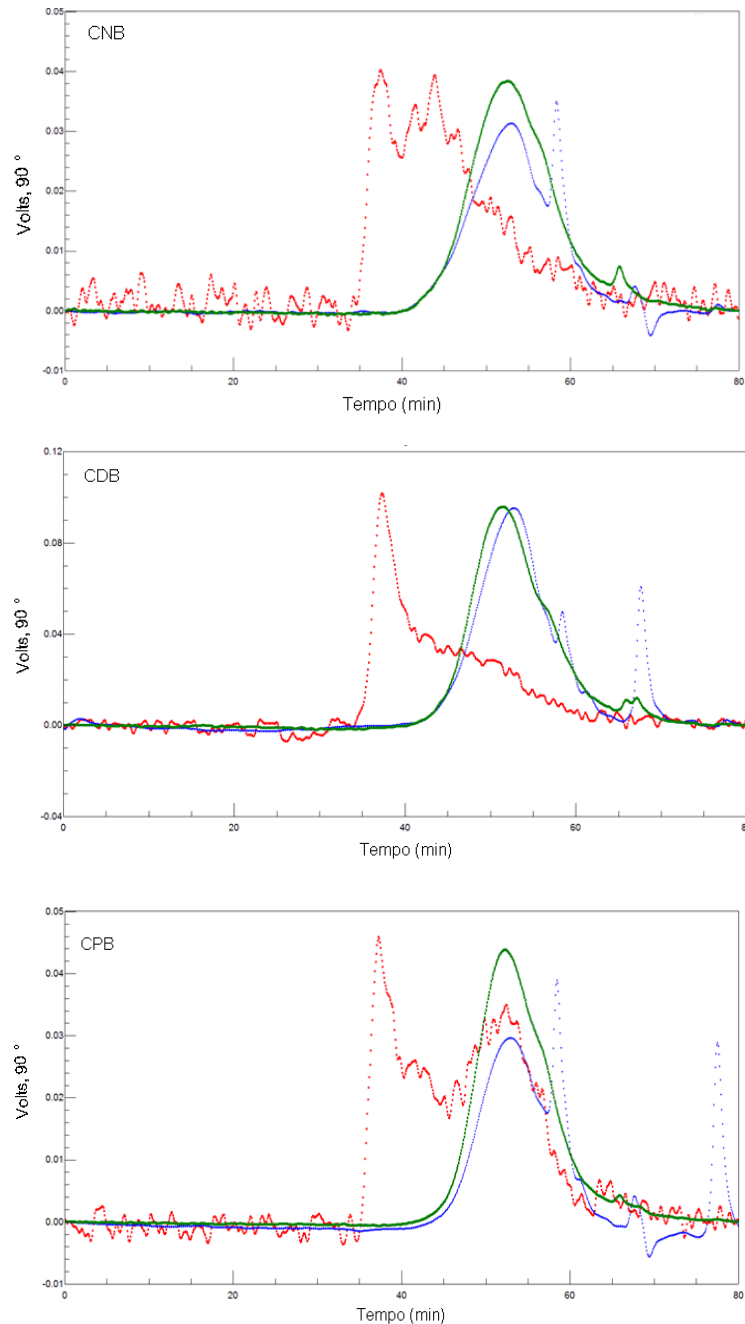


FIGURA 19 - PERFIL DE ELUIÇÃO POR HPSEC DAS FRAÇÕES SOLÚVEIS OBTIDAS DAS BEBIDAS DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Bebidas preparadas a partir dos cafés natural (CNB), descascado (CDB) e despulpado (CPB). Detector de espalhamento de luz laser (ângulo 90°) em vermelho, detector de índice de refração em azul e detector de luz ultravioleta (280 nm) em verde.

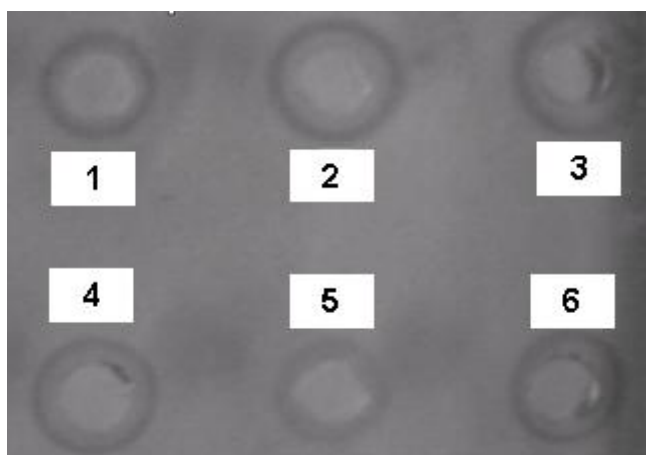


FIGURA 20 - ENSAIO DE DIFUSÃO RADIAL EM GEL DE AGAROSE NA PRESENÇA DE REAGENTE β -GLUCOSIL YARIV PARA DETECÇÃO DE ARABINOGALACTANA-PROTEÍNAS NAS FRAÇÕES ISOLADAS DAS BEBIDAS DE *Coffea arábica*

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Concentrações crescentes de Goma arábica: (1) $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, (2) $20 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, (3) $60 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ e concentrações constantes ($500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) das frações polissacarídicas obtidas a partir das bebidas preparadas a partir dos cafés: (4) natural, (5) descascado e (6) despulpado.

As diferenças observadas nos polissacarídeos podem contribuir para diferenças nas características sensoriais das bebidas analisadas. Especialmente no café, acredita-se que a (galacto)mananas estejam envolvidas no "corpo" da bebida (viscosidade) (EHLERS, 1980, SACHSLEHNER *et al.*, 2000). Estes polissacarídeos são conhecidos por aumentar a viscosidade de soluções e já são, há muito tempo usado na indústria de alimentos com este fim (DEA; MORRISON, 1975; REID; EDWARDS, 1995). No caso das arabinogalactanas, estes polímeros estão envolvidos no desenvolvimento do sabor, pois durante a torrefação as reações entre os açúcares e aminoácidos formam uma série de compostos intermediários que compõem o aroma do café (FISCHER *et al.*, 2001).

4.7 Análises de viscosidade e tensão superficial das bebidas de *Coffea arabica*

Apesar de, até o momento, serem poucos e escassos os dados produzidos a cerca destes tópicos, a viscosidade e a tensão superficial podem desempenhar um papel complementar na determinação das propriedades físico-químicas das bebidas preparadas a partir de cafés processados por diferentes métodos pós-colheita.

A viscosidade das bebidas obtidas por filtração (5% p/p) foi analisada a 60 °C por meio das suas curvas de fluxo (Figura 21). A dependência da tensão e da taxa de cisalhamento demonstrou um comportamento Newtoniano, como encontrado por Sobolik *et al.* (2002) para soluções concentradas de café.

Valores de viscosidade de aproximadamente 0,66 mPas foram detectados em todas as bebidas. Segundo Sachslehner *et al.* (2000) a fração manana em extratos de café é responsável por sua viscosidade. Embora a amostra CPB tenha o maior conteúdo de manose, nenhuma diferença sinificativa foi observada nos valores de viscosidade das bebidas analisadas.

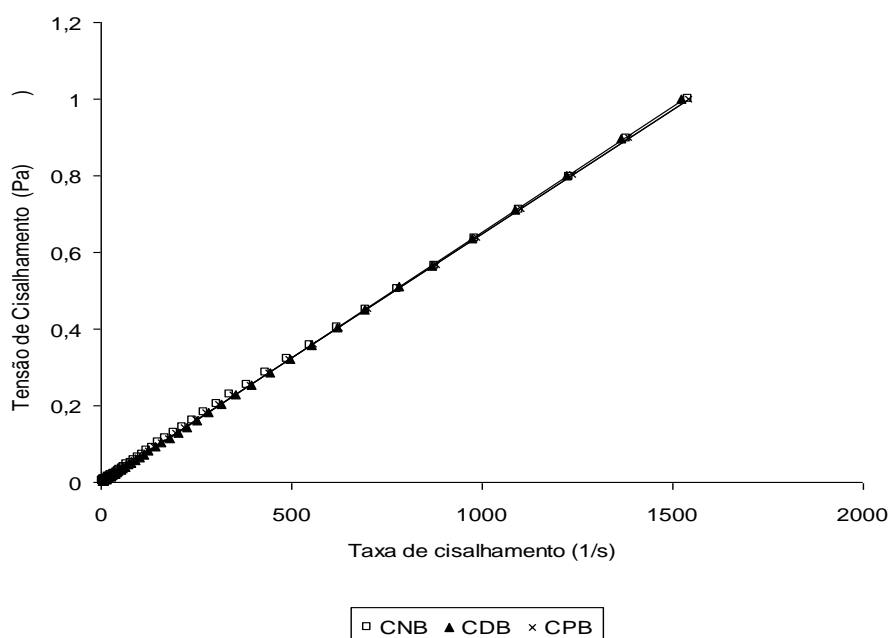


FIGURA 21 - CURVA DE FLUXO DAS BEBIDAS PREPARADAS COM GRÃOS DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Bebidas preparadas a partir dos cafés natural (CNB), descascado (CDB) e despulpado (CPB).

Bebidas de café são sistemas multicomponentes e multifásicos que podem conter componentes que afetam a tensão superficial. A Tabela 5 mostra os valores de tensão superficial das bebidas de café preparadas a partir dos café CN, CD e CP obtidos usando o método da gota pendente. A diminuição da tensão superficial das bebidas de café foi confirmada pela comparação dos seus valores médios com a tensão superficial da água. Os valores experimentais mostraram-se próximos daqueles reportados na literatura para café expresso (NAVARINI *et al.*, 2004).

TABELA 5. VALORES MÉDIOS DE TENSÃO SUPERFICIAL DAS BEBIDAS DE *Coffea arabica* PROVENIENTES DE DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

AMOSTRA	TENSÃO SUPERFICIAL (mNm)
CNB	51,4 ± 0,6 ^a
CDB	51,1 ± 0,2 ^a
CPB	50,5 ± 0,3 ^a
Água destilada	72,8 ± 0,6 ^b

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Bebidas preparadas a partir dos cafés natural (CNB), descascado (CDB) e despulpado (CPB). Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística dentro das colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em um trabalho anterior (NAVARINI *et al.*, 2004), técnicas de pressão máxima da bolha e da gota pendente foram utilizadas com sucesso para caracterizar bebidas de café expresso preparadas seguindo procedimento padrão. Navarini *et al.* (2004), demonstraram que as propriedades tensoativas no café expresso são atribuídas a polissacarídeos e melanoidinas. Alguns estudos também mostraram que a espuma é estabilizada por meio do aumento da viscosidade da fase líquida pelas galactomananas (BLAKENEY *et al.*, 1983, HARRIS *et al.*, 1988). Segundo Nunes e Coimbra (1998), a estabilidade da espuma do café expresso está relacionada à quantidade e ao tipo de polissacarídeo extraído a partir do grão de café torrado (NUNES; COIMBRA, 1998). Contudo, no presente estudo, apesar da composição monossacarídica apontar um menor conteúdo de galactomamanas na bebida CNB, não foram observadas diferenças significativas nos valores de tensão superficial entre as bebidas preparadas a partir dos café CN, CD e CP.

Vale a pena discutir também que, na maioria dos casos, as bebidas são sistemas multifásicos e multicomponentes contendo muitos componentes, além dos polissacarídeos, que podem mostrar propriedades tensoativas isoladamente ou em associação com outros compostos (PERON *et al.*, 2000; EVANS, SHEEHAN, 2002).

4.8 Análise da atividade sequestrante de radical DPPH das bebidas de *Coffea arabica*

A atividade antioxidante da bebida de café resulta da presença de cafeína, trigonelina, ácido cafeico, produtos da reação de Maillard, de compostos voláteis como furanos e pirróis e de compostos polifenólicos, cujos principais representantes são os ácidos clorogênicos (ACG) e flavonóides (HASLAM, 1989; BUDRYN; NEBESNY, 2003).

A atividade antioxidante das bebidas de café CN, CD e CP foi avaliada pelo teste de 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH). Os radicais DPPH, que inicialmente apresentam cor roxa por possuírem elétron livre, perdem esta cor quando um radical hidrogênio doado por uma molécula antioxidante entra em ressonância com a molécula de DPPH, diminuindo-se, assim, a absorvância. O DPPH é um radical estável e com baixa reatividade com a maioria dos compostos. Assim sendo, apenas agentes redutores fortes são capazes de reagir com estes radicais estáveis em um modo estequiométrico (SCHWARS *et al.*, 2001).

Todas as amostras de bebidas de café estudadas apresentaram atividade sequestrante de radicais DPPH dependente da concentração do extrato. A capacidade de sequestrar radicais DPPH não diferiu entre as amostras de café natural e descascado (FIGURA 22), apenas a amostra processada despulpada (CP) apresentou menor porcentagem de inibição de radicais DPPH. Todas as bebidas analisadas apresentaram menor atividade seqüestrante de radicais DPPH que o BHA, independentemente da concentração analisada.

Através de análise gráfica e regressão linear, determinou-se a concentração eficiente de bebida necessária para reduzir à metade a concentração inicial de DPPH (EC_{50}). A efetividade da atividade antioxidante está inversamente correlacionada com os valores de EC_{50} . A TABELA 6 mostra que concentrações aproximadas de 143,0 μg extrato/mL das bebidas de café natural e descascado conseguiram reduzir o DPPH em 50%. No entanto, a concentração necessária de

extrato de bebida preparada a partir do CP necessária para reduzir o DPPH em 50%, é de 194,5 µg extrato/mL, ou seja, sua atividade sequestrante de radicais livres DPPH é menor em relação as outras amostras.

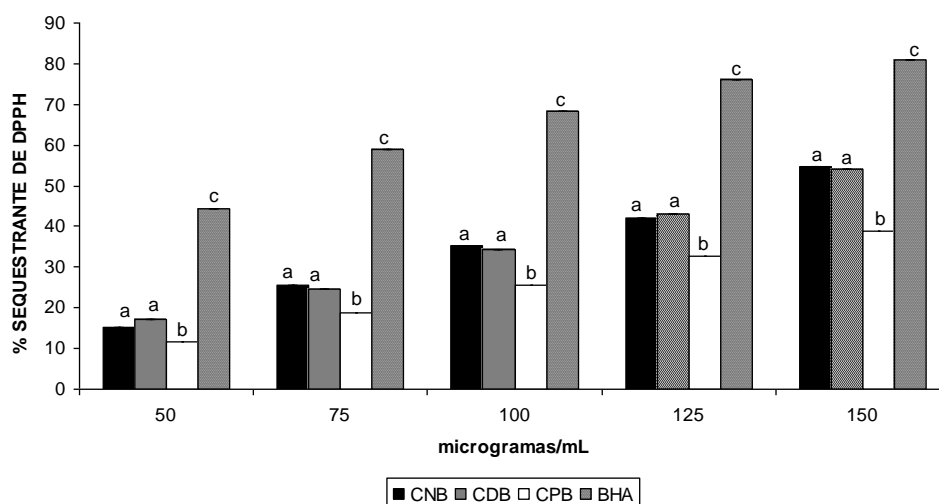


FIGURA 22 - VALORES MÉDIOS DA ATIVIDADE SEQÜESTRANTE DE RADICAIS DPPH DAS BEBIDAS DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Bebidas preparadas a partir dos cafés seco natural (CNB), descascado (CDB) e despulpado (CPB). BHA: Butylated hydroxyanisole. Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística entre as colunas, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

TABELA 6 - VALORES DE EC₅₀ DAS BEBIDAS PREPARADAS COM GRÃOS DE *Coffea arabica* SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PROCESSAMENTO PÓS-COLHEITA

Amostras	EC ₅₀ (µg extrato/mL)
CNB	143,0 ^a
CDB	143,0 ^a
CPB	194,5 ^b
BHA	80,0 ^c

FONTE: A autora (2010)

NOTA: Bebidas preparadas a partir dos cafés seco natural (CNB), descascado (CDB) e despulpado (CPB). BHA: *Butylated hydroxyanisole*. Médias com as mesmas letras superescritas indicam nenhuma significância estatística dentro da coluna, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A influência do método de processamento pós-colheita sobre a composição química do café foi estudada por Scholz (dados não publicados) no IAPAR. Material idêntico ao utilizado no desenvolvimento deste estudo foi analisado pela autora

quanto ao conteúdo de ácidos clorogênicos e taninos. A porcentagem de ácidos clorogênicos nos grãos verdes de café despulpado foi menor (6,70%) que nos cafés descascado (6,85%) e natural (6,93%). Entretanto, esses resultados não foram considerados estatisticamente significativos. Os compostos fenólicos determinados como taninos totais também apresentaram concentrações similares nos três cafés analisados. Entretanto, em comparação aos grãos verdes de café natural, Leloup *et al.* (2004) relataram maiores porcentagens de ácidos clorogênicos no café despulpado.

Além da quantidade de compostos fenólicos presente nos grãos verdes de café, outro fator a ser considerado na determinação da atividade antioxidante é a torrefação, que pode levar à perda destes compostos devido à degradação térmica progressiva. Santos e Batista (2007) estudaram a influência dos métodos de processamento pós-colheita natural e semi-úmido e do grau de torrefação sobre a atividade antioxidante do café arábica. A atividade sequestrante de radicais DPPH das amostras, em três graus de torrefação, variaram de 80-90% a 200 µg/mL e foram dose dependentes. As amostras de café com grau de torrefação claro apresentaram maior atividade sequestrante de DPPH. Entretanto, nenhuma diferença significativa no percentual sequestrante de radicais DPPH foi encontrada como dependente dos métodos de processamento pós-colheita natural e semi-úmido.

Vários autores têm mostrado que a atividade antioxidante de bebidas de café pode ser potencializada com a torrefação (DAGLIA *et al.*, 2000; TOCI; FARAH, TRUGO, 2006; LIMA *et al.*, 2010). Grãos torrados de café apresentaram maior atividade antioxidante quando comparados a grãos verdes que, por sua vez, continham maiores concentrações de antioxidantes polifenóis (DAGLIA *et al.*, 2000; TOCI; FARAH, TRUGO, 2006), indicando que outros constituintes contribuem para a ação sequestrante de radicais livres no café. Assim, a atividade antioxidante da bebida de café pode ser determinada pela contribuição de substâncias antioxidantes de ocorrência natural ou formadas durante a torrefação do café.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

- Os métodos de processamento pós-colheita (natural, semi-úmido e úmido) influenciaram a estrutura molecular (grau de ramificação e/ou de polimerização) e a solubilidade dos polissacarídeos presentes nos grãos verdes de café e em suas respectivas bebidas,
- As arabinogalactanas foram mais solúveis que as mananas nos grãos verdes de café,
- Arabinogalactanas presentes nas bebidas de café são do tipo II (AGPs),
- A solubilidade dos polissacarídeos, principalmente das galactomananas aumentou após a torrefação,
- As bebidas preparadas a partir dos grãos de café processados pelos métodos semi-úmido e úmido apresentaram maior conteúdo de mananas,
- Nenhuma diferença significativa foi encontrada nos valores de viscosidade e tensão superficial das bebidas de café preparadas a partir dos cafés natural, descascado ou despulpado,
- O café despulpado apresentou menor atividade sequestrante de radicais DPPH que os cafés natural ou descascado, sugerindo que agentes redutores, além dos polissacarídeos, também foram influenciados pelo método de processamento pós-colheita.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERSHEIM, P. The walls of growing plant cells. **Scientific American**, v. 232, p. 80-94, 1975.

ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A.G.; O'NEILL, M.A.; SCHOLS, H.A.; VORAGEN, A.G.J. An hypothesis: the same six polysaccharides are components of the primary cell walls of all higher plants. In: VORAGEN, A.G.J.; VISSER, J. (Eds.) **Progress in Biotechnology**. Amsterdam: Elsevier, p. 47-55, 1996. v. 14: Pectins and Pectinases.

ANDERSON, B.A.; SHIMONI, E.; LIARDON, R.; LABUZA, T.P. The diffusion kinetics of carbon dioxide in fresh roasted and ground coffee. **Journal of Food Engineering**. v. 59, p. 71-78, 2003.

ARYA, M.; RAO, L.J.M. An impression of coffee carbohydrates. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 47, n. 1, p.51-67, 2007.

ASPINALL, G. O.; COTTRELL, I. W. Polysaccharides of soybeans. VI. Neutral polysaccharides from cotyledon meal and chemistry of cell wall polysaccharides. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 49, p. 1019–1022, 1971.

ASPINALL, G.O. Gums and mucilages. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, v. 24, p.333-379, 1969.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. Estatísticas: Indicadores da Indústria de café no Brasil – 2009. Disponível em: www.abic.com.br/estatisticas.html. Acesso em: 01/2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C.. **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington: AOAC, 1990.

AVALLONE, S.; GUYOT, B.; FERRIERE, N. M.; GUIRAUD, J. P.; PALACIOS, E. O.; BRILLOUET, J. M. Cell wall polysaccharides of coffee bean mucilage. Histological characterization during fermentation. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 18., 1999, Helsinki, Finland. **Proceedings...** Paris: ASIC, 1999. p. 463-470.

AVALLONE, J.-P.; GUIRAUD, B.; GUYOT, E.; OLGUIN, AND J.-M. BRILLOUET. Polysaccharide Constituents of Coffee-Bean Mucilage, Food Chemistry and Toxicology. **Journal of Food Science**, vol. 65, n. 8, 2000.

AVALLONE, S.; BRILLOUET, J.M.; GUYOT, B.; OLGUIN, E.; GUIRAUD, J.P. Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 191-198, 2002.

AVELINO, J. et al. Vers une identification de cafes-terroir au Honduras. **Plantations, Recherche, Developpement**, Paris, p. 7-16, maio, 2002.

AYUB, R.A.; GEBIELUCA, A.N. Embriogenese somática em genótipos de café (Coffea Arábia) é citocina dependente. **Ci. Agr. Eng.**, v. 9, n. 2, p. 25-30, 2003.

BARBOZA, C. A.; AMAYA, F. L. Analisis de La calidad del grano y de La bebida Del café var. caturra en funcion de la maduracion y tiempo de fermentacion. **Agronomia Tropical**, v. 46, n. 3, p. 289-311, 1996.

BERTHAUD, J.D.; CHARRIER, A. Genetic resources of coffee. In: CLARKE, R.J.; MACRAE, R. (Eds.) **Coffee**. London: Elsevier, 1988, v. 4: Agronomy. p. 1-42.

BLAKENEY, A.B; HARRIS, P.J.; HENRY, R.J.; STONE, B.A. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. **Carbohydrate Research**, v. 113, p. 291-299, 1983.

BOYCE, WILLIAN E.; DIPRIMA, RICHARD C. **Equações diferenciais elementares e problemas de valores de contorno**. 3^a ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1990.

BRADBURY, A.G.W.; HALLIDAY, D.J. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 12., 1987, Paris. **Proceedings...** Paris: ASIC, 1987, pp. 265-269.

BRADBURY, A.G.W.; HALLIDAY, D.J. Chemical structures of green coffee beans polysaccharides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 2, p. 389-392, 1990.

BRADBURY, A.G.W. Chemistry I. Non-volatile compounds 1A: carbohydrates. In: CLARKE R.J.; VITZTHUM, O.G. (Eds.) **Coffee, recent developments**. London: Blackwell Science, 2001. p. 3-6.

BRAND, D. **Detoxificação biológica da casca de café por fungos filamentosos em fermentação no estado sólido**. 101 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Engenharia Química do Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

BUCHALA, A. J.; WILKIE, K. C. B. Total hemicelluloses from *Hordeum vulgare* plants at different stages of maturity. **Phytochemistry**, v. 13, p. 1447-1451, 1974.

BUCKERIDGE, M.S.; PANEGASSI, V.R.; ROCHA, D.C.; DIETRICH, S.M.C. Seed galactomannan in the classification and evolution of the Leguminosae. **Phytochemistry**, v. 38, p. 871-875, 1995.

BUCKERIDGE, M.S.; DIETRICH, S.M.C. Mobilisation of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth. (Leguminosae-Faboideae). **Plant Science**, v. 117, p. 33-43, 1996.

BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M. A. S. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 1/2, p. 141-156, May 2000.

BUDRYN, G., NEBESNY, E. 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, p. 157-163, 2003.

BYTOF, G.; KNOPP, S,E.; SCHIEBERLE, P. Influence or processing on the genertaion of γ -aminobutyric acid in green coffee beans. **European Food Research and Technology**., v. 220, p. 245-250, 2005.

BYTOF, G.; SELMAR, D.; SCHIEBERLE, P. New aspects of coffee processing: how do the different post harvest treatments influence the formation of potential flavour precursors? **Journal of Applied Botany**., v. 74, p. 131-136, 2000.

CAPEK, P.; HRIBALOVA, V.; SVANDOVA, E.; SASINKOVA, V.; MASAROVA, J. Characterization of immunomodulatory polysaccharides from *Salvia officinalis* L. **International Journal of Biological Macromolecules**., v. 33, p. 113-119, 2003.

CARPITA, N.C.; GIBEAUT, D.M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **Plant Journal**, v. 3, p. 1-30, 1993.

CARPITA, N.C. Structure and biogenesis of the cell walls of grasses. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 47, p. 445-471, 1996.

CARPITA, N.; McCANN, M. The Cell Wall. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville, Maryland: American Society of Plant Physiologists, Couries Companies, 2000. p. 52-89.

CHINNAPA, C.C.; WAGNER, B.G. Polen morphology in the genus *Coffea* (Rubiaceae) and its taxonomic significance. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 83, p. 221, 1981.

CIPRIANI, T. R.; MELLINGER, C. G.; GORIN, P. J.; IACOMINI, M. Na arabinogalactan isolated from the medicinal plant *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Naturals Products**, v.67, p. 703-706, 2004.

CLARKE, R.J. Green coffee processing. In: CLIFFORD, M.N. & WILSON, K.C. (Eds.) **Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage**. Westport, Connecticut: Avi Publishing, 1985. p.230-250.

CLIFFORD, M.N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: CLIFFORD M.N.; WILSON, K.C. (Eds), **Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage**. Westport, CN: AVI Publishing Company Inc., 1985. p. 305-374.

COLLINS, P. M.; FERRIER, R. J. **Monosaccharides: their chemistry and their role in natural products**. Chichester: J. Wiley, 1995.

COSGROVE, D.J. Enzymes and other agents that enhance cell wall extensibility. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, p. 391-417, 1999.

CROOKES, P.R.; GRIERSON, D. Ultrastructure of tomato fruit ripening and the role of polygalacturonase isoenzymes in cell wall degradation. **Plant Physiology**, v. 72, n. 4, p. 1088-1093, 1983.

DAGLIA, M.; PAPETTI, A.; GREGOTTI, C.; BERTÈ, F.; GAZZAN, G.; In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1449, 2000.

DARVILL, A. G.; McNEILL, M.; ALBERSHEIM, P. The structure of plant cell walls: VIII. A new pectic polysaccharide. **Plant Physiology**, v. 62, p. 418-422, 1978.

DEA, I.C.M.; CLARK, A.H.; McCLEARY, B.V. Effect of galactose substitution-pattern on the interaction properties of galactomannans. **Carbohydrate Research**, v. 147, p. 275-294, 1986.

DEA, I.C.M.; MORRISON, A. Chemistry and interactions of seed galactomannans. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, v. 31, p. 241-312, 1975.

DECAZY, F.; AVELINO, J.; GUYOT, B.; PERRIOT, J.J.; PINEDA, C.; CILAS, C. Quality of different Honduran coffees in relation to several environments. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 7, p. 2356-2361, 2003.

DEDECCA, D. M. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Typica Cramer. **Bragantia**, Campinas, v. 16, n. 23, p. 315-366, dez. 1957.

DE MARIA, C.A.B.D.; TRUGO, L.C.; MOREIRA, R.F.A.; WERNECK, C.C. Composition of green coffee fractions and their contribution to the volatile profile formed during roasting. **Food Chemistry**, v. 50, p. 141-145, 1994.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 2, p.209-217, 1998.

De VRIES, J. A. Repeating units in the structure of pectin. In: PHILIPS, G. O.; WEDLOCK, D. J.; WILLIAMS, P. A. (Eds.). **Gums and stabilisers from the food industry**. Oxford: IRL Press, 1988, v. 4. p. 25-29.

DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. **Plant Biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1997. p. 205-236.

DIALLO, D.; PAULSEN, B. S.; LILJEBACK, T. H. A.; MICHAELSEN, T. E. The malian medicinal plant *Trichilia emetica*; study on polysaccharides with complement fixing ability. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 8, p. 279-287, 2003.

DUBOIS, M., GILES, K. A., HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A., SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Biochemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

EHLERS, G. M.. Possible applications of enzymes in coffee processing. In: 9TH INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON THE CHEMISTRY OF COFFEE, 9, 1980, Londres (Inglaterra). **Proceedings of...** Paris: ASIC, 1980, p. 267-271.

FARAH, A.; MONTEIRO, M.C.; CALADO, V.; FRANCA, A.S.; TRUGO L.C. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, London, v. 98, n. 2, p. 373-380, 2006.

FERIA-MORALES, A. M. Correlation between sensory evaluation data (taste and mouthfeel) and near infrared spectroscopy analysis. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE (ASIC), 14., 1991, San Francisco. **Proceedings ...** Paris, 1991.

FILISSETTI-COZZI, T.M.C.C.; CARPITA, N.C. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. **Analytical Biochemistry**, v. 197, p. 157-162, 1991.

FINCHER, C. B.; STONE, B. A.; CLARKE, A. E. Arabinogalactan-proteins: structure, biosynthesis and function. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 34, p. 47-70, 1983.

FISCHER, M.; REIMANN, S.; TROVATO, V.; REDGWELL, R.J. Structural aspects of polysaccharides from Arabica coffee. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 18, 1999, Helsinki. **Proceedings of...** Paris: ASIC, 1999. p. 91-94.

FISCHER, M.; REIMANN, S.; TROVATO, V.; REDGWELL, R.J. Polysaccharides of green Arabica and Robusta coffee beans. **Carbohydrate Research**, v. 330, p. 93-101, 2001.

FRANÇA, Q.A.S.; OLIVERIA, L.S.; VITORINA, M.D. Efeito da composição do extrato aquoso de café durante o processo de torrefação. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. Especial Café, p. 37-47, 2001.

FRANK, O.; ZEHENTBAUER, G.; HOFMANN, T. Bioresponse-guided decomposition of roast coffee beverage and identification of key bitter-taste compounds. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 222, n. 4, p. 492-508, 2006.

FRY, S.C. The structure and function of xyloglucan. **Journal of Experimental Botany**, v. 40, p. 1-11, 1988.

GABRIELLI, I.; GATENHOLM, P.; GLASSER, W. G.; JAIN, R. K.; KENNE, L. Separation, characterization and hydrogel-formation of hemicellulose from aspen wood. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p. 367-374, 2000.

GANE, A. M.; CRAIK, D.; MUNRO, S.L.A., HOWLETT, G.J., CLARKE, A.E.; BACIC, A. Structural analysis of the carbohydrate moiety of arabinogalactan-proteins from stigmas and styles of *Nicotiana glauca*. **Carbohydrate Research**, v. 277, p. 67-85, 1995.

GINZ, M. et al. Formation of aliphatic acids by carbohydrate degradation during roasting of coffee. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 211, n. 6, p. 404-410, 2000.

GINZ, M.; ENGELHARDT, U. H. Analysis of bitter fractions of roasted coffee by LC-ESIMS - new chlorogenic acid derivatives. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE (ASIC), 19., 2001, Trieste. **Proceedings...** Paris, 2001.CDROM.

GIORGINI, J.F.; COMOLI, E. Effect of embryo and exogenous GA# on endospermic endo- β -mannanase activity of *Coffea arabica* L. during germination and early seedling growth. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 8, p. 43-49, 1996.

GROOT, S.P.C.; KIELISZEWSKAROKICKA, B; VERMEER, E.; KARSEN, C.M. Gibberellin-induced hydrolysis of endosperm cell walls and gibberellin-deficient tomato seeds prior to radicle protrusion. **Plant**, v. 174, p. 500-504, 1988.

GUYOT, B.; CHRISTOPHE, T.; GUEULE, D. Effect inhibiteur de l'acide cafeyl 5-quinique sur la formation de pyrazines dans les réactions de Maillard. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE (ASIC), 17, 1997, Nairobi. **Proceedings...** Paris, 1997. p. 169-175, 1997.

GUYOT, B. et al., Influence de l'altitude et de l'ombrage sur la qualité des cafés arabica. **Plantations, Recherche, Développement**, Paris, v.3, n.4, p.272-283, 1996.

GUZMÁN, J.M.; HERNANDEZ, G.L. Anatomía de la semilla y germinación de *Turbina corumbosa* (L.) Raf., Convolvulaceae. **Fyton**, v. 42, p. 1-8, 1982.

HALMER, P.; BEWLEY, J.D. Mannanase production by the lettuce endosperm: control by the embryo. **Planta**, v. 144, p.333-340, 1979.

HARRIS, P.J.; BLAKENEY, A.B.; HENRY, R.J.; SOTNE, B.A. Gas chromatographic determination of the monosaccharide composition of plant cell wall preparation. **Journal Association of Official Analytical Chemistry**, v. 71, p. 272-275, 1988.

HARTREE, E. F. Determination of protein. A modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, v. 48, p. 422-427, 1972.

HASLAM, E. **Plant polyphenols: vegetable tannins revisited**. Cambridge: University Press, 1989.

HAYASHI, T. Xyloglucans in the primary cell wall. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v. 40, p. 139-168, 1989.

HESTRIN, S. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine, and its analytical application. **Journal of Biological Chemistry**, v. 180, p. 249-261, 1949.

HUXLEY, P.A. Some factors which can regulate germination and influence viability of coffee seeds. **Proceedings International Seed Testing Association**, v. 29, p.33-60, 1964.

IAPAR. O café no mundo – produção e consumo. Disponível em <http://www.pr.gov.br/iapar/cafe/noticias.asp>. Acesso em: 20/04/2006.

ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso coffee: The chemistry of quality**. London: Academic Press, 1995. p. 5-7.

JACOBSEN; J.V.; PRESSMANN, E.A. Structural study of germination in celery (*Apium graveolens* L.) seed with emphasis on endosperm breakdown. **Planta**, v.144, p. 241-248, 1979.

JARVIS, M.C. The proportion of calcium-bound pectin in plant cell walls. **Planta**, 154, p. 344-346, 1982.

JARVIS, M.C. Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. **Plant Cell Environ**, v. 7, p. 153-164, 1984.

JOSELEAU, J.-P.; CHAMBAT, G.; VIGNON, M.; BARNOUD, F. **Carbohydrate Research**, v. 58, p. 165-175, 1977.

KAKURÁKOVÁ, M.; CAPEK, P.; WELLNER, N.; EBRINGEROVÁ, A. FT-IR study of plant cell model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p. 195-203, 2000.

KARDOSOVÁ, A.; EBRINGEROVÁ, A.; ALFOLDI, J.; NOSAL'OVA, G.; MATAKOVA, T.; HRIBALOVA, V. Structural features and biological activity of an acidic polysaccharide complex from *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, p. 165-176, 2004.

KEEGSTRA, K.; TALMADGE, K.W.; BAUER, W.D.; ALBERSHEIM, P. Structure of plant cell walls. III. A model of the walls of suspension-cultured sycamore cells based on the interconnections of the macro molecular components. **Plant Physiology**, v. 51, p. 188-197, 1973.

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

LAGO, R.C.A. Lipídios em grãos de café. **Boletim do Centro de Processamento de Alimentos – CEPPA**, v. 19, n. 2, p. 318-330, 2001.

LARA-ESTRADA, L.; VAAST, P. **Effects of altitude, shade, yield and fertilization on coffee quality (*Coffea arabica* L. var Caturra) produced in agroforestry systems of the Northern Central Zones of Nicaragua**. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MULTISTRATA AGROFORESTRY SYSTEMS WITH PERENNIAL CROPS: MAKING ECOSYSTEM SERVICES COUNT FOR FARMERS, CONSUMERS AND THE ENVIRONMENT. 2., 2007, Turrialba. **Anais...** Turrialba: CATIE, 2007. Disponível em: http://web.catie.ac.cr/cd_multiestrata/Poster/session1>. Acesso em: 13 dez. 2007.

LELOUP, V.; LIARDON, R. Analytical characterization of coffee carbohydrates. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 15, 1993, Montpellier, Paris. **Proceedings of...** Paris: ASIC, 1993. p. 863-865.

LELOUP, V.; GANCEL, C.; LIARDON, A.; RYTZ, A.; PHITON, A. Impact of wet and dry process on green coffee composition and sensory characteristics. In: INTERNATIONAL CONFERENCE IN COFFEE SCIENCE, 20., 2004, Bangalore. **Resumes...** Bangalore: ASIC, 2004. CD-ROM.

LIMA, A.R.; PEREIRA, R.G.F.A.; ABRAHÃO, S. A., DUARTE, S. M. S.; PAULA, F. B. A. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante *in vitro* do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 20-24, 2010.

MARTINS, M.C.M.; SILVA, C.O.; BUCKERIDGE, M.S.; VIEIRA, C.C.J. Carboidratos na bebida do café preparado sob diferentes processos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n.2, p.382-386, 2005.

MASSINI, R.; NICOLI, M.C.; CASSARÀ, A.; LERICI, C.R. Study on physical and physicochemical changes of coffee beans during roasting. Note 1. **Italian Journal of Food Science**, v. 2, p. 123-130, 1990.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Exeter: Pergamon Press, 1975.

MAZZAFERA, P.; PURCINO, R. P. Post harvest processing methods and physiological alterations in the coffee fruit. In: 20th INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 2004, Bangalore, India. **Proceedings of...** Paris: ASIC, 2004. CD-ROM.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 64, n. 4, p. 547-554, 1999.

McCLEARY, B.V.; MATHESON, N.K. Galactomannan utilization in germinating legume seeds. **Phytochemistry**, v. 15, p. 43-47, 1976.

McNEIL, M.; DARVILL, A. G.; FRY, S. C. Structure and function of the primary cell walls of plants. **Annual Review of Biochemistry**, v. 53, p. 625-663, 1984.

MEDINA, D.M. O endosperma de café como material para estudos citológicos. **Bragantia**, v. 23, p. 179-186, 1964.

MEDINA, D.M. Novas observações citológicas no endosperma de café. **Bragantia**, v. 24, p. 369-384, 1965.

MENDES, A.J.T. Cytological observations in Coffea VI. Embryo and endosperm development in Coffea arabica L. **American Journal of Botany**, v. 28, p. 784-789, 1941.

MENDES, L.C.; MENEZES, H.C.; SILVA, M.A.A.P. Optimization of the roasting of robusta coffee (*C. Canephora conillon*) using acceptability tests and RSM. **Food Quality and Preference**, v. 12, p. 153-162, 2001.

MENEZES, H. C. The relationship between the state of maturity of raw coffee beans and the isomers of caffeoylquinic acid. **Food Chemistry**, v. 50, p. 293-296, 1994.

MIGNÉ, C.; PRENSIER, G.; GRENET, E. Immunogold labelling of xylans and arabinoxylans in the plant cell walls of maize stems. **Biology of the Cell**, v. 91, p. 267-276, 1994.

MOHNEN, D. Biosynthesis of pectins and galactomannans. In: PINTO, B.M.; BARTON, D.H.R.; METH-COHN, O. **Comprehensive natural products chemistry**. Amsterdam: Elsevier Science, 1999. p. 497-527.

MONTAVON, P.; DURUZ, E.; RUMO, G.; PRATZ, G. Evolution of green coffee protein profile with maturation and relationship to coffee cup quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2328-2334, 2003.

MONTAVON, P.; MAURON, A, F.; DURUZ, E. Changes in green coffee protein profiles during roasting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2335-2343, 2003.

NAGAMATO, R.J. **Tratamento de compostos voláteis orgânicos do café pela técnica de incineração catalítica**. 114 f.. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Engenharia Química do Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

NAVARINI, L.; GILLI, R.; GOMBAC, V.; ABATANGELO, A.; BOSCO, M.; TOFFANIN, R. Polysaccharides from hot water extracts of roasted *Coffea arabica* beans: isolation and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 40, p. 71-87, 1999.

NAVARINI, L., FERRARI, M., LIVERANI, F.S., LIGGIERI, L.; RAVERA, F. Dynamic tensiometric characterization of espresso coffee beverage. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 387-393, 2004.

NEBESNY, E.; BUDRYN, G. Evaluation of sensory attributes of coffee brews from robusta coffee roasted under different conditions. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 224, n. 2, p. 159-165, 2006.

NUNES, F.M.; COIMBRA, M.A.; DUARTE, A.C.; DELGADILLO, I. Foamability, Foam Stability, and Chemical Composition of Espresso Coffee as Affected by the Degree of Roast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 3238-3243, 1997.

NUNES, F. M.; COIMBRA, M. A.. Influence of polysaccharide composition in foam stability of espresso coffee. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, p. 283-285. 1998.

NUNES, F. M.; COIMBRA, M. A. Chemical characterization of the high molecular weight material extracted with hot water from green and roasted arabica coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 1773-82, 2001.

NUNES, F.M.; COIMBRA, M.A. Chemical characterization of galactomannans and arabinogalactans from two arabica coffee infusions as affected by the degree of roast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1429-1434, 2002.

NUNES F. M.; DOMINGUES, M.R.; COIMBRA, M.A. Arabinosyl and glucosyl residues as structural features of acetylated galactomannans from green and roasted coffee infusions. **Carbohydrate Research**, v. 340, p. 1689-1698, 2005.

O'NEILL, M.A.; YORK, W.S. The composition and structure of plant primary cell walls. In: ROSE, J.K.C. (Eds.) **The plant cell wall. Annual Plant Review**, v. 8. Florida: Rose CRC Press, 2003. p. 1-54.

OOSTERVELD, A.; HARMSSEN, J.S.; VORAGEN, A.G.J.; SCHOLS, H.A. Extration and characterization of polysaccharides from green and roasted *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, p. 285-296, 2003.

OOSTERVELD, A.; VORAGEN, A.G.J.; SCHOLS, H.A. Effect of roasting on the carbohydrate composition of *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, 183-192, 2003.

OOSTERVELD, A.; COENEN, G.J.; VERMEULEN, N.C.B; VORAGEN, A.G.J.; SCHOLS, H.A. Structural features of acetylated galactomannans from green *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 427-434, 2004.

PÁDUA, F.R.M.; PEREIRA, R.G.F.A.; LOPES, L.M.V.; MELO, W.C.; MORAIS, A.R. DE. Avaliação sensorial e da composição química, durante o armazenamento do café torrado e moído. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Especial Café, v. 5, p. 15-21, 2001.

PEREIRA, R.G.F.A.; BARBOSA, C.R.; LOPES, L.M.V.; CASTRO, D.P. Composição química do café obtido pela mistura em diferentes proporções de arábica (*Coffea arabica* L.). bebida riada e conilon (*Coffea canephora* Pierre). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2000, Poços de Caldas. **Resumos Expandidos**. Brasília: EMBRAPA CAFÉ, 2000, 669-672.

PÉREZ, S; MAZEAU, K.; du PENHOAT, C. H. The three-dimensional structures of the pectic polysaccharides. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 37-55, 2000.

PINHEIRO, J.; BATES, D.; DEBROY, S. **Deepayan Sarkar & R Core team. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models**. R package version 3.1-96, 2009.

POTOMATI, A.; BUCKERIDGE, M. S. Effect of abscisic acid on the mobilisation of galactomannan and embryo development of *Sesbaria marginata* Benth. (Legumionaceae-Faboideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 303-310, 2002.

PULS, J.; SCHUSEIL, J. Chemistry of hemicelluloses: relationship between hemicellulose structure and enzymes required for hydrolysis. In: **Hemicellulose and hemicellulases**. London: Portland Press Research Monograph, 1993. p. 1-27.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2009). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

REDGWELL, R. J.; CURTI, D.; FISCHER, M.; NICOLAS, P.; FAY, L.B. Coffee bean arabinogalactans: acidic polymers covalently linked to protein. **Carbohydrate Research**, v. 337, n. 3, p. 239-253, 2002a.

REDGWELL, R.J.; TROVATO, V.; CURTI, D.; FISCHER, M. Effect of roasting on the carbohydrate composition of *Coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, p. 183-192, 2002b.

REDGWELL, R. J.; TROVATO, V.; CURTI, D.; FISCHER, M. Effect of roasting on degradation and structural features of polysaccharides in Arabica coffee beans. **Carbohydrate Research**, v. 337, n. 7, p. 421-431, 2002c.

REDGWELL, R.J.; CURTI, D.; ROGERS, J.; NICOLAS, P.; FISCHER, M. Changes to the galactose/mannose ratio in galactomannans during coffee bean (*Coffea arabica* L.) development: implications for in vivo modification of galactomannan synthesis. **Planta**, v. 217, p. 316-326, 2003.

REICHER, F.; CORRÊA, J. B. C; GORIN, P. A. J. Location of O-acetyl groups in the acidic D-xylan of *Mimosa scabrella*. A study of O-acetyl group migration. **Carbohydrate Research**., v. 135, p. 129-140, 1984.

REID, J.S.G; MEIER, H. The function of the aleuroma layer during galactomannan mobilization in germinating seeds of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.), crimson clover (*Trifolium incarnatum* L): a correlative biochemical and ultrastructural study. **Planta**, v. 106, p. 44-60, 1972.

REID, J. S. G. Cell wall storage carbohydrate in seeds: biochemistry of the seed "gums and hemicelluloses". **Advances in Botanical Research**, v. 11, n. 1, p. 125-155, 1985.

REID, J.S.G.; EDWARDS, M. Galactomannans and other cell wall storage polysaccharides in seeds. In: STEPHEN M. A. (Ed.) **Food Polysaccharides and their Applications**. New York: CRC/Taylor & Francis, 1995. p. 155-186.

REID, J. S. G. **Plant Biochemistry**. New York: Academic Press, 1997. p. 205-212.

RENA, A.B.; MAESTRI (1984) Fisiologia do cafeeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE FATORES QUE AFETAM A PRODUTIVIDADE DO CAFEIEIRO, 1,1984, Poços de Caldas. **Anais...** São Paulo: POTAFOS, 1986.

RIDLEY, B. L.; O'NELLY, M. A.; MOHNEN, D. Pectins:structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. **Phytochemistry**, v. 57, p. 929-967, 2001.

RIDLEY, B. L.; O'NEILL, M. A.; MOHNEM, D. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. **Phytochemistry**, v. 57, p. 929-967, 2001.

RINANTONIO, V. Coffee. In: **Ullman's Enciclopédia of Industrial Chemistry**. New York, v. 7, p. 315-338. 1987.

ROBERTS, K. Structures at the plant cell surface. **Current Opinions in Cell Biology**, v. 2, p. 920-928, 1990.

ROGERS, W.J.; BÉZARD, G.; DESHAYERS, A.; MEYER, I.; PETIARD, V.; MARRACCINI, P. Biochemical and molecular characterization and expression of the 11S-type storage protein from *Coffea arabica* endosperm. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 37, p. 261-272, 1999a.

ROGERS, W.J.; MICHAUX, J.; BASTIN, M.; BUCHELI, P. Changes to the content of sugar, sugar alcohols, myo-inositol, carboxylic acid and inorganic anions in developing grains from different varieties of Robusta (*Coffea canephora*) and Arabica (*C. Arabica*) coffees. **Plant Science**, v. 149, p. 115-123, 1999b.

SANTOS, M.H; BATISTA, B, L.; DUARTE, S.M.S.; ABREU, C.M.P; GOUVÊA, C.M.C.P. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.

SACHSLEHNER, A., FOIDL, G., FOIDL, N., GÜBITZ, G; HALTRICH, D. Hydrolysis of isolated coffee mannan and coffee extract by mannanases of *Sclerotium rolfsii*. **Journal of Biotechnology**, **23**, v. 80, n. 2, p. 127-34, 2000.

SAEMAN, J. F., MOORE, W. E., MITCHELL, R. L. & MILLET, M. A. Techniques for the determination of pulp constituents by quantitative paper chromatography. **Tappi**, v. 37, p. 336-343, 1954.

SCHENKER, S.; HEINEMANN, C.; HUBER, M.; POMPIZZI, R.; PERREN, R.; ESCHER, F. Impact of roasting temperature profiles on chemical reaction conditions in coffee beans. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE, 19, 2000, Trieste (Italia). **Proceedings...** Trieste: ASIC, 2000a.

SCHENKER, S., HANDSCHIN, S., FREY, B., PERREN, R., ESCHER F. Pore structure of coffee beans affected by roasting conditions. **Journal of Food Science**, v. 65, 452-457, 2000.

SCHINDLER, T.M. The view of primary cell wall. **Z. Pflanzenernähr. Bodenk.**, v. 161, p. 499-508, 1998.

SCHOLS, H. A.; VORAGEN, A. G. J. The chemical structure of pectins. In: SEYMOUR, G. B.; KNOX, J. P. (Eds.). Pectins and their manipulation. Oxford: Blackwell Publishing, 2002. p. 1-29.

SCHOLZ, M.B.J; PRETE, C.E.C.; CRUDJ, E.; MAGRI, T.B. Composição química de variedades de café (*Coffea arabica*). In: I SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2001, Poços de Caldas. **Resumos Expandidos**. Brasília: EMBRAPA CAFÉ, 2001, p. 673-676.

SCHOLZ, M. B. S. Tipologia dos cafés paranaenses: uma abordagem através da análise fatorial múltipla dos aspectos físico-químicos e sensoriais. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

SCHWARS, K.; BERTELSEN, G.; NISSEN, L.R.; GARDNER, P.T.; HEINONEN, M.; HOPIA, A.; HUYNH-BA, T.; LAMBELET, P.; McPHAIL, D.; SKIBSTED, L.H.; TIJBURG, L. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. **European Food Research and Technology**, v. 212, p. 319 -328, 2001.

SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S-E. New aspects of coffee processing. The relation between seed germination and coffee quality. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM SUR LE CAFÉ, 19, 2002, Helsinki. **Proceedings...** Paris: ASIC, 2002.

SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S-E.; BRADBURY, A.; WILKENS, J.; BECKER, R. Biochemical insights into coffee processing: quality and nature of green coffees are interconnected with an active seed metabolism. In: PROCEEDINGS OF THE 20^{ÉME} COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 2004, Bangalore, India. **Proceedings of the 20^{ème} Colloque Scientifique International Sur Le Café**. Paris: Association Scientifique Internationale du Café (ASIC), 2005a.

SELMAR, D.; HUNECKE, D.; JUNGHÄRTCHEN, I.; BREITENSTEIN, B.; BYTOF, G.; KNOPP, S-E. Expression of isocitrate lyase and the abundance of β -tubulin: feasible markers for the estimation of germination processes in differently processed green coffees. In: PROCEEDINGS OF THE "20^{ÉME} COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ": ASIC, Paris, 2005b.

SELMAR, D.; BYTOF, G.; KNOPP, S-E. The Storage of Green Coffee (*Coffea arabica*): Decrease of Viability and Changes of Potential Aroma Precursors. **Annals of Botany**, vol. 101, n. 1, p. 31-38, 2008.

SELVENDRAN, R. R.; O'NEILL, M. A. Isolation and analysis of cell walls from plant material. **Methods of Biochemical Analysis**, v. 32, p. 25-153, 1987.

SHIMIZU, M.M., MAZZAFERA, P. Composition changes of proteins and amino acids in germinating coffee seeds. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, p. 259-265, 2000.

SILVA, C. O. 2006. Formação e deposição da parede celular em sementes de café durante o desenvolvimento da semente. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

SILVA, T. R. G.; CORTELAZZO, A. L.; DIETRICH, M. C. S. Variations in storage compounds during germination and early plantlet growth of *Dalbergia miscolobium*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 10, n. 2, p. 119-124, jul./dez. 1998.

SJÖSTRÖN, E. **Wood Chemistry Fundamentals and Applications**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 1993.

SOBOLÍK, V.; ZITNÝ, R.; TOVCIGRECKO, V.; DELGADO, M.; ALLAF, K. (). Viscosity and electrical conductivity of concentrated solutions of soluble coffee. **Journal of Food Engineering**, v. 51, p. 93-98, 2002.

STEINHAUSER, U.; OESTREICH-JANSEN, S.; BALTES, W. Die Röstkaffee-Flüssigextraktion zur Herstellung von Löslichem Kaffee in Modelversuch II. Seitlicher Verlauf des Überganges von Säuren, Kohlenhydraten sowie 5-Hydroxymethyl-2-furfural (HMF) in den Flüssigextract. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, v. 95, n. 11, p. 447-453, 1999.

STEPHEN, A. M. Other plant polysaccharides. In: ASPINALL, G. O. **The Polysaccharides**, v. 2, New York: Academic Press, 1983. p. 98-180.

SUTHERLAND, P. W.; HALLET, I. C.; MACRAE, E.; FISCHER, M.; REDGWELL, R.J. Cytochemistry and immunolocalisation of polysaccharides and proteoglycans in the endosperm of green Arabica coffee beans. **Protoplasma**, Austria, v. 223, p. 203-211, 2004.

TAKAKI, M.; DIETRICH, S. M. C. Effect of GA3 and light on polysaccharide levels and metabolism in germinating Coffee seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 31, n. 125, p. 1643-1649, 1980.

THALER, H. The chemistry of coffee extraction in relation to polysaccharides. **Food Chemistry**, v. 4, p. 13-22, 1979.

TIMELL, T.E. Wood hemicelluloses. Part I. **Advances Carbohydrate Chemistry**, v. 19, p. 247-302, 1964.

TOOROP, P.E.; BEWLEY, J.D.; HILHORST, H.W.M. Endomannanase isofroms are present in the endosperm and embryo of tomato seeds, but are not essentially linked to the completion of germination. **Planta**, v. 200, p. 153-158, 1996.

TOCI, A.; FARAH, A.; TRUGO, L. C.; **Quimica Nova**, v. 29, p. 965, 2006.

TRUGO, L.C.; Coffee. In: CLARKE R.J.; MACRAE R. (Eds.) **Chemistry**, vol. 1. London: Elsevier, 1985.

VARNER, J. L.; LIN, L. S. Plant cell architecture. **Cell**, v. 56, p. 231-239, 1989.

VIANI, R. In: GARATINNI S. (Ed.), **Caffeine, coffee and health**. New York: Raven Press, 1993. p. 17.

VIANI, R.; HORMAN, I. Thermal degradation of trigonelline. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 39, n. 12, p. 1216-1217, 1974.

VILELA, E.R. Secagem e qualidade do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 187, p. 55-63, 1997.

VORAGEN, A. G. J. *et al.* Pectins. In: STEPHEN, A. M. (Ed.). **Food polysaccharides and their applications**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 287-340.

WALTKINS, J.T.; CANTLIFFE, D.J.; HUBER, D.J.; NELL, T.A. Gibberellic acid stimulated degradation of endosperm in pepper. **Journal of the American Society for Horticultural Science** v. 110, p. 61-65, 1985.

WHISTLER, R. L. **The Carbohydrates: Chemistry and Biochemistry**. London: Academic Press, 1970. p. 447-458.

WHISTLER, R.L. Introduction to Industrial Gums. In: WHISTLER, R.L.; BeMILLER, J.N. **Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 1993. p. 1-19.

WOLFROM, M.L.; PLUNKETT, R.A.; LAYER, M.L. Carbohydrates of the coffee bean I. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 58-65, 1960.

WOLFROM, M. L.; LAYER, M. L.; PATIN, D. L. Carbohydrates of coffee bean. II Isolation and characterization of mannan. **Journal of Organic Chemistry**, v. 26, n. 11, p. 4533-4536, 1961.

WOLFROM, M.L.; PATIN, D.L. Carbohydrates of the coffee bean. IV. An arabinogalactan. **Journal of Organic Chemistry**, v. 30, p. 4060-4063, 1965.
WOLFROM, M.L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydrate. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 2, n. 65, 1963a.

WOLFROM, M.L.; THOMPSON, A. Acetylation. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, v. 2, p. 211, 1963b.

YARIV, J., RAPPORT, M. M.; GRAF, L. The interaction of glycosides and saccharides with antibody to the corresponding phenylazo glycosides, **Biochemistry Journal**, v. 85, p. 383-388, 1962.