

JOSÉ SOARES DE LACERDA

**PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E QUALIDADE DA BEBIDA DE
CAFÉ ARÁBICA EM RAZÃO DA DOSE DE COBRE E ZINCO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

L131p
2014

Lacerda, José Soares de, 1980-
Produção, composição química e qualidade da bebida de
café arábica em razão da dose de cobre e zinco / José Soares de
Lacerda. – Viçosa, MG, 2014.
x, 97f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Hermínia Emília Prieto Martinez.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

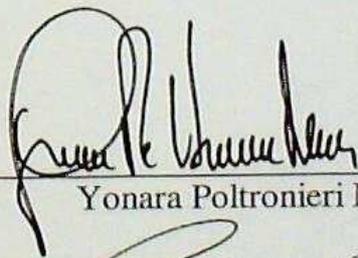
1. Planta - Nutrição. 2. Café - Absorção de zinco. 3. Café
- Absorção de cobre. 4. Café - Qualidade . I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de
Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.73

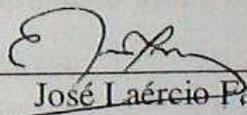
**PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E QUALIDADE DA BEBIDA DE
CAFÉ ARÁBICA EM RAZÃO DA DOSE DE COBRE E ZINCO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

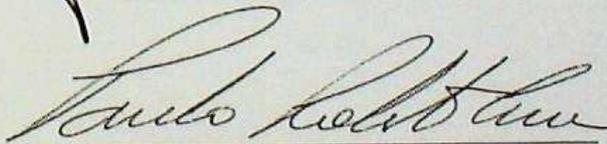
APROVADA: 11 de abril de 2014.



Yonara Poltronieri Neves



José Laércio Favarin



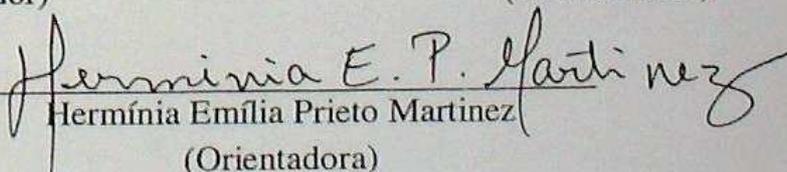
Paulo Roberto Cecon

(Coorientador)



Ricardo Henrique Silva Santos

(Coorientador)



Hermínia Emília Prieto Martinez

(Orientadora)

Aos meus amores eternos.

A minha esposa, Jandilma, pela ajuda, participação, carinho e paciência, por estar sempre presente em todos os momentos importantes da minha vida.

A minha filha Maria Isabel, por ser minha fonte de inspiração e determinação além de ser uma criança tão linda e maravilhosa.

Amor incondicional.

Dedico

Ofereço

Aos meus queridos pais José Mendes de Lacerda (In memoriam) e Josefa Soares de Lacerda, e os meus queridos irmãos José Arimatéia, Maria, Vania, Cinha, Fátima e Raiane.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua infinita bondade e por estar presente em todos os momentos difíceis e importantes da minha vida, me dando confiança e tranquilidade para superar os obstáculos.

A minha família pelo incentivo confiança e carinho.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia do Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realização desse curso de Doutorado.

Ao CNPq, pela concessão de bolsa de estudo.

A minha orientadora, professora Hermínia Prieto Martinez, pela orientação, ensinamento, confiança, paciência e compreensão que serviram de estímulo para minha formação profissional. Não há palavras para expressar a minha gratidão, meu respeito e reconhecimento por todas as oportunidades concedidas durante a realização do meu curso de Doutorado.

Aos professores Coorientadores, Ricardo Silva Santos e Paulo Roberto Cecon, pela orientação, sugestão e ajuda durante a condução desse trabalho.

Ao professor José Laércio Favarin e a pesquisadora Yonara Poltronieri Neves pelas sugestões e participação na banca de defesa de tese.

À Júnia por toda a ajuda na análise do material nos Estados Unidos, ao amigo Glauter pela ajuda na condução do experimento na hora em que mais precisei. E o Jaime por seu apoio nos momentos em que precisei.

Aos colegas de disciplinas Gessimar, Wallas, Leonardo, José Maria, Jandeilson, Jailson, Gelton e a todos que participaram dessa caminhada.

Aos funcionários do setor de Fitotecnia, pela disponibilidade em ajudar durante a execução de todos os trabalhos e pela atenção.

A secretária do Programa de Pós-Graduação, Tatiane Gouvea, pelo convívio e atenção.

A todos os funcionários que compõe o laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, em especial a Domingos e Itamar pela colaboração, ajuda e atenção.

Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma pela concretização deste sonho, o meu carinho e reconhecimento.

BIOGRAFIA

JOSÉ SOARES DE LACERDA - filho de José Mendes de Lacerda e Josefa Soares de Lacerda, nasceu dia 21 de Agosto de 1980, em Mauriti-CE.

Em 26 de Novembro de 2007 graduou-se em Agronomia pelo Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba - CCA/UFPB, em Areia-PB.

Em março de 2008 iniciou o curso de mestrado em Manejo do Solo e Água pelo CCA/UFPB, em Areia-PB, concluindo-o em Fevereiro de 2010.

Em março de 2010, iniciou o curso de Doutorado no Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), submetendo-se à defesa de tese em Abril de 2014.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	3
CAPÍTULO 1	4
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E QUALIDADE DE CAFÉ ARÁBICA SUBMETIDO A DOSES DE ZINCO	4
RESUMO	5
ABSTRACT	6
INTRODUÇÃO	7
MATERIAL E MÉTODOS	8
a) Avaliações	11
Produção	11
b) Estado nutricional das plantas.....	11
c) Qualidade dos Grãos	11
Acidez titulável.....	11
Ácidos orgânicos	11
Potencial hidrogeniônico (pH)	12
Fenóis Totais	12
Ácidos clorogênicos (3- cafeoilquinico, 4-cafeoilquinico e 5-cafeoilquinico)	12
Polifenoloxidase (PPO)	13
Índice de coloração.....	13
Cafeína e trigonelina	13
Proantocianidinas	14
Sacarose.....	14
Glicose, manose, arabinose e galactose.....	15
Potássio lixiviado e condutividade elétrica	15
Teor de água	16
Análise sensorial.....	16
d) Análise estatística	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO	17

a) Produção.....	17
b) Qualidade dos Grãos	17
Acidez titulável.....	19
Ácidos orgânicos	20
Fenóis Totais	23
Polifenoloxidase (PPO)	27
Índice de coloração.....	28
Cafeína e trigonelina	30
Proantocianidinas	33
Sacarose.....	34
Análise sensorial.....	40
CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
CAPÍTULO 2.....	51
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E QUALIDADE DE CAFÉ ARÁBICA SUBMETIDO A DOSES DE COBRE	51
RESUMO	52
ABSTRACT.....	53
INTRODUÇÃO	54
MATERIAL E MÉTODOS	56
a) Avaliações	58
Produção.....	58
b) Estado nutricional das plantas	59
c) Qualidade dos Grãos	59
Acidez Titulável	59
Ácidos orgânicos	60
Potencial hidrogeniônico (pH)	60
Fenóis Totais	60
Ácidos clorogênicos (3- cafeoilquinico, 4-cafeoilquinico e 5-cafeoilquinico)	60
Polifenoloxidase (PPO)	61
Índice de coloração.....	61
Cafeína e trigonelina	61
Proantocianidinas	62

Sacarose.....	62
Glicose, manose, arabinose e galactose.....	63
Potássio lixiviado e condutividade elétrica	63
Teor de água	64
Análise sensorial.....	64
d) Análise estatística	64
RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
a) Produção.....	65
b) Qualidade dos Grãos	66
Ácidos orgânicos	68
Fenóis Totais	71
Polifenoloxidase (PPO)	74
Índice de coloração.....	76
Cafeína e trigonelina	78
Glicose, manose, arabinose e galactose.....	83
Potássio lixiviado e condutividade elétrica	86
Análise sensorial.....	87
CONCLUSÕES	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90

RESUMO

LACERDA, José Soares de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2014. **Produção, composição química e qualidade da bebida de café arábica em razão da dose de cobre e zinco.** Orientadora: Hermínia Emília Prieto Martínez. Coorientadores: Ricardo Henrique Silva Santos, Luiz Fernando Finger e Paulo Roberto Cecon.

O cobre e o zinco embora exigidos em pequenas quantidades pelo cafeeiro são essenciais na constituição e na ativação de varias enzimas, atuando na oxidação de compostos fenólicos, formação de lignina, síntese de aminoácidos, carboidratos e de proteínas. Tais compostos estão diretamente relacionados à qualidade química dos grãos crus do café e por isso podem influenciar na qualidade da bebida. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar a influência do cobre e do zinco na composição química dos grãos e na qualidade de bebida do café. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia (UFV-MG), em sistema hidropônico com os tratamentos arranjados em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, sendo cada parcela constituída por 2 vasos, contendo uma planta de cafeeiro em cada vaso. Os tratamentos consistiram de doses crescentes de cobre (0,05; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e de zinco (0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em solução nutritiva. Foram colhidos grãos maduros de cada tratamento, e após sua secagem e beneficiamento determinaram-se: a atividade da PPO, e os teores de cafeína, trigonelina, fenóis totais, ácido 5-cafeoilquinico (5-CQA) e sacarose. Verificaram-se incrementos lineares com o incremento das doses de Cu, e resposta quadrática para as doses de Zn na atividade da enzima PPO e nos teores de sacarose, respectivamente. Os teores de trigonelina apresentaram resposta quadrática às doses de Cu e de Zn, para os teores de cafeína observou-se efeito quadrático apenas para as doses de Zn. Fenóis totais e 5-CQA sofreram redução segundo função de base raiz quadrada até um ponto de mínimo, com posterior incremento com as doses dos nutrientes em estudo. As doses de Cu e Zn via solução nutritiva influenciaram positivamente a atividade da PPO, os teores de sacarose e trigonelina, e negativamente fenóis totais e 5-CQA, atributos relacionados à qualidade dos grãos de café. Os teores foliares que se relacionaram aos pontos de máximo ou mínimo dos atributos de qualidade estudados variaram entre 4,51 e 5,8 mg kg^{-1} de Cu e 8,0 e 12,7 mg kg^{-1} de Zn.

ABSTRACT

LACERDA, José Soares de, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2014. **Production, chemical composition and beverage quality of Arabica coffee dose rate of copper and zinc.** Advisor: Hermínia Emília Prieto Martínez. Co-Advisors: Ricardo Henrique Silva Santos, Luiz Fernando Finger and Paulo Roberto Cecon.

Copper and zinc although required in small amounts by the coffee are essential in the formation and activation of several enzymes, acting in the oxidation of phenolic compounds, lignin formation, synthesis of amino acids, carbohydrates and proteins. Such compounds are directly related to the chemical quality of raw coffee beans and therefore may influence the quality of the drink. The objective of this study was to evaluate the effect of copper and zinc in the chemical composition of the grains and quality of coffee beverage. The experiment was conducted in the greenhouse of the Department of Plant Science (UFV-MG), hydroponically with treatments arranged in a completely randomized design with three replications, each plot had 2 pots containing one plant in each pot of coffee. Treatments consisted of increasing doses of copper (0.05, 0.1, 0.2, 0.4 and 0.8 mmol L⁻¹) and zinc (0.5, 1.0, 2.0, 3.0 and 4.0 mmol L⁻¹) in nutrient solution. Mature grains from each treatment were collected and after drying and processing were determined: the activity of PPO, and the levels of caffeine, trigonelline, phenolic compounds, 5-caffeoilquinic acid (5-CQA) and sucrose. There were linear increases with increasing levels of Cu and quadratic response for doses of Zn in the PPO enzyme activity and sucrose levels, respectively. The trigonelline levels showed a quadratic response doses of Cu and Zn for the caffeine levels observed quadratic effect only for doses of Zn. Total phenols and 5-CQA were reduced second base square root function to a minimum point, with subsequent increased with doses of nutrients in the study. The levels of Cu and Zn nutrient solutions positively influenced the activity of PPO, the levels of sucrose and trigonelline, and negatively total phenols and 5-CQA, related to the quality of coffee beans attributes. Leaf contents that related to the points of maximum or minimum of the quality attributes studied ranged from 4.51 and 5.8 mg kg⁻¹ Cu 8.0 and 12.7 mg kg⁻¹ Zn.

INTRODUÇÃO GERAL

Dentro do contexto do agronegócio brasileiro, a cafeicultura desempenha importante papel na economia, pois contribui com cerca de 2,9% do valor total das exportações nacionais. Segundo o Conselho dos Exportadores de Café do Brasil (CECAFÉ), em 2013 as exportações de café atingiram 31,22 milhões de sacas de 60 kg, crescimento de 10,2%, em relação a 2012, registrando uma receita de US\$ 5,15 bilhões.

A previsão atual para a produção nacional de café beneficiado é de 48,34 milhões de sacas. O resultado representa uma redução de 1,6%, ou de 0,81 milhões de sacas, quando comparado com a safra anterior (CONAB, 2014).

A cultura do cafeeiro é uma atividade, tanto sob o ponto de vista econômico, quanto pelo aspecto social, que gera emprego e renda, sobretudo quando se consideram as demais atividades ao longo de toda a cadeia produtiva (VIANA, 2003). No Brasil é a segunda bebida mais consumida, atrás apenas da água, com um consumo per capita de 6,4 kg/habitante ano, onde encontra consumidores cada dia mais exigentes em qualidade, com um paladar mais apurado, além de atentos para a produção econômica e ambientalmente sustentável (ABIC, 2012).

Essas exigências por cafés de melhor qualidade, tanto no mercado nacional, quanto no mercado internacional estão sendo responsáveis pela difusão e adoção de novas tecnologias de produção e preparação. Um dos fatores que determinaram o declínio brasileiro no mercado internacional foi a falta de qualidade do produto nacional (MARTINS et al., 2005).

A qualidade da bebida é avaliada pelo aroma, corpo, acidez e suavidade, cor e aspecto homogêneos. Baseado nessas características, o café é dividido em sete classes decrescentes de qualidade: bebida estritamente mole, mole, apenas mole, duro, riado, rio e rio zona (POLTRONIERI et al., 2011).

A qualidade dos produtos agrícolas não é facilmente definida ou medida, como se faz para a produção. O padrão de qualidade depende do propósito pelo qual a planta ou parte dela é utilizada (MENGEL e KIRKBY, 1987). No caso do cafeeiro, o seu estado nutricional certamente correlaciona-se com a qualidade da bebida, pois interfere na produção e proporção de compostos químicos desejáveis ou indesejáveis nos grãos. Desse modo, compreender o efeito dos nutrientes sobre a qualidade do café é necessário pois segundo Silva et al. (2002) a melhoria da qualidade do grão tem muita influência

no preço final de mercado.

No entanto, a composição química dos grãos é influenciada por fatores genéticos, ambientais e culturais, pelos métodos de colheita, processamento, armazenamento, torração e moagem, que afetam diretamente a qualidade da bebida do café (MENDONÇA et al. 2005). Em se tratando das condições de manejo, as adubações e o estado nutricional da planta podem influenciar tanto na produção, quanto na composição do grão cru e, conseqüentemente, a qualidade da bebida.

Embora o café seja um dos produtos agrícolas mais estudados no Brasil, e um dos principais produtos da pauta de exportação brasileira, seu valor comercial depende da qualidade e entre os fatores que precisam ser pesquisados está a relação entre a nutrição e a qualidade do grão e da bebida do café.

Apesar de importante, há pouca informação científica sobre a influência dos nutrientes na qualidade dos grãos produzidos, limitando-se às referências, a doses de potássio na produção e qualidade do grão de café (SILVA et al. 1999; SILVA et al. 2002), diferentes fontes e doses de N sobre a produção e qualidade do café (MALTA et al. 2003), nutrição nitrogenada e potássica afetando a qualidade da bebida (CLEMENTE, 2010).

Em relação aos micronutrientes e sua influencia na formação de compostos nos grãos e na qualidade da bebida do café, pouca importância tem sido dada, limitando-se suas referências à utilização de doses de zinco na qualidade da bebida do café (POLTRONIERI et al., 2011; MARTINEZ et al., 2013).

Mediante o exposto, percebe-se a necessidade de se pesquisar a relação entre a nutrição mineral com micronutrientes e a qualidade da bebida do café, entre os quais o cobre e o zinco, pois esses nutrientes já foram estudados no crescimento e na produção do cafeeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIC – **Associação Brasileira da Indústria de Café**. Tendências de consumo de café. viii, 2010. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/media/EST_PESQTendenciasConsumo2010.pdf>. Acesso em: 16 Abr. 2012.

CLEMENTE, J.M. **Nutrição nitrogenada e potássica afetando crescimento, produção, composição química e qualidade da bebida de Coffea arabica**. Viçosa: UFV, 2010. 54p. (Dissertação em Fitotecnia)

CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento da Safra Brasileira de Café: safra 2014 primeira estimativa, disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_01_17_09_29_46_boletim_cafe_-_original_normalizado.pdf> Acesso em: 10 Mar. 2014.

MALTA, M.R.; FURTINI NETO, A.E.; ALVES, J.D.; GUIMARÃES, P.T.G. Absorção e translocação de zinco aplicado via foliar em mudas de cafeeiro. **Revista Ceres**, v.50, n.288, p.251-259. 2003.

MARTINEZ, H. E. P.; POLTRONIERI, Y.; FARAH, A.; PERRONE, D. Zinc supplementation, production and quality of coffee beans. **Revista Ceres**, v. 60, p. 293-299, 2013.

MARTINS, D.R.; CAMARGO, O.A.; BATAGLIA, O.C. Qualidade do grão e da bebida em cafeeiros tratados com lodo de esgoto. **Bragantia**, v.64, n.1, p.115-126. 2005.

MENDONÇA, L.M.V.L.; PEREIRA, R.G.F.A.; MENDES, A.N.G. Parâmetros bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arábica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p. 239-243. 2005.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. 4.ed. Berna: International Potash Institute, 1987. 687p.

POLTRONIERI, Y.; MARTINEZ, H.E.P.; CECON, P.R. Effect of zinc and its form of supply on production and quality of coffee beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 13 p. 2431–2436. 2011.

SILVA, E.B.; NOGUEIRA, F.D.; GUIMARAES, P.T.G.; CHAGAS, S.J.R.; COSTA, L.; FONTES E. Doses de potássio na produção e qualidade do grão de café beneficiado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 335–345. 1999.

SILVA, E.B.; NOGUEIRA, F.D.; GUIMARÃES, P.T.G. Qualidade dos grãos de café em função de doses de potássio. **Acta Scientiarum**, v. 24, p. 1291–1297. 2002.

VIANA, J.J.S. **Aplicação de um modelo mundial para cafés diferenciados por origem**. Viçosa: UFV, 2003. 110p. (Doutorado em Economia Aplicada)

CAPÍTULO 1

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E QUALIDADE DE CAFÉ ARÁBICA SUBMETIDO A DOSES DE ZINCO

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E QUALIDADE DE CAFÉ ARÁBICA SUBMETIDO A DOSES DE ZINCO

RESUMO

O zinco embora exigido em pequenas quantidades pelo cafeeiro é essencial na constituição e na ativação de varias enzimas, atuando na síntese de aminoácidos, carboidratos e de proteínas. Tais compostos estão diretamente relacionados à qualidade química dos grãos crus de café e, por isso, podem influenciar na qualidade da bebida. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar a influência do Zn na composição química dos grãos e na qualidade de bebida do café. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia (UFV-MG), em sistema hidropônico com os tratamentos arranjados em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, sendo cada parcela constituída por 2 vasos, contendo uma planta de cafeeiro em cada vaso. Os tratamentos consistiram de doses crescentes de Zn (0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em solução nutritiva, mais um tratamento adicional que recebeu solução nutritiva contendo 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn via solução, e 12 pulverizações foliares com sulfato de Zn a 0,2%. Foram colhidos os grãos maduros de cada tratamento, e após sua secagem e beneficiamento determinaram-se: Acidez total titulável (ATT), fenóis totais, ácido 5-cafeoilquinico (5-CQA), a atividade da polifenoloxidase (PPO), os teores de sacarose, cafeína, trigonelina, K lixiviado, condutividade elétrica e análise sensorial. Verificaram-se respostas quadráticas para as doses de Zn nos dois anos de avaliação na ATT, atividade da enzima PPO, nos teores de sacarose e cafeína. Os teores de trigonelina no primeiro ano apresentaram resposta segundo a função raiz quadrada e no segundo ano resposta quadrática às doses de Zn. Fenóis totais e 5-CQA sofreram redução segundo a função raiz quadrada até um ponto de mínimo, com posterior incremento. As doses de Zn via solução nutritiva e pulverização foliar influenciaram positivamente a atividade da PPO, os teores de sacarose e trigonelina, e negativamente fenóis totais e 5-CQA, atributos relacionados à qualidade dos grãos de café. Os teores foliares que se relacionaram aos pontos de máximo ou mínimo dos atributos de qualidade estudados variaram entre 8,0 e 12,7 mg kg^{-1} de Zn.

PALAVRAS-CHAVE: Coffea arabica L., qualidade de café, zinco

CHEMICAL COMPOSITION AND QUALITY OF COFFEE ARABIC SUBMITTED TO DOSES OF ZINC

ABSTRACT

Zinc although required in small amounts by the coffee is essential in the formation and activation of several enzymes, acting in the synthesis of amino acids, carbohydrates and proteins. Such compounds are directly related to the chemical quality of raw coffee beans and therefore may influence the quality of the drink. The objective of this study was to evaluate the influence of Zn on the chemical composition of the grains and quality of coffee beverage. The experiment was conducted in the greenhouse of the Department of Plant Science (UFV-MG), hydroponically with treatments arranged in a completely randomized design with three replications, each plot had 2 pots containing one plant of coffee in each. Treatments consisted of increasing doses of zinc (0.5, 1.0; 2.0, 3.0 and 4.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) in nutrient solution, and an additional treatment that received nutrient solution containing 0.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of Zn via the nutrient solution, and 12 foliar applications of 0.2% zinc sulfate. Mature grains from each treatment were collected and after drying and processing were determined: total titratable acidity (TTA), total phenols, 5-caffeoilquinic acid (5-CQA), the activity of polyphenol oxidase (PPO), the levels of sucrose, caffeine, trigonelline, leached K, electrical conductivity and analyze sensory. There were quadratic responses for doses of Zn in the two years of evaluation in ATT, PPO enzyme activity, the levels of sucrose and cafein. The contents of trigonelline in the first year showed response according to a root square function and in the second year according to a quadratic function to the doses of Zn. Total phenols and 5-CQA were reduced following a root square function until a minimum point, with subsequent rise with doses of Zn. The treatment that supplied Zn in nutrient solutions plus foliar spraying positively influenced the activity of PPO, the levels of sucrose and trigonelline, and negatively total phenols and 5-CQA, all those related to the quality of coffee beans. Leaf contents when the maximum or minimum points were attained for the quality attributes ranged from 8.0 and 12.7 mg kg^{-1} Zn.

Key words: *Coffea arabica* L., quality coffee, zinc

INTRODUÇÃO

A composição química dos grãos do café como também as suas variações qualitativas e quantitativas, são analisadas por diversos pesquisadores, em função das espécies estudadas, dos efeitos isolados do processamento, do ambiente de cultivo e do manejo (AVELINO et al., 2005; CAMPA et al., 2005; DUARTE et al., 2010; KNOPP et al., 2006; MONTEIRO; FARAH, 2012; RIBEIRO, 2013). Dentre os componentes físico-químicos do grão cru do café, os isômeros do ácido clorogênico (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA), cafeína, trigonelina, fenóis e sacarose, mostram ter estreita relação com a qualidade sensorial da bebida e sua classificação (FARAH et al., 2006; FRANCA et al., 2005; SILVA et al., 2005).

Outra característica bioquímica do grão que apresenta correlação com a qualidade final do café é a atividade da enzima cúprica polifenoloxidase, pois de acordo com vários autores, esta se mostra diretamente relacionada à qualidade sensorial da bebida (CARVALHO et al., 1994; MAZZAFERA et al., 2002; SILVA et al., 2009).

Segundo Carvalho et al. (1994), cafés de melhor qualidade de bebida possuem elevada atividade enzimática da polifenoloxidase e elevado índice de coloração. Esses mesmos autores verificaram que as variações da atividade enzimática da polifenoloxidase, permitem separar as classes de bebida, mostrando para o café “riado e rio” atividades inferiores a $55,99 \text{ U g}^{-1}$ de amostra; nos cafés de bebida “dura” atividades entre $55,99$ e $62,99 \text{ U g}^{-1}$ de amostra; nos cafés de bebida “mole” atividades entre $62,99$ e $67,66 \text{ U g}^{-1}$ de amostra e nos cafés de bebida “estritamente mole” atividades superiores a $67,66 \text{ U g}^{-1}$ de amostra, constatando assim um aumento significativo na atividade da polifenoloxidase à medida que o café se apresenta com melhor qualidade.

Dentre as condições de manejo, a adubação e a nutrição da planta podem influenciar a composição química do grão, o qual, após torrado, produz compostos que conferem características de aroma e sabor ao café. Essa influencia da nutrição mineral foi verificada em vários trabalhos de pesquisa para nitrogênio e potássio (SILVA et al., 1999, SILVA et al., 2002; MALTA et al., 2003; CLEMENTE, 2010).

Em relação aos micronutrientes e sua influencia na formação de compostos nos grãos e na qualidade da bebida do café, poucos são os estudos, limitando-se ao efeito do Zn na qualidade da bebida do café (POLTRONIERI et al. 2011; MARTINEZ et al. 2013).

Mediante o exposto, e em virtude da busca pela produção de cafés de melhor qualidade percebe-se a necessidade de se pesquisar a relação da nutrição mineral com micronutrientes com a qualidade da bebida do café, entre os quais o Zn. O Zn está ligado ao metabolismo do nitrogênio nas plantas e atua na síntese de aminoácidos, carboidratos e síntese de proteínas, um dos principais componentes de membranas (proteínas periféricas e integrais) (PRADO, 2008; MENGEL e KIRBY, 2001).

Contudo, são poucos os relatos sobre a relação entre o Zn com a qualidade dos grãos de café, Poltronieri et al. (2011) e Martinez et al. (2013) verificaram que esse micronutriente, independentemente da forma de fornecimento, influencia positivamente a produção e a qualidade de grãos de café, caracterizada pela condutividade elétrica e o potássio lixiviado dos grãos.

No contexto destas considerações, este estudo teve como objetivo avaliar a influência do Zn sobre composição química dos grãos de café, qualidade da bebida e produção de grãos.

MATERIAL E MÉTODOS

Sistema de cultivo e condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situada no município de Viçosa, MG, localizada nas coordenadas 20° 45'S sul e 42° 51'O, com altitude média de 651 m, no período de agosto de 2010 a agosto de 2013. A temperatura média anual durante o período de condução do experimento foi de 22,4 °C, com temperatura máxima de 45 °C e mínima de 12 °C, dentro da casa de vegetação.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições, sendo cada parcela constituída por 2 vasos, contendo cada um, uma planta, totalizando 72 vasos.

Os tratamentos consistiram de doses de Zn em solução nutritiva. No primeiro ano de avaliação empregaram-se as doses de 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn. No segundo ano de avaliação as doses foram ajustadas para 0,2; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn. A mudança na dose de Zn foi feita em virtude das plantas mostrarem alta produção na menor dose e nas demais doses apresentarem toxidez, ou seja, redução na produção, com isso reduziu-se o valor da dose para poder-se encontrar o ponto de

mínimo com a menor dose. Nos dois anos houve um tratamento adicional em que se forneceu $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn via solução nutritiva, mais pulverizações foliares mensais, à base de sulfato de Zn nas concentrações de 0,2%, sendo aplicado um total de 12 pulverizações a cada ano de cultivo. Os demais nutrientes foram fornecidos nas concentrações preconizadas por Clemente et al (2013).

Foram utilizadas mudas enxertadas em fenda cheia, de café da variedade Catuaí Vermelho IAC 99. Foi utilizada a própria variedade IAC 99 como porta enxerto (cavalo) e enxerto (cavaleiro). Para o enxerto foram utilizados somente os ramos plagiotrópicos. O processo de enxertia foi feito com intuito de reduzir a fase vegetativa das plantas, favorecendo com isso uma frutificação precoce. Na fase pré-experimental as plantas foram conduzidas em recipientes retangulares de polietileno rígido (30 cm x 74 cm x 14 cm), com volume de 25 litros com solução nutritiva de 0,5 força e aeração forçada.

Posteriormente as mudas foram transplantadas para os vasos plásticos com capacidade de 11 L, contendo uma muda por vaso, preenchidos com areia lavada e uma camada de 2 cm de argila expandida no fundo recoberta por tela de sombrite de 50%, conforme Figura 1. No segundo ano de condução as plantas foram transferidas para vasos de 20 L de capacidade preparados da mesma forma descrita anteriormente. Os substratos (areia e argila expandida) utilizados, foram lavados com HCl a 18% e ácido oxálico a 1%, água e água desionizada conforme descrito por Martinez e Clemente (2011).

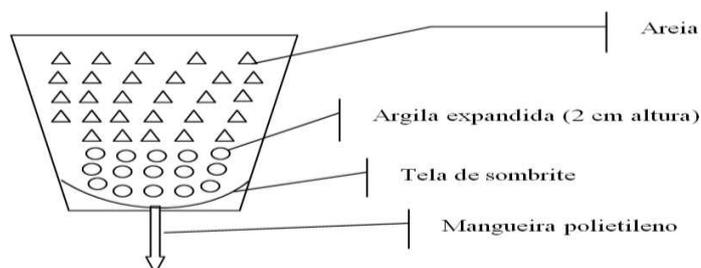


Figura 1 – Detalhamento do vaso que foi utilizado no experimento. Fonte: Silva Filho (2011).

O sistema hidropônico utilizado foi o de três fases circulante. As plantas receberam diariamente aplicações de solução nutritiva no volume de 9,6 litros/vaso, cujo excesso foi drenado para um reservatório de descarga de 50 L. Esse reservatório foi equipado com eletrobomba que recalrava a solução drenada para os vasos, conforme a

Figura 2. O controle da circulação da solução nutritiva foi realizado com o auxílio de um temporizador analógico programado para acionar a eletrobomba durante 1 minuto com vazão de 1,6 L/min por vaso e intervalos de 3 horas entre irrigações durante o dia. À noite o sistema permanecia desligado.

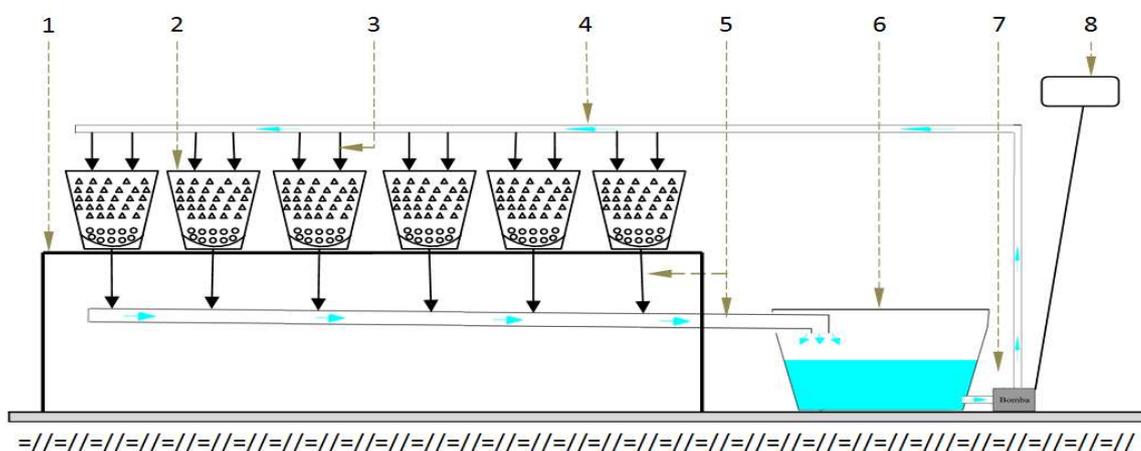


Figura 2 – Perfil do sistema hidropônico circulante de 3 fases. Legenda: 1- bancada do experimento; 2- vaso cônico; 3- linha secundária de irrigação (microtubos); 4- linha principal de irrigação (mangueira de 16 mm PN30); 5- tubulação de descarga; 6- reservatório; 7- eletrobomba 34W; 8- temporizador. Fonte: Silva Filho (2011).

A solução nutritiva continha 6; 0,5; 3,23; 2,25; 1 e 1,75 mmol L⁻¹ de N, P, K, Ca, Mg, S e 40; 12; 23; 0,5 e 0,3 μmol L⁻¹ de Fe, Mn, B, Cu e Mo, respectivamente, conforme descrito por Clemente et al (2013). O volume da solução foi monitorado diariamente, e completado com água até o volume inicial de 50 L em cada reservatório. O pH da solução foi monitorado e mantido entre 5,5 e 6,0 mediante ajustes com a adição de HCl ou NaOH. Para determinar o momento da troca da solução nutritiva foram utilizados os valores de condutividade elétrica (CE), procedendo-se a troca ao verificar-se uma depleção correspondente a 30% da CE inicial. Foram utilizados os seguintes sais: KH₂PO₄, MgSO₄, K₂SO₄, KNO₃, Ca(NO₃)₂, NaNO₃, CuSO₄, ZnSO₄, MnCl₂, H₃BO₃, (NH₄)₆Mo₇, FeCl₂ e Na₂EDTA. A solução nutritiva foi contida em 12 reservatórios de plástico de 50 L, segundo os tratamentos e cada reservatório forneceu solução a seis vasos com uma planta cada.

As soluções estoque de macronutrientes foram purificadas pelo método da APDC (amoniopirrolidinaditiocarbamato) e a solução de FeCl₃ usando-se a resina trocadora específica para Zn (Dowex 1X-8 de 50 mesh) conforme descrito por Martinez e Clemente (2011).

Avaliações

a) Produção

Os frutos foram colhidos individualmente no estágio de maturação cereja. Foram avaliadas as produções das duas plantas da parcela, sendo feita a contagem dos frutos de cada planta, sendo esse valor convertido em produção por planta (frutos/planta).

Posteriormente os frutos foram colocados para secar sobre leito de papel toalha, sobre bancadas, em casa de vegetação até atingirem 11 a 12% de umidade. Após a secagem, foram descascados obtendo-se assim os grãos beneficiados. Os grãos beneficiados foram pesados, obtendo-se o peso das duas plantas da parcela, sendo esse valor convertido em produção por planta (g/planta), e posteriormente foram feitas as análises químicas.

b) Estado nutricional das plantas

O estado nutricional das plantas foi avaliado no início do pleno florescimento da cultura. Para realizar análise química foliar foram coletadas as folhas do terceiro ou quarto nó, contado do ápice para a base, dos ramos plagiotrópicos em floração. O material amostrado foi lavado em água desionizada e seco em estufa de ventilação forçada de ar a 70 °C, por 72 horas. Em seguida o material foi moído em moinho tipo Wiley equipado com peneira de 20 mesh. Os teores de Zn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica conforme método adaptado de Malavolta et al. (1997).

c) Qualidade dos Grãos

Acidez titulável

A acidez titulável foi determinada pelo método descrito pela AOAC (1990). Amostras de 1 g de café cru moído receberam 25 mL de água destilada e foram colocadas em agitador elétrico por 1 hora a 150 rpm, em seguida procedeu-se a filtragem em papel de filtro. Uma alíquota de 5 mL da solução filtrada foi adicionada a um erlenmeyer junto a 50 mL de água destilada e 3 gotas de fenolftaleína (1%), procedendo-se a titulação com NaOH (0,1 mol L⁻¹). O resultado foi expresso em mL de NaOH 0,1 (mol/L)/100g de amostra.

Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos (málico, tartárico e cítrico) foram determinados de acordo com Scherer et al., (2012). Uma amostra de 0,3 g, de grãos de café moído foi triturada em politron com 10 mL de água ultra-pura. Uma alíquota de 0,5 mL foi agitada com 1,5 mL da fase móvel que constuiu-se de KH_2PO_4 0,01 mol L⁻¹ (pH 2,6). O sobrenadante foi filtrado em filtro com membrana de 0,45 µm, e injetado diretamente em tubos de HPLC. As análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com coluna C18 de fase reversa.

Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi determinado pelo método descrito pela AOAC (1990). Amostras de 2g de café cru moído receberam 50 mL de água destilada e foram colocadas em centrifuga por 1 hora a 150 rpm. Em seguida foi feita a filtragem em papel de filtro quantitativo de 9 cm de diâmetro e posteriormente foi feita a leitura com peagâmetro digital.

Fenóis Totais

A determinação dos compostos fenólicos totais na bebida do café foi realizada pelo método de Folin Denis, descrito pela Association of Official Agriculture Chemists-AOAC (1990). Uma amostra de 0,5 g de grãos foi extraída com 30 mL de metanol 50% sob agitação constante durante 15 minutos usando-se tubos com tampa rosqueada, seguido de filtragem em papel de filtro qualitativo n° 4.

Em uma alíquota de 0,1 mL do extrato adicionaram-se 2,5 mL de uma solução aquosa do reativo de Folin-Ciocalteu (10%) e 2,0 mL de uma solução recém-preparada de carbonato de sódio a 7,5%. Manteve-se solução em um banho de água a uma temperatura de 50 °C por 5 minutos. A absorbância foi registrada em um espectrofotômetro de UV/VIS a 760 nm. A curva de calibração foi feita com solução aquosa de ácido gálico nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 µg mL⁻¹. As leituras foram feitas contra um branco. Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico.

Ácidos clorogênicos (3- cafeoilquinico, 4-cafeoilquinico e 5-cafeoilquinico)

Os ácidos clorogênicos foram extraídas com metanol aquoso (40 %) e clarificado com soluções de Carrez I e II (FARAH et al, 2005; TRUGO e MACRAE, 1984). As extrações foram realizadas da seguinte forma: amostras de café moído (0,5 g) foram

extraídas com 80 mL de metanol 40% e transferidas para balões volumétricos de 100 mL. Em cada amostra foram adicionados 2 mL das soluções Carrez 1 e 2; após completar o volume para 100 mL e agitar, a mistura foi deixada em repouso por 10 minutos. O precipitado foi filtrado em papel de filtro Watman n^o1; posteriormente foi passado novamente em filtro com membrana de 0,45 µm, e injetado diretamente em tubos de HPLC. A curva de calibração foi plotada usando-se a mistura de isômeros em concentrações variando de 10 a 100 µg mL⁻¹.

Polifenoloxidase (PPO)

Uma amostra de 1 grama de café cru foi moído e colocada com 10 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0, a 4°C, contendo 1% de ácido ascórbico. O material foi deixado em banho de gelo sob agitação por 10 minutos. Em seguida o extrato foi filtrado em papel de filtro comum, e o filtrado mantido em gelo para posterior dosagem da atividade.

O substrato utilizado para a dosagem da atividade da enzima foi o DOPA (3,4 – dihidroxifenilalanina), como usado por Carvalho et al. (1994) e Correa et al. (1997) – 8 mg de DOPA dissolvidos em 10 mL do tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0.

A seguir, em uma alíquota de 900 µL do tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0 contendo DOPA foram adicionados 100 µL do extrato. Imediatamente após a adição do extrato na cubeta de leitura foi feita a leitura de absorbância em 420 nm, e a partir daí a cada 15 segundos durante 5 minutos.

Índice de coloração

O índice de coloração foi determinado pelo método descrito por Singleton (1966), adaptado para café. Uma amostra de 1 g de café cru moído foi colocado em erlenmeyer ao qual foram adicionados 25 mL de água destilada. A amostra foi homogeneizada em agitador por 1 hora. Procedeu-se a filtração em papel de filtro quantitativo de 9 cm de diâmetro, sendo tomada uma alíquota de 5 mL do filtrado aos quais foram adicionados a 10 mL de água destilada. As amostras foram deixadas em repouso por 20 minutos e lidas em espectrofotômetro ajustado para 425 nm.

Cafeína e trigonelina

Os componentes químicos cafeína e trigonelina foram determinados pelo

método descrito por Mazzafera (1994) e Vitorino et al. (2001). Os grãos de café foram moídos em moinho de bolas e uma amostra de 0,1 g foi extraída com 10 mL de metanol 80% durante 1 hora em banho-maria (80 °C), com ocasional agitação. Depois de resfriarem em temperatura ambiente, uma alíquota de 2 mL foi centrifugada em durante 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado em filtro com membrana de 0,45 µm, e injetado diretamente em tubos de HPLC. As análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com coluna Acclaim 120 C18 de fase reversa. O sistema encontrava-se acoplado a um fotodetector de arranjo de diodos que por sua vez estava conectado por interface a um microcomputador para processamento de dados.

A análise de cafeína foram feitas tendo como solvente o metanol e água na proporção de 40:60 e fluxo de 1 mL minuto⁻¹, sendo detectada em 272 nm. A quantificação foi feita por comparação com o padrão de cafeína pura.

As análises de trigonelina foram feitas tendo metanol, água e ácido acético na proporção de 20:79:1 e fluxo de 1 mL minuto⁻¹, sendo detectada em 265 nm. A quantificação foi feita por comparação ao padrão externo de trigonelina pura. A curva de calibração para cafeína e trigonelina foi feita em concentrações variando de 0 a 175 µg mL⁻¹.

Proantocianidinas

Uma amostra de 0,3 g de café moído foi extraído com 10 mL de metanol 80% sob agitação constante durante 24 horas em temperatura ambiente, usando-se tubos com tampa rosqueada, seguido de filtragem em papel de filtro qualitativo n° 4.

Transferiu-se 0,10 mL do extrato bruto para um tubo de ensaio e adicionaram-se 2,0 ml de uma solução recém preparada de vanilina em ácido sulfúrico 70% na concentração de 1g/100mL. A solução resultante foi colocada em banho de água a 50 °C por 15 minutos. Mediu-se a absorbância a 500 nm. Juntamente com os extratos preparou-se uma curva de calibração com catequina nas concentrações de 2, 5, 10, 20 e 30 µg mL⁻¹. Tanto as amostras quanto os padrões da curva de calibração passaram pelo mesmo tratamento. A leitura foi feita contra um branco e os resultados expressos em equivalentes de catequina (HAGERMAN, 2002 e HASLAM, 1989).

Sacarose

Uma amostra de 0,05 g foi colocada em tubo de centrífuga, na qual foi

adicionado 1 mL de etanol 80%, em seguida foram imersos em banho de água (80 °C) durante 20 minutos. Posteriormente as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante vertido em outro tubo de centrifuga. Sobre o resíduo foi adicionado 1 mL de etanol 80% e o processo foi repetido novamente. Os sobrenadantes foram centrifugados durante 1 minuto, passado em filtro de membrana de 0,45µm e injetado em tubos de HPLC.

Para determinação da sacarose foi utilizado um detector de índice de refração e uma coluna SP 0810 (300mm X 8 mm) em temperatura de 80 °C; utilizou-se água ultra-pura como fase móvel em fluxo de 1 mL/minuto. A curva de calibração foi feita nas concentrações de 0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg mL⁻¹ utilizando-se sacarose pura (SLUITER et al. 2008).

Glicose, manose, arabinose e galactose

Os açúcares redutores (glicose, manose, arabinose e galactose) foram determinados pelo método descrito por SLUITER et al., (2008). Amostras de café (0,5 g) foram submetidas à hidrólise ácida com 3 mL de ácido sulfúrico 72% e mantidas em banho-maria (50 °C) durante 7 minutos. Posteriormente ao pré-tratamento foram adicionados 84 mL de água ultra-pura, as amostras foram autoclavadas durante 45 minutos (121 °C). Depois de resfriadas a temperatura ambiente, uma alíquota de 10 ml foi transferida para enlenmeyer e o pH corrigido para valores entre 4 e 6 com carbonato de cálcio puro. O sobrenadante foi coletado e passado em membrana de filtro de 0,45 µm e injetados em tubos para HPLC.

Para determinação desses açúcares foi utilizado um detector de índice de refração a 50 °C e uma coluna SP 0810 (300mm X 8 mm) em temperatura 80 °C; utilizou-se água ultra-pura como fase móvel e fluxo de 0,6 mL minuto⁻¹. A quantificação foi feita por comparação com os padrões de glicose, manose, arabinose e galactose. A curva de calibração foi construída nas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mg ml⁻¹ para todos os açúcares.

Potássio lixiviado e condutividade elétrica

O potássio lixiviado e condutividade elétrica foram determinados pelo método descrito por Prete (1992). Amostras de 50 grãos de café beneficiado foram colocadas em copos plásticos de 180 mL, aos quais foram adicionados 75 mL de água destilada;

em seguida foram colocadas em estufa ventilada por 5 horas. Após esse tempo foram realizadas leituras das condutividades elétricas. De cada amostra retirou-se uma alíquota para realizar a leitura do K lixiviado em fotômetro de chama.

Teor de água

O teor de água foi determinado pelo método padrão da estufa a $105\pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, de acordo com metodologia proposta por Mara (1992).

Análise sensorial

A prova de xícara foi realizada no segundo ano de produção, por provadores profissionais da “3 Irmãos Corretora de Café”. Para realização das análises estatísticas os resultados obtidos para classificação da bebida pela prova de xícara foram convertidos em valores numéricos. Estes valores constam na tabela 1.

Tabela1 – Notas estabelecidas para cada classificação obtida pela prova de xícara

Classificação	Notas
Estritamente Mole (Cafés especiais)	88
Mole	80
Apenas Mole	70
Duro	60
Duro/Riado	59
Duro Fermentado	58
Duro/Riado/Rio	57
Riado	55
Riado/Rio	53
Rio	50
Rio Zona	45

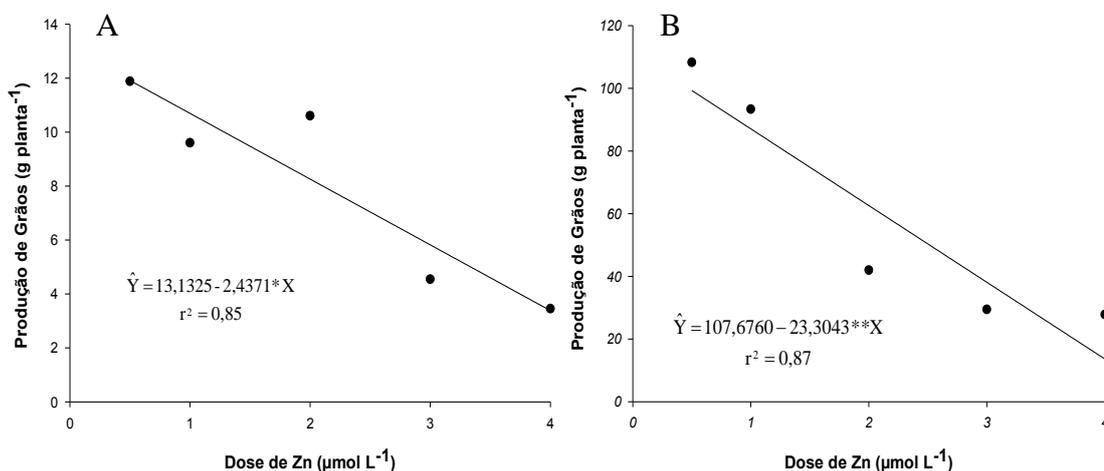
d) Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. Aplicou-se análise de regressão para avaliar os efeitos de doses de Zn e teste de Dunnett para comparar as doses de Zn com o tratamento testemunha. Os modelos foram selecionados com base na significância, dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste “t”, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no fenômeno biológico e no coeficiente de determinação. Os dados foram analisados usando-se o programa SAEG 9.0 (Sistema de Análise Estatística e Genética) (SAEG, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) Produção

No primeiro e no segundo anos de produção do cafeeiro, houve redução linear na produção média de grãos por planta com o aumento das doses de zinco na solução nutritiva, com menor produção na maior dose de Zn de $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figuras 3A e 3B). No primeiro ano de produção os teores foliares corresponderam na maior dose de Zn a $10,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ($\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667\text{Zn}$; $r^2 = 0,69$), no segundo ano a de $12,76 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$). No primeiro ano a dose de $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn, proporcionou a maior produção de frutos (12 g/planta) e no segundo ano na dose de $0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn, verificou-se a maior produção de frutos (103 g/planta), com teor foliar de $6,13$ e $10,63 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn respectivamente.



*; **significativo respectivamente a 5% e 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 3 – Produção média de grãos de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

Foi constatado que elevados teores de zinco em plantas de cafeeiro, reduzem a expansão foliar, o que indica toxidez do zinco, sendo a produção de frutos a característica mais afetada pelo zinco, principalmente sob teores elevados. Pode-se atribuir também a queda na produção de frutos a uma menor disponibilidade de fotoassimilados para esses órgãos nas plantas, pois em folhas maduras com elevados teores de zinco a produção de fotoassimilados é normal, mas a sua exportação para as regiões de consumo é inibida (FAVARO, 1992).

Sagardoy et al., (2009) trabalhando com plantas de beterraba em solução nutritiva com elevadas doses de zinco, verificaram redução na fotossíntese das plantas, com o

esgotamento de CO₂ no sítio de carboxilação da Rubisco, reduções drásticas na condutância estomática (70%) e na condutância do mesófilo (44%).

A redução na produção de frutos pode estar relacionada também com interações negativas entre os outros cátions e o zinco, em que o excesso de zinco pode provocar deficiência induzida, de Fe, Cu e Mn devido aos raios iônicos semelhantes (BOARDMAN e MCGUIRE, 1990; SAGARDOY et al, 2009).

Estão na Tabela 2, os valores médios de frutos por plantas (FP), produção de grãos, massa de 100 grãos (MAS100G) e dos frutos de café em coco obtidos com doses de Zn e o tratamento que recebeu pulverizações foliares mensais com Zn (Testemunha). Nota-se que o número de frutos por plantas (FP) e peso dos grãos nas doses de Zn de 2,0; 3,0 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram inferiores aos da testemunha, tendo a testemunha apresentado valores superiores de número de frutos em 44%, 71% e 81% e de peso dos grãos de 51%, 77% e 82% comparativamente as doses 2,0; 3,0 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn (Tabela 2). Já para a massa de 100 grãos (MAS100G) e dos frutos de café em coco todas as doses de Zn (0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) apresentaram resultados inferiores aos da testemunha.

Tabela 2. Valores médios das variáveis, frutos por planta (FP), produção de grãos, massa de 100 grãos (MAS100G) e dos frutos de café em coco, em função das doses de zinco em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

Doses de Zn ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	FP (Frutos/planta)	Produção grãos (g/planta)	MAS100G (g)	Massa fruto (g/planta)
0,5 + Pulverização	35,00	19,68	18,03	45,46
0,5	35,33	11,88	15,01*	25,42*
1,0	25,16	10,60	14,44*	20,28*
2,0	19,66*	9,60*	16,80*	21,87*
3,0	10,00*	4,54*	14,45*	10,17*
4,0	6,50*	3,45*	14,40*	7,78*

Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,5 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

O aumento das doses de Zn na solução nutritiva promoveu redução no número e na produção dos frutos de café. Este efeito pode estar relacionado à toxidez provocada pelo excesso de zinco, pois segundo Khurana e Chatterjee (2001), o excesso de Zn provoca diminuição significativa, da biomassa, da concentração de clorofila (a, b) e proteínas solúveis nas plantas.

b) Qualidade dos Grãos

Acidez titulável

Nos dois anos de avaliações observou-se efeito quadrático das doses de Zn na acidez titulável (AT), em que a acidez decresceu até um ponto de mínima e, posteriormente, aumentou com o incremento das doses de Zn. No primeiro ano a menor acidez titulável (48,37 mL NaOH 100 g⁻¹) foi verificada na dose estimada de 2,68 μmol L⁻¹ e teor foliar de Zn de 8,20 mg kg⁻¹ ($\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667Zn$; $r^2 = 0,69$), já para maior dose de zinco verificou-se um aumento na AT correspondendo ao valor de 49,42 mL NaOH 100 g⁻¹ (Figura 4A). No segundo ano a menor acidez titulável foi verificada na dose estimada de 2,16 μmol L⁻¹, correspondendo a acidez titulável de 114,87 mL NaOH 100 g⁻¹ e teor foliar de Zn de 9,92 mg kg⁻¹ ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373Zn + 0,4994Zn^2$; $R^2 = 0,99$), enquanto que a para maior dose de zinco verificou-se um incremento na AT correspondendo ao valor de 137,49 mL NaOH 100 g⁻¹ (Figura 4b).

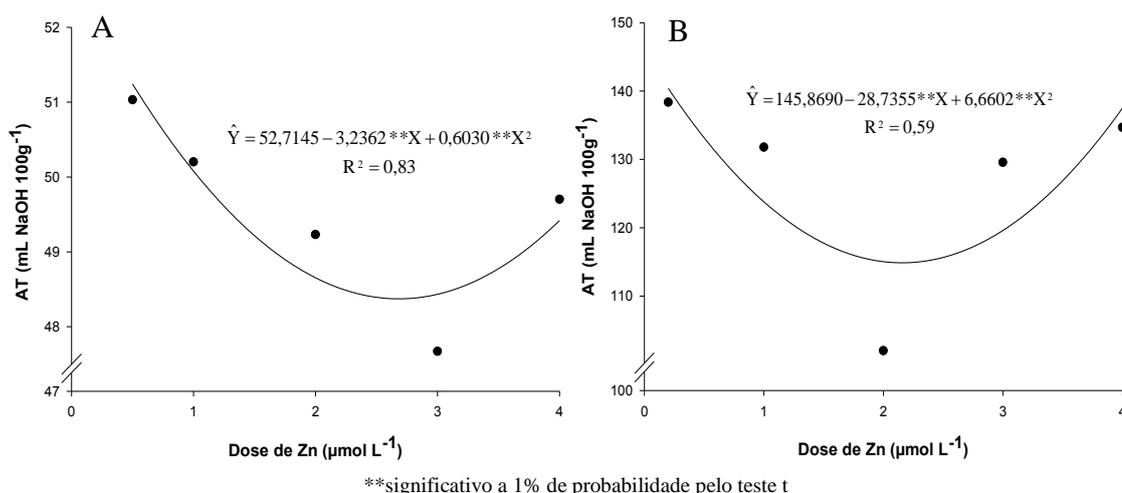


Figura 4 – Acidez titulável (AT) nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

Comparando os valores estimados de acidez titulável, (Figura 4A e 4B), com os encontrados por Carvalho et al. (1994), pode-se observar que, apesar de ter ocorrido diferença significativa nas doses de Zn, o menor e o maior valor da acidez titulável encontrado no primeiro ano (48,37 e 49,42 mL NaOH 100 g⁻¹) e no segundo ano (115,57 e 137,49 mL NaOH 100 g⁻¹), estão abaixo da faixa de classificação como café de bebida dura, riada e rio (250,4; 272,2 e 284,5 mL de NaOH 0,1N 100 g⁻¹), ou seja, apesar de ter ocorrido efeito das doses de Zn a influencia na qualidade dos grãos de café quanto a AT é pequena comparativamente a outros fatores. No presente trabalho a

qualidade do café se enquadra em cafés especiais, pelos baixos valores de acidez.

De acordo com Carvalho et al. (1994), a AT dos grãos de café tem uma relação inversa com a qualidade da bebida do café, pois cafés de melhor qualidade possuem maior atividade enzimática da polifenoloxidase e índice de coloração e, menor acidez titulável total. Os mesmos autores ressaltam a importância da utilização da acidez titulável total em conjunto com a atividade da polifenoloxidase e índice de coloração como suporte, para uma maior eficiência da classificação sensorial da bebida do café.

Ácidos orgânicos

Na Tabela 3 são mostrados os valores médios, do primeiro ano de avaliação, dos teores de ácidos cítricos, tartárico e málico nos grãos de café em função das doses de zinco via solução nutritiva. Não houve diferença significativa desses teores em função das doses de zinco em solução nutritiva, como também não houve uma tendência definida de variações desses ácidos.

Tabela 3. Valores médios das variáveis, ácido cítrico (ACITR), ácido tartárico (ATART) e ácido málico (AMALI) em função das doses de zinco em solução nutritiva no primeiro ano

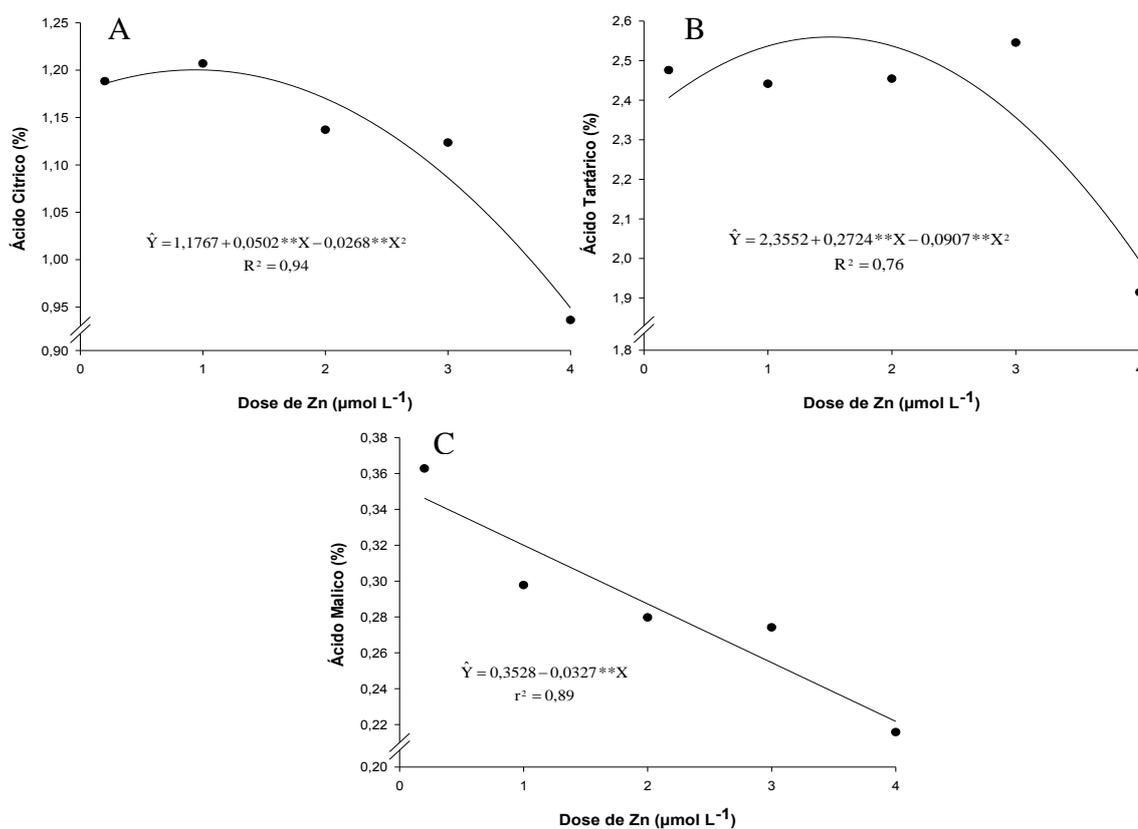
Doses de Zn ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	ACITR (%)	ATART (%)	AMALI (%)
0,5	1,16	2,01	0,3056
1,0	1,21	2,05	0,3245
2,0	1,06	2,05	0,3101
3,0	1,85	2,16	0,2879
4,0	1,48	2,04	0,2878
Média	$\hat{y} = 1,35$	$\hat{y} = 2,06$	$\hat{y} = 0,3032$
CV (%)	12,14	8,51	9,32

No segundo ano de avaliação os resultados (Figuras 5A, 5B e 5C) demonstram que as doses de Zn via solução nutritiva influenciaram significativamente os teores dos ácidos cítricos, tartárico e málico. Para o ácido cítrico verifica-se resposta quadrática, que apresentou na dose estimada de $0,94 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn o maior teor de ácido cítrico correspondente a 1,20% e com teor foliar de $9,92 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373Zn + 0,4994Zn^2$; $R^2 = 0,99$). Com o incremento das doses de Zn houve redução nos teores, atingindo na maior dose de Zn ($4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) o menor teor do

ácido (0,95%), isso corresponde a uma redução de 21% em comparação ao valor máximo(Figura 5A).

Resultado semelhante foi observado para os teores do ácido tartárico, apresentando na dose estimada de 1,50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn os maiores valores correspondentes a 2,56% e teor foliar de Zn de 9,73 mg kg^{-1} ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$), mas com o incremento das doses de Zn (4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) os teores decresceram para 1,99%, correspondendo a uma redução de 22% nos teores do ácido tartárico (Figura 3B).

Para o ácido málico, verificou-se redução linear com o incremento das doses de Zn, apresentando na maior dose (4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) o menor teor, correspondente a 0,22%, e teor foliar de Zn de 12,75 mg kg^{-1} ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$), correspondendo a uma redução de 22% nos teores do ácido málico em comparação à menor dose de Zn que proporcionou teores de 0,35%.



**significativo a 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 5 – Teor de ácido cítrico (A), tartárico (B) e málico (C) nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no segundo ano de avaliação.

Esses ácidos são originários de diversas rotas bioquímicas, bem como da fermentação dos açúcares por microorganismos existentes na polpa e na mucilagem dos frutos (CHALFOUN, 1996).

Na tabela 4, são apresentadas as comparações entre os valores de pH, teores dos ácidos cítricos, tartárico, málico e a acidez total titulável obtidos com as diferentes doses de Zn fornecidas via solução nutritiva e o tratamento testemunha, que recebeu o nutriente via foliar. Os resultados demonstram que houve diferença significativa somente para ácido cítrico e acidez titulável, em que os teores do ácido cítrico da testemunha foram inferiores ao da dose de 3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e não diferiram das demais doses, enquanto que para a acidez titulável houve diferença significativa da testemunha em relação às doses de 0,5 e 3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, em que os valores de acidez titulável da testemunha foram inferiores aos da menor dose de Zn (0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e superiores aos da maior dose de 3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, demonstrando com isso que doses mais altas de zinco podem influenciar positivamente aspectos da qualidade da bebida tanto via pulverização foliar como via sistema radicular.

No entanto para as demais características como, pH, ácido tartárico e málico não houve diferença da testemunha pulverizada em comparação as doses de Zn fornecidas somente via solução nutritiva.

Tabela 4. Valores médios das variáveis, pH, ácido cítrico (ACITR), ácido tartárico (ATART), ácido málico (AMALI) e acidez titulável total (ATT) em função das doses de zinco em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

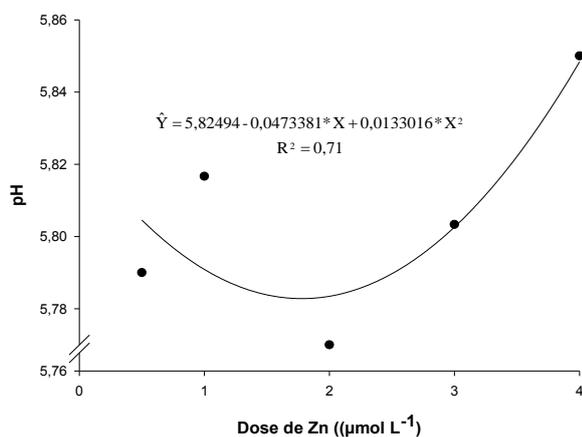
Doses de Zn ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	ATT (mL NaOH 100g ⁻¹)	ACITR (%)	ATART (%)	AMALI (%)	pH
0,5 + Puverização	49,23	1,22	1,96	0,3035	5,80
0,5	51,03*	1,16	2,01	0,3056	5,79
1,0	50,20	1,21	2,05	0,3245	5,82
2,0	49,23	1,06	2,05	0,3101	5,77
3,0	47,67*	1,85*	2,16	0,2879	5,80
4,0	49,70	1,48	2,04	0,2878	5,85

Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,5 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

Potencial hidrogeniônico (pH)

Em relação aos valores de pH, observou-se efeito significativo das doses de zinco, somente no primeiro ano, verificando-se na dose estimada de 1,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn, o menor valor de pH de 5,78, e com teor foliar de 7,98 mg kg⁻¹ de Zn

($\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667Zn$; $r^2 = 0,69$). Enquanto para maior dose de Zn de $4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ o maior valor do pH foi 5,86 (Figura 6). Para o segundo ano não houve ajuste de regressão para os valores de pH. De acordo com Pinto et al., 2002 em grãos de café torrado, as bebidas estritamente mole, mole e riada - apresentaram menores valores de pH (5,30 a 5,32) comparativamente as bebidas rio e rio-zona.



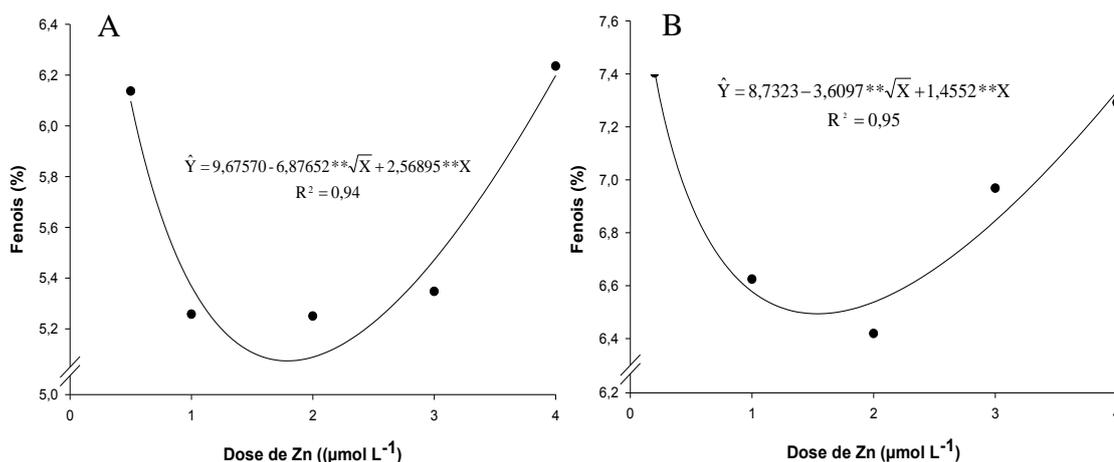
* significativo a 5% de probabilidade pelo teste t

Figura 6 – Pontencial hidrogeniônico (pH) nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no primeiro ano de avaliação.

Fenóis Totais

Nos dois anos de avaliação observou-se efeito de raiz quadrático das doses de Zn nos teores de fenóis totais, em que os teores de fenóis totais decresceram até um ponto de mínima e, posteriormente, aumentou com o incremento das doses de Zn (Figura 7).

No primeiro ano o menor teor de fenóis foi de 5,07% na dose estimada de $1,85 \mu\text{mol L}^{-1}$, correspondendo ao teor foliar de $7,98 \text{ mg kg}^{-1}$ ($\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667Zn$; $r^2 = 0,69$). Na maior dose de zinco verificou-se um maior teor de fenóis correspondendo ao valor de 6,2% (Figura 7A). No segundo ano o menor teor de fenóis (6,49%), foi verificado na dose estimada de $1,55 \mu\text{mol L}^{-1}$, com teor foliar de $9,73 \text{ mg kg}^{-1}$ ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373Zn + 0,4994Zn^2$; $R^2 = 0,99$), enquanto que a para maior dose de zinco verificou-se um maior teor de fenóis correspondendo ao valor de 7,33% (Figura 7B).



**significativo a 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 7 – Teor de fenóis nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

A menor produção de fenóis ocorreu com doses de Zn variando entre 1,55 e 1,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$ as quais resultaram em plantas com teores foliares entre 7,98 e 9,73 mg kg^{-1} , ou seja, plantas com nutrição adequada, segundo as faixas críticas estabelecidas por Martinez et al. 2003. Doses menores ou maiores de Zn resultaram em maior produção de fenóis. No caso de doses elevadas de Zn, pode-se supor que interações entre o Cu e o Zn, cujos raios iônicos são semelhantes, possam ter provocado deficiência induzida de Cu, elevando a produção de fenóis (BOARDMAN; MCGUIRE, 1990; SAGARDOY et al, 2009).

Ácidos clorogênicos (3- cafeoilquinico, 4-cafeoilquinico e 5-cafeoilquinico)

Nos dois anos de avaliações as doses de Zn influenciaram os teores do ácido 5-cafeoilquinico (5-CQA). No primeiro ano os teores do 5-CQA decresceram e, posteriormente, aumentaram apresentando na dose estimada de 1,85 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn, o menor teor (0,92%) e teor foliar de Zn correspondendo a 7,98 mg kg^{-1} ($\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667Zn$; $r^2 = 0,69$), para a maior dose de zinco verificou-se um incremento nos teores correspondendo ao valor de 1,4% (Figura 8A). No segundo ano o menor teor (1,09%) foi verificado na dose estimada de 1,94 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com teor foliar de Zn de 9,81 mg kg^{-1} ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373Zn + 0,4994Zn^2$; $R^2 = 0,99$), na maior dose verificou-se um incremento nos teores atingindo o valor de 1,52% (Figura 8B).

Essa redução nos teores do 5-CQA com o aumento das doses de Zn, esta inversamente proporcional à atividade da PPO (Figura 9), em que à medida que os teores do 5-CQA decrescem ou aumentam, o inverso ocorre com a PPO. De acordo com

Carvalho et al.(1989), existem indícios da ocorrência de maior concentração de polifenóis, como o caso do ácidos clorogênicos (CGA), em cafés de pior qualidade. Farah (2004) encontrou os maiores teores de 5-CQA em cafés com qualidade de bebida inferior.

Para os teores do ácido 4-cafeoilquínico (4-CQA) e 3-cafeoilquínico só houve efeito significativo das doses de zinco no segundo ano de cultivo (Figura 8C e Tabela 5). No segundo ano os teores do 4-CQA se ajustaram ao modelo raiz quadrática, com o menor teor (0,77%) verificado na dose estimada de 1,90 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e teor foliar de Zn de 9,80 mg kg^{-1} ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$) (Figura 6C). Quanto ao 3-CQA o efeito foi quadrático, com o maior teor (1,0%) verificado na dose estimada de 2,20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn, e teor foliar de Zn de 9,95 mg kg^{-1} ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$) (Figura 8D). Esse resultado corresponde ao incremento de 18% no teor do ácido 3-CQA, em relação à menor dose de zinco (0,85%). Na dose máxima de Zn houve redução no teor do 3-CQA de 14% em comparação ao valor máximo estimado.

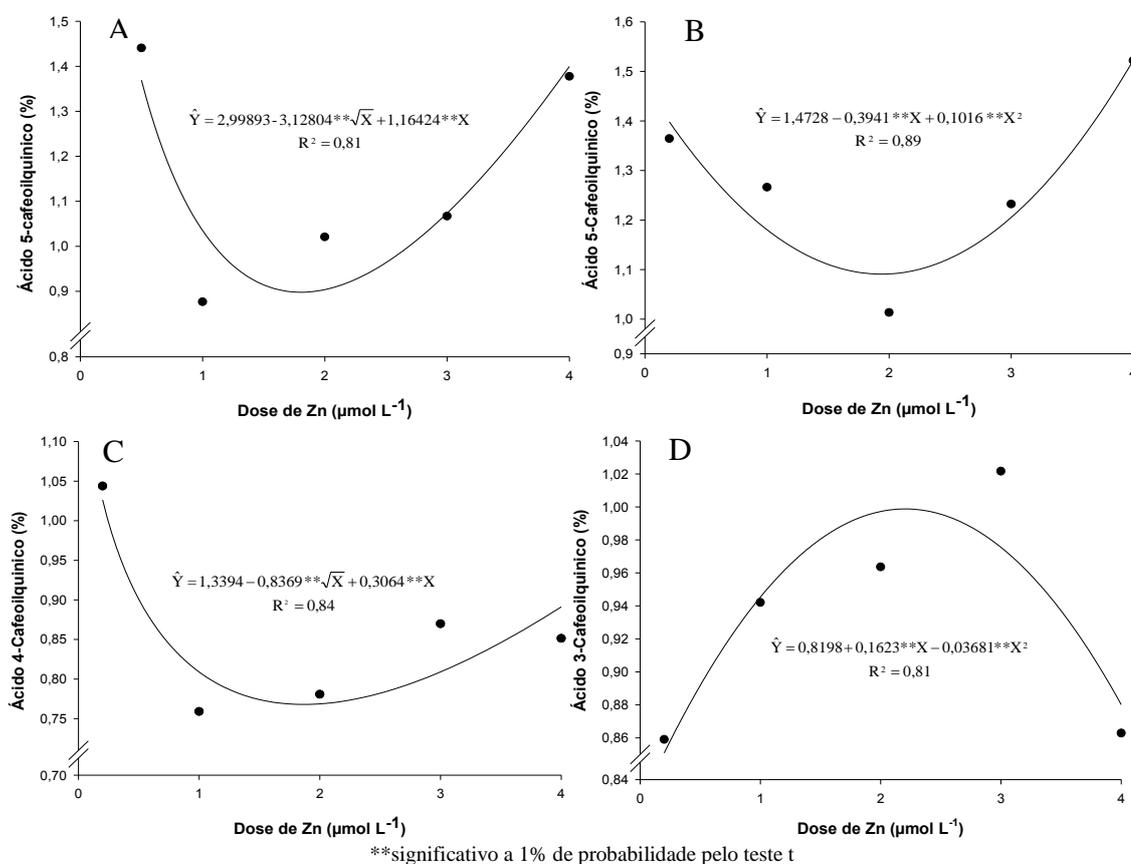


Figura 8 – Teor do ácido 5-cafeioquinico no primeiro ano de avaliação (A) e no segundo ano (B), teor do ácido 4-cafeioquinico (C) e de 3-cafeioquinico (D) no segundo ano, nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva.

O aumento dos teores do ácido 3-cafeoilquínico varia com as doses de Zn e esta se relaciona diretamente à atividade da PPO (Figura 9), em que à medida que os teores do 3-CQA aumentam ou diminuem, ocorre o mesmo para a PPO. O inverso ocorre para os teores de fenóis totais (Figura 7). Apesar do 3-CQA ser um composto fenólico ele não segue o mesmo sentido dos demais ácidos clorogênicos (4-CQA e 5-CQA) que decresceram seus teores com o aumento das doses de Zn. (FARAH et al., 2010) observaram que ao contrário do que ocorre para os demais isômeros do ácido cafeoilquínico, maior teor de 3-CQA parece estar associado a melhor qualidade de bebida.

Segundo Farah (2009) os ácidos clorogênicos oferecem proteção em relação a estresses abióticos, tais como aqueles associados com mudanças de temperatura, disponibilidade de água, exposição a níveis de luz UV e deficiência de nutrientes minerais. Além disso, os ácidos clorogênicos contribuem para o processo de fermentação e tem uma influência marcante na determinação da qualidade de xícara do café (FARAH et al., 2006).

De acordo com Salva e Lima (2007), cafés que contêm menos ácidos clorogênicos proporcionam bebidas menos adstringentes e com sabor característico de café. Esse mesmos autores relatam que o amargor, a adstringência e o gosto de mofo da bebida de café se devem ao nível de concentração de ácidos clorogênicos e das proporções em que diferentes deles se encontram nos cafés crus. Dentre os grupos que compõe os CGAs do café, 5-CQA é o mais abundante em sementes de café.

Segundo Amorim e Silva (1968) os compostos fenólicos, principalmente os ácidos clorogênicos exercem uma ação protetora, antioxidante dos aldeídos. Os compostos fenólicos possuem alto potencial redox, sendo assim, substratos preferenciais no combate ao estresse oxidativo provocado por circunstâncias de campo, como alta intensidade luminosa, fraturas físicas, deficiências nutricionais, ataque de insetos e micro-organismos e alterações climáticas. Além da funcionalidade, contribuem expressivamente como precursores de flavor no café torrado (ARRUDA et al. 2012; LIMA et al. 2010).

No processo de torrefação os ACGs são precursores importantes dos ácidos fenólicos livres e, por conseguinte, dos compostos fenólicos voláteis que participam da formação do aroma do café processado (MOREIRA et al. 2000). Os ácidos clorogênicos reagem durante a torra, produzindo compostos ácidos, lactonas e outros derivados

fenólicos que contribuem para o aroma e sabor do café, acidez final e adstringência da bebida (LÓPEZ-GALILEA et al. 2007).

Polifenoloxidase (PPO)

Nos dois anos de avaliações a atividade da polifenoloxidase (PPO) apresentou efeito quadrático em função das doses de zinco. No primeiro ano a máxima atividade da enzima foi de 82,08 U g⁻¹ de amostra na dose estimada de 2,42 μmol L⁻¹ de Zn, em grãos de plantas com teor foliar de 8,8 mg kg⁻¹ de Zn ($\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667Zn$; $r^2 = 0,69$).

Na menor e maior dose de Zn verificou-se uma menor atividade da PPO com valores de 53,75 e 63,05 U g⁻¹ de amostra, respectivamente (Figura 9A). No segundo ano a máxima atividade da enzima foi de 85,14 U g⁻¹ de amostra na dose estimada de 1,94 μmol L⁻¹ de Zn, correspondendo a um teor foliar de Zn de 9,8 mg kg⁻¹ ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373Zn + 0,4994Zn^2$; $R^2 = 0,99$), já para menor e maior dose de Zn verificou-se uma menor atividade da PPO com valores de 68,92 e 62,31 U g⁻¹ de amostra, respectivamente (Figura 9B).

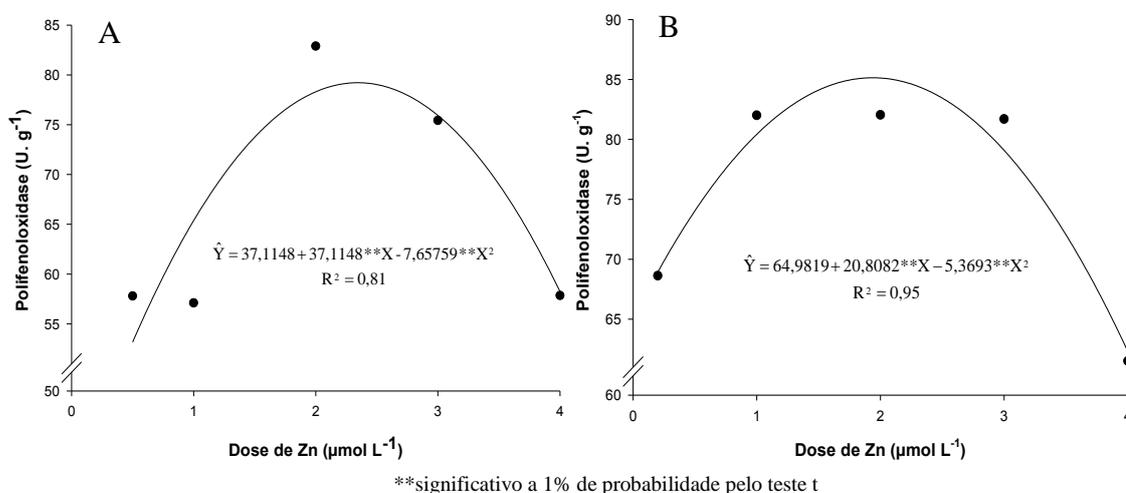


Figura 9 – Atividade da polifenoloxidase nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

No primeiro e no segundo ano de produção, a atividade da PPO não seguiu a mesma tendência de redução da produção de grãos, verificando-se nos pontos de máxima atividade da PPO (82,08 e 85,14 U g⁻¹ de amostra) nas doses estimadas (2,42 e 1,94 μmol L⁻¹ de Zn), produções de grãos inferiores à produção máxima (12 g/planta e 103 g/planta), com redução de 39,67% e 39,34% na produção de grãos (7,24 g/planta no

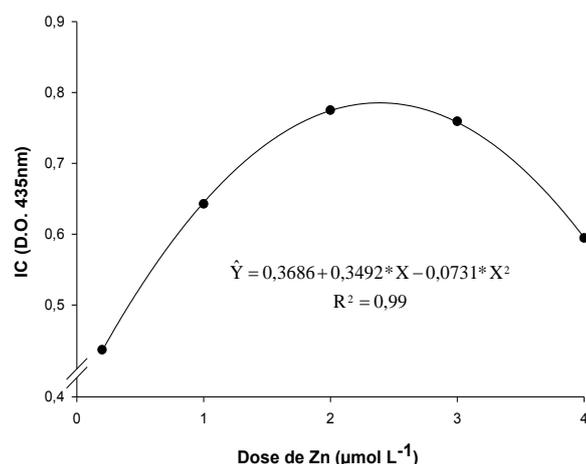
primeiro ano e 62,47 g/planta no segundo ano).

Com base na classificação proposta por Carvalho et al. (1994) em função da máxima atividade da PPO, pode-se atribuir no primeiro ano de avaliação aos grãos de café a classificação na faixa de bebida “estritamente mole”, enquanto que para a menor e maior dose de Zn os grãos de café podem ser classificados, como bebida “riado e rio” e bebida “mole” respectivamente. No segundo ano de avaliação pode-se atribuir aos grãos de café na dose de máxima atividade e na menor dose, a classificação na faixa de bebida “estritamente mole”, enquanto que para a maior dose de Zn pode-se atribuir a classificação na faixa de bebida “mole”. Segundo Carvalho et al. (1994), a polifenoloxidase esta associada diretamente com a qualidade de bebida do café, demonstrado através de sua atividade, quanto melhor a qualidade do café, maior a sua atividade enzimática.

O aumento na atividade da PPO devido à aplicação do Zn pode ser atribuído ao fato deste elemento atuar na manutenção da integridade das membranas biológicas (CAKMAK; MARSCHNER, 1990), com isso pode ter contribuído para redução de radicais livres de O₂ como também na estabilização estrutural de proteínas (CAKMAK; MARSCHNER, 1988; KAYA; HIGGS, 2001). Por outro lado, observa-se, também, redução na atividade da PPO devida ao excesso de Zn. Os valores da atividade da PPO obtidos no ponto de máximo são bastante superiores aos preconizados por Carvalho et al. (1994), demonstrando com isso que o Zn exerce influência sobre a atividade da PPO e como consequência na qualidade da bebida do café.

Índice de coloração

No primeiro ano de avaliação não se verificou efeito das doses de Zn sobre o índice de coloração. Para o segundo ano observou-se efeito quadrático do índice de coloração para as doses de Zn (Figura 10), apresentando na dose estimada de 2,39 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn o maior valor do IC de 0,78 (D.O. 435 nm) e teor foliar de Zn de 10,09 mg kg^{-1} ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$), enquanto que para a menor e maior dose de Zn, observaram-se os menores valores do IC correspondendo a 0,42 e 0,59 (D.O. 435 nm).



* significativo a 5% de probabilidade pelo teste t

Figura 10 – Índice de Coloração (IC) nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva no segundo ano de avaliação.

Esse resultado sugere que existe uma associação do IC com a atividade da PPO (Figura 9), pois os grãos de café com maior atividade da polifenoloxidase, apresentaram tendência de maior IC, confirmando os resultados encontrados por Carvalho et al. (1994). Cafés de melhor qualidade possuem maior atividade da PPO e IC, conforme pesquisas desenvolvidas por Carvalho et al. (1994), Leite e Carvalho (1994), Chagas et al. (1996), Silva et al. (2002) e Silva et al. (2009). Carvalho et al. (1994) estabeleceram que cafés com índices de coloração iguais ou superiores a 0,65 enquadram-se nas classes de cafés "duro", "apenas mole", "mole" e "estritamente mole". Os índices de coloração inferiores a 0,65 são classificados como "rio" e "riado", ou seja, cafés não exportáveis.

Com base na classificação proposta por Carvalho et al. (1994) em função do índice de coloração, pode-se atribuir aos grãos de café na dose de Zn correspondente ao ponto de máximo a classificação na faixa de bebida "estritamente mole", pois os valores encontrados no presente trabalho situaram-se na faixa de 0,78 (D.O. 435 nm), enquanto que para a menor e maior dose de Zn (0,42 e 0,59 D.O. 435 nm), pode-se atribuir a classificação de cafés "rio" e "riado". Para Corrêa et al. (1997) o índice de coloração possibilitou a distinção entre as bebidas dura, apenas mole, mole e estritamente mole. Porém os valores do índice de coloração encontrados por esses autores foram: 0,47, 0,54, 0,63, e 0,72 respectivamente.

Observa-se na tabela 5, que houve diferença significativa das doses de Zn fornecidas via solução nutritiva em comparação com a testemunha que recebeu pulverizações foliares, para as variáveis, 5-CQA e fenóis totais, em que o isômero do

ácido clorogênico 5-CQA e os teores de fenóis totais da testemunha foram inferiores aos das doses de Zn (0,5 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$), enquanto que as demais doses de Zn não diferiram da testemunha.

Para as variáveis, PPO e o índice de coloração (Tabela 5), houve diferença significativa das doses de Zn fornecidas via solução em comparação com a testemunha, em que a atividade da enzima PPO da testemunha foi superior aos das doses de Zn (0,5; 1,0 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e não diferiram das demais doses.

Para o índice de coloração, houve diferença significativa somente na dose de Zn de 3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em comparação a testemunha, em que o índice de coloração da testemunha foi inferior ao da dose de Zn (3,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$), tendo a testemunha apresentado índice de coloração de 1,16 DO. 435nm e a dose de Zn de 1,66 DO. 435nm.

Tabela 5. Valores médios das variáveis, fenóis total (FEN), ácidos clorogênicos (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA), PPO e índice de coloração (IC) em função das doses de zinco em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

Doses de Zn ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	FEN (%)	3CQA (%)	4CQA (%)	5CQA (%)	PPO (U. g ⁻¹)	IC (DO. 435nm)
0,5 + Pulverização	5,10	1,12	0,90	1,08	76,38	1,16
0,5	6,14*	1,03	0,92	1,44*	57,79*	1,25
1,0	5,26	1,08	0,86	0,88	57,09*	1,14
2,0	5,25	0,89	1,02	1,02	82,88	1,20
3,0	5,35	0,98	0,87	1,07	75,41	1,66*
4,0	6,23*	0,99	0,88	1,38*	57,84*	1,25

Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,5 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

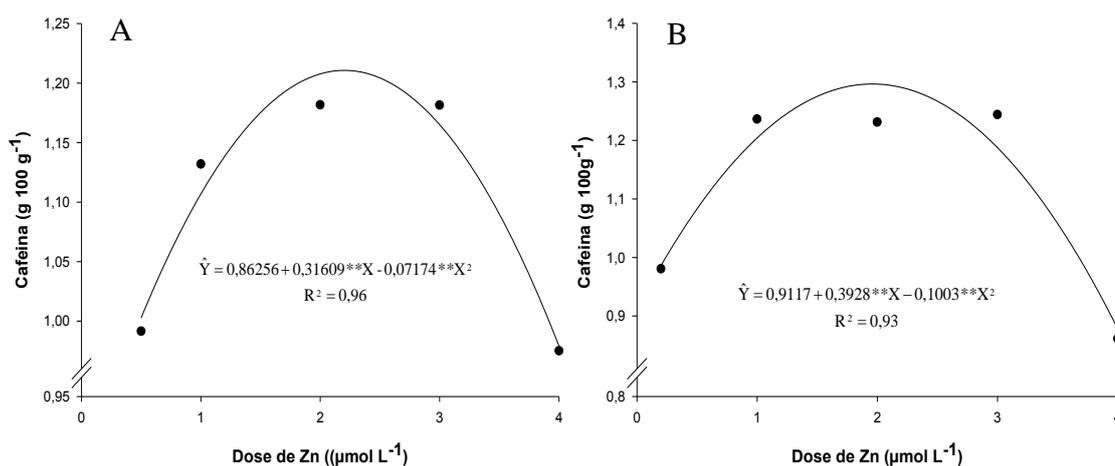
Com base na classificação proposta por Carvalho et al. (1994) em função da PPO, pode-se atribuir aos grãos de café na pulverização com Zn (Testemunha) a classificação na faixa de bebida “estritamente mole”, enquanto que para as menores e maior dose de Zn os grãos de café podem ser classificados, como bebida “dura”. Segundo Carvalho et al. (1994) grãos de café com maior atividade da polifenoloxidase, apresenta tendência de maior IC.

Cafeína e trigonelina

Nos dois anos de avaliação observou-se efeito quadrático das doses de Zn sobre os teores de cafeína. No primeiro ano verificou-se na dose estimada de 2,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn, o maior teor de cafeína (1,21 g 100 g⁻¹) (Figura 11A) e teor foliar de Zn de 8,45 mg kg⁻¹

$$(\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667Zn; r^2 = 0,69).$$

No segundo ano o teor máximo de cafeína (1,30 g 100 g⁻¹) foi verificado na dose estimada de 1,96 μmol L⁻¹ de Zn, correspondendo ao teor foliar de Zn de 10,27 mg kg⁻¹ ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373Zn + 0,4994Zn^2$; R² = 0,99), enquanto que nas maiores doses de Zn houve redução nos teores de cafeína correspondendo ao valor de 0,88 g 100 g⁻¹ (Figura 11B).



**significativo a 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 11 – Teor de cafeína nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

A cafeína é a principal purina na composição do café e encontra-se na polpa, no citoplasma e ligada à parede celular (MENEZES, 1990). Segundo Malta et al. (2003), esse alcalóide tem papel importante como estimulante. Segundo Illy e Viani (1995), a quantidade de cafeína presente no café é responsável por 10% de seu amargor, no entanto, o teor de cafeína não tem efeito direto na qualidade sensorial. Por outro lado, Franca, Mendonça e Oliveira, (2005) e Farah et al. (2006) encontraram maiores teores de cafeína em amostras de café arábica de alta qualidade, quando comparadas com as demais.

Nos dois anos houve efeito significativo das doses de Zn nos teores de trigonelina. No primeiro ano os teores de trigonelina se ajustaram ao modelo raiz quadrática, com o maior teor (3,64 g 100 g⁻¹) verificado na dose estimada de 1,86 μmol L⁻¹ de Zn, e teor foliar de Zn de 8,0 mg kg⁻¹ ($\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667Zn$; r² = 0,69), enquanto que para maior dose de zinco, houve redução nos teores de trigonelina (1,80 g 100 g⁻¹) (Figura 12A).

No segundo ano os teores de trigonelina se ajustaram ao modelo quadrático, apresentando o maior teor (0,97 g 100 g⁻¹) na dose estimada de 2,55 μmol L⁻¹ de Zn e teor

foliar de Zn de 10,27 mg kg⁻¹ ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373Zn + 0,4994Zn^2$; $R^2 = 0,99$), enquanto que nas maiores doses de Zn houve redução nos teores de trigonelina (0,87 g 100 g⁻¹) (Figura 12B).

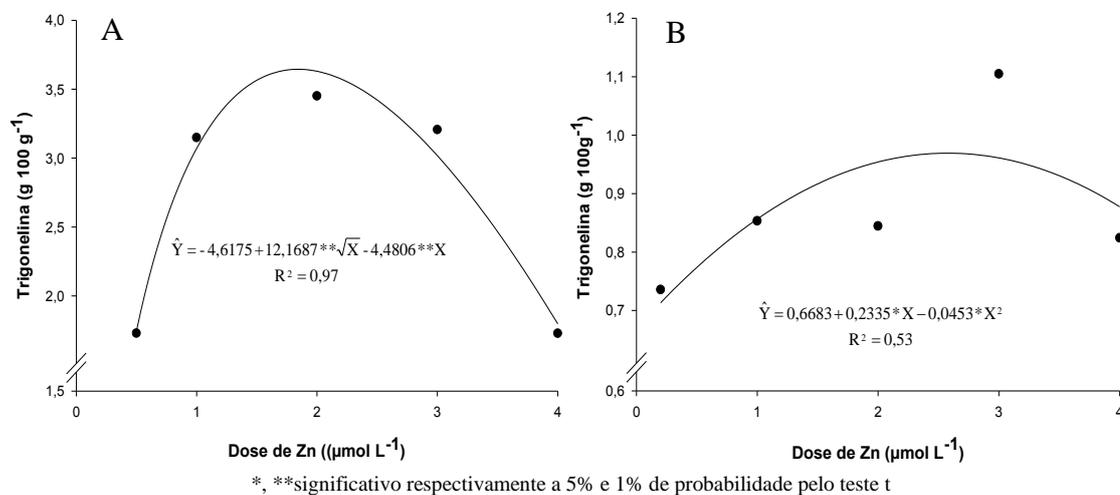


Figura 12 – Teor de trigonelina nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

No primeiro e no segundo ano de produção, observa-se que não houve uma relação direta da produção com os teores de trigonelina, entretanto no ponto de máxima produção de trigonelina (3,64 e 0,97 g 100 g⁻¹) nas doses estimadas (1,86 e 2,55 μmol L⁻¹ de Zn), as produções de grãos foram inferiores à produção máxima (12 g/planta e 103 g/planta), com redução de 28,33% e 53,15% na produção de grãos (8,60 g/planta no primeiro ano e 48,25 g/planta no segundo ano).

Apesar das doses de Zn terem contribuído para o aumento no teor de trigonelina nos grãos de café, os teores se apresentaram abaixo dos obtidos na dose ótima estimada na primeira safra (3,64 g 100 g⁻¹). As doses de Zn contribuíram significativamente para o aumento no teor de trigonelina. Isso possivelmente esteja relacionado à enzima que é responsável pela formação de trigonelina via ácido nicotínico, a nicotinato N-metiltransferase também conhecida como trigonelina sintase (KOSHIRO et al., 2006; ASHIHARA, 2006). Como o Zn está ligado ao metabolismo do nitrogênio nas plantas e atua na síntese de aminoácidos, como também na síntese protéica (PRADO, 2008), e participa diretamente ou indiretamente da ativação de varias enzimas em plantas e em diversas rotas metabólicas e bioquímicas das plantas, esse nutriente pode estar envolvidos no processo de formação da trigonelina até certo limite.

Segundo Farah et al. (2006) a trigonelina é um dos precursores do aroma do café,

já que após a torra a degradação deste composto pode chegar até 90%, sendo a niacina um dos compostos formados mais conhecidos, como também a piridinas e alguns pirróis. Os mesmos autores trabalhando com amostras de cafés de diferentes qualidades, observaram que a redução da qualidade da bebida de café está associada à redução dos níveis de trigonelina nos grãos.

Proantocianidinas

Para as proantocianidinas verificou-se uma pequena variação com o aumento das doses de Zn. No primeiro ano a variação foi de 7,13 a 7,79 mg g⁻¹ e no segundo ano de 6,19 a 6,27 mg g⁻¹ (Tabela 6). Nos dois anos de avaliação não houve ajuste de regressão para os teores de proantocianidinas observados. No entanto, os teores de proantocianidinas no presente trabalho no primeiro ano foram superiores e inferiores no segundo ano aos citados na literatura para o café arábica (MORAIS et al. 2009).

As proantocianidinas juntamente com os polifenóis, apresentam sabor adstringente típico, sendo um dos constituintes responsáveis pela adstringência da bebida do café (HASLAM, 1989; SILVA, 1991), interferindo com isso, no sabor e aroma do café após a torra. Observa-se na tabela 5, que houve pouca diferença significativa das doses de Zn fornecidas via solução nutritiva em comparação com a testemunha pulverizada, para as variáveis, cafeína e trigonelina, em que os teores dos dois alcaloides na testemunha foram superiores aos das doses de Zn (0,5 e 4,0 µmol L⁻¹) e não diferiram das demais doses. As pulverizações foliares de Zn contribuíram para o aumento no teor de trigonelina e cafeína, sendo os teores obtidos para os dois alcaloides (3,39 e 1,19 g 100 g⁻¹) respectivamente (Tabela 6). Para os teores de proantocianidinas não houve diferença significativa das doses de Zn via solução em comparação com a testemunha, demonstrando com isso pouca interferência do Zn na concentração desse composto químico.

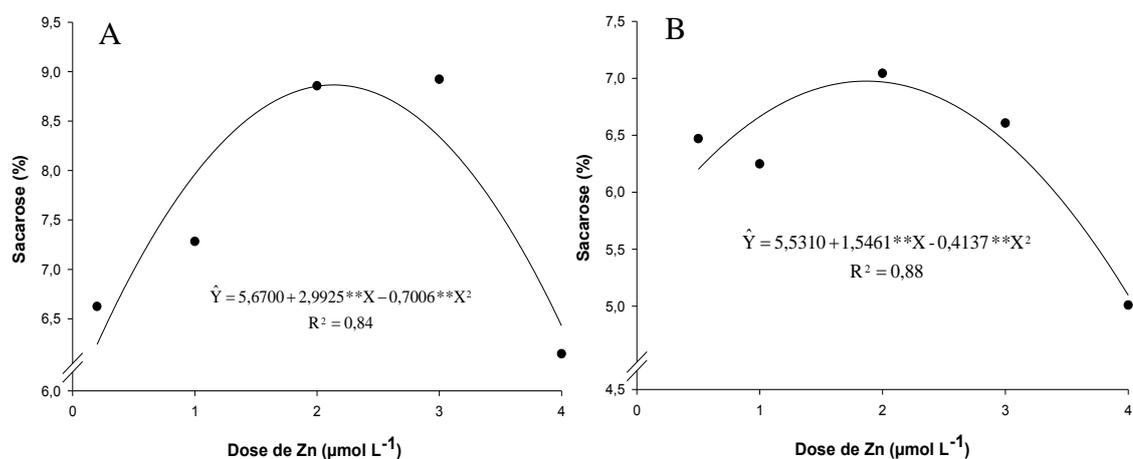
Tabela 6. Valores médios das variáveis, trigonelina (TRIG), cafeína (CAF) e proantocianidinas ano1 e ano 2 (PROANT1e PROANT2) em função das doses de zinco em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

Doses de Zn ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	CAF (g 100g ⁻¹)	TRIG (g 100g ⁻¹)	PROANT1 (mg g ⁻¹)	PROANT2 (mg g ⁻¹)
0,5 + Puerização	1,19	3,39	7,55	6,27
0,5	0,99*	1,73*	7,79	6,27
1,0	1,13	3,15	7,60	6,27
2,0	1,18	3,45	7,59	6,25
3,0	1,18	3,21	7,63	6,22
4,0	0,97*	1,73*	7,13	6,19

Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,5 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

Sacarose

Nos dois anos foram observados efeitos quadráticos das doses de Zn sobre os teores de sacarose. No primeiro ano o maior teor (6,97%) foi verificado na dose estimada de 1,87 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn e teor foliar de Zn de 8,0 mg kg⁻¹ ($\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667\text{Zn}$; $r^2 = 0,69$), enquanto que para dose máxima de Zn houve redução no teor de sacarose (5,09 %) (Figura 13A). No segundo ano o maior teor (8,86%) foi verificado na dose estimada de 2,14 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn e teor foliar de 9,91 mg kg⁻¹ ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$). Esse resultado corresponde ao incremento de 59% no teor de sacarose, em relação à menor dose de Zn, que resultou em teor de 6,24% de sacarose. Enquanto que para dose máxima de Zn houve redução de 6,43% (Figura 13B).



**significativo a 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 13 – Teor de sacarose nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

Os teores de sacarose no primeiro e segundo ano de avaliação, não seguiu a mesma tendência de redução da produção de grãos, verificando-se nos teores máximos de sacarose (6,97% e 8,86%) nas doses estimadas (1,87 e 2,14 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn), produções de grãos inferiores à produção máxima (12 g/planta e 103 g/planta), com redução de 28,58% e 43,88% na produção de grãos (8,57 g/planta no primeiro ano e 57,80 g/planta no segundo ano).

Segundo Alloway (2004) e Mafra et al. (2004), o zinco é componente estrutural de uma gama de enzimas envolvidas em muitos processos bioquímicos, entre os quais, o metabolismo de carboidratos, fotossíntese, conversão de açúcares e metabolismo de proteínas.

Esse aumento inicial no teor de sacarose com as doses de zinco parece indicar que possivelmente esse micronutriente esteja também envolvidos na ativação da ligase da sacarose, enzima responsável pela acumulação desse açúcar em grãos de café do tipo arábico. De acordo com Alloway, (2008) são mais de 70 enzimas que contêm zinco, entre elas a aldolase, enzima envolvidas na formação da sacarose. Lantican et al., (2001) trabalhando com beterraba e milho observaram um declínio no nível de sacarose devido à menor a atividade da sintetase da sacarose. Enquanto que a redução nos teores de sacarose na maior dose de Zn, possivelmente esteja relacionada à toxidez provocada pelo excesso de Zn.

A sacarose contribui com a qualidade da bebida, por ser precursora do sabor e aroma do café. Os açúcares livres dominantes nos grãos de café são, basicamente, frutose, glicose e sacarose (ROGERS et al., 1999b). A sacarose representa quase o total dos açúcares livres nos grãos maduros de café. Em C. arabica o teor de sacarose na matéria seca varia entre 5,1 – 9,4%, no fruto maduro (CLIFFORD, 1985; KY et al., 2001; CAMPA et al., 2004; FIGUEIREDO, 2013). Segundo Franca et al. (2004), a qualidade final da bebida está intrinsecamente relacionada com a composição química dos grãos torrados.

Glicose, manose, arabinose e galactose

No primeiro ano de avaliação não houve efeito das doses de Zn sobre os teores dos açúcares redutores (manose, glicose, galactose e arabinose). No segundo ano de avaliação houve efeito significativo das doses de zinco em solução nutritiva para os teores de arabinose e manose. Com o aumento da dose de Zn via solução nutritiva, o

teor de arabinose se ajustou ao modelo de raiz quadrática, com o maior teor (0,073%) verificado na dose estimada de $1,65 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn (Figuras 14A).

O teor foliar de Zn no ponto de máxima concentração de arabinose foi de $9,74 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$). Esse resultado corresponde ao incremento de 14% no teor de arabinose, em relação a menor dose de Zn, na qual se obteve teor de 0,065%. Na dose máxima de Zn houve redução de 40% no teor de arabinose em comparação ao valor das doses que permitiram valores máximos.

Para os teores de manose observou-se incremento quadrático com o aumento das doses de Zn via solução nutritiva, com o maior teor (0,28%) verificado na dose estimada de $2,34 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn e com teor foliar de $10,05 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$) (Figura 14B).

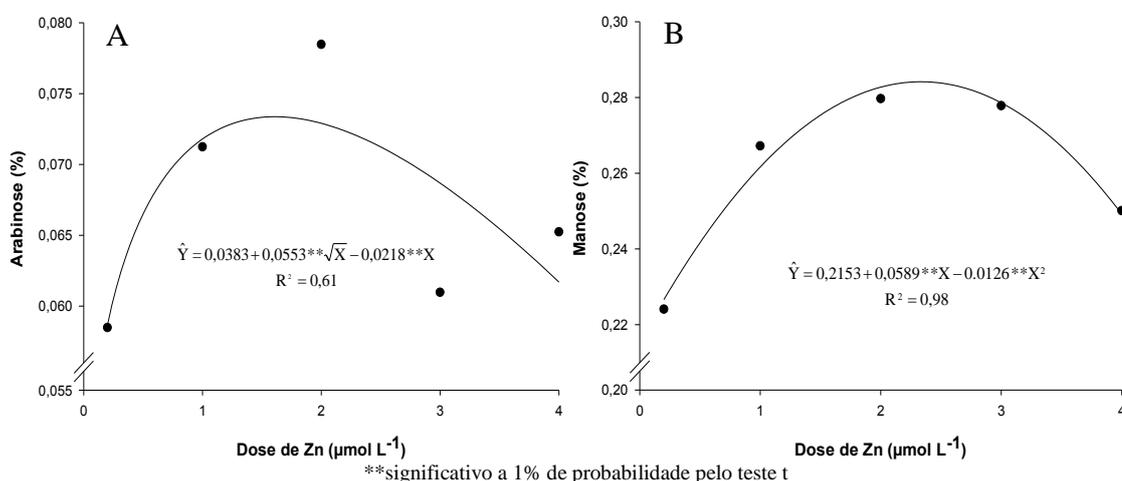


Figura 14 – Teor de arabinose (A) e manose (B) nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no segundo ano de avaliação.

Esse resultado corresponde a incrementos de 27% e 12% no teor de manose, em relação a menor e maior dose de Zn, que resultaram respectivamente em teores de manose de 0,22% e 0,25%.

Dos açúcares solúveis presentes nos grãos de café, destacam-se a glicose, frutose, manose, galactose e a sacarose que representam uma pequena porcentagem dos carboidratos. Estes, além de atuarem como reservas de utilização rápida constituem importante proteção, limitando os danos causados pela dessecação em sementes maduras (BUCKERIDGE et al., 2000). Dentre os açúcares presentes nas sementes de café os mais comuns são as pentoses e as hexoses (glicose, frutose, galactose e manose), os quais estão ligados diretamente ao sabor adocicado do café, sendo com isso os mais importantes, pois devido à sua estrutura não sofrem hidrólise (SAATH, 2010). Com isso

contribuem com a doçura da bebida do café, visto que, são considerados um dos atributos de sabor mais desejáveis nos cafés especiais, e participam de importantes reações (PEREIRA et al., 2002; CORADI et al., 2007; MARQUES et al., 2008). Segundo Mendonça et al. (2007), maiores concentrações de açúcares nos grãos crus de café contribuem expressivamente para as reações do processo de torração.

Observa-se na Tabela 7, que houve diferença significativa entre as doses de Zn fornecidas via solução nutritiva em comparação com a testemunha que recebeu, também, pulverizações foliares para os teores de sacarose (SAC), em que os teores de sacarose da testemunha foram superiores aos das doses de Zn (0,5; 1,0 e 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e não diferiram das demais doses. Para as demais variáveis não houve diferença significativa das doses de Zn em comparação à testemunha.

Os valores encontrados no presente trabalho não demonstram nenhuma tendência de aumento dos demais açúcares (manose, glicose, galactose e arabinose), com as pulverizações foliares com Zn, conforme melhora a qualidade da bebida com base na atividade da PPO e dos teores de sacarose.

Nos grãos de café, dentre os açúcares totais, os redutores (manose, glicose, galactose e arabinose) estão presentes em menores quantidades (SILVA et al., 2004; BORÉM et al., 2006; BORÉM et al., 2008c, 2008d; ABRAHÃO et al., 2009; SAATH, 2010) pois, predomina a sacarose, um açúcar não redutor. Segundo Lima, (2005), Knopp et al. (2006) e Mendonça et al. (2007) a concentração de sacarose nos grãos de café, pode variar de 1,9 a 10% na matéria seca. Maiores concentrações de açúcares nos grãos crus de café permitem um aumento na participação destes compostos nas reações do processo de torração (MENDONÇA et al., 2007), contribuindo com a doçura da bebida, que é considerado um dos atributos de sabor mais desejáveis nos cafés especiais (PEREIRA et al., 2002; CORADI et al., 2007; MARQUES et al., 2008). De acordo com Pereira et al. (2002); Coradi et al. (2007) e Marques et al.(2008), pode-se atribuir essa melhor qualidade às substâncias voláteis formadas a partir da combinação de tais açúcares com as proteínas no processo de torração.

Tabela 7. Valores médios das variáveis, sacarose (SAC), manose (MAN), glicose (GLI), galactose (GAL) e arabinose (ARA) em função das doses de zinco em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

Doses de Zn ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SAC (%)	MAN (%)	GLI (%)	GAL (%)	ARA (%)
0,5 + Pulverização	6,88	0,2930	0,1142	0,1315	0,0622
0,5	6,27*	0,3039	0,1126	0,1339	0,0669
1,0	6,25*	0,3046	0,1142	0,1345	0,0489
2,0	7,04	0,2867	0,1047	0,1454	0,0833
3,0	6,60	0,3056	0,1142	0,1282	0,0643
4,0	5,01*	0,2921	0,1062	0,1262	0,0603

Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,5 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

Potássio lixiviado e condutividade elétrica

Em relação aos valores de potássio lixiviado (KL) e de condutividade elétrica (CE), verificou-se que houve efeito quadrático das doses de Zn (Figura 15), em que o potássio lixiviado nos grãos crus de café, apresentou na dose estimada de $2,11 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn os menores valores ($0,63 \text{ g kg}^{-1}$) e teor foliar de $9,90 \text{ mg kg}^{-1}$ ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$). Para a condutividade elétrica, verificou-se resultado semelhante ao do KL, apresentando na dose estimada de $2,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn os menores valores de CE, correspondente a $193,9 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$, e teor foliar de $9,86 \text{ mg kg}^{-1}$ ($\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373\text{Zn} + 0,4994\text{Zn}^2$; $R^2 = 0,99$), enquanto que para a menor e maior dose de Zn, verificaram-se os maiores valores de CE, correspondente a $248,5$ e $254,8 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$, respectivamente.

Os maiores valores de KL e CE foram verificados nas menores ($0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$) e nas maiores ($4,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) doses de Zn. Nas menores doses, isso possivelmente esteja relacionado à sua deficiência, pois sabe-se que em plantas deficientes em Zn ocorre o aumento da permeabilidade das membranas (CAKMAK e MARSCHNER, 1988; KAYA e HIGGS, 2001). Já para as doses estimadas de $2,11 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $2,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente para KL e CE, referentes aos baixos valores de KL ($0,63 \text{ g kg}^{-1}$) e CE ($193,9 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$) talvez estejam relacionados ao papel do Zn na manutenção da integridade das membranas dos grãos de café.

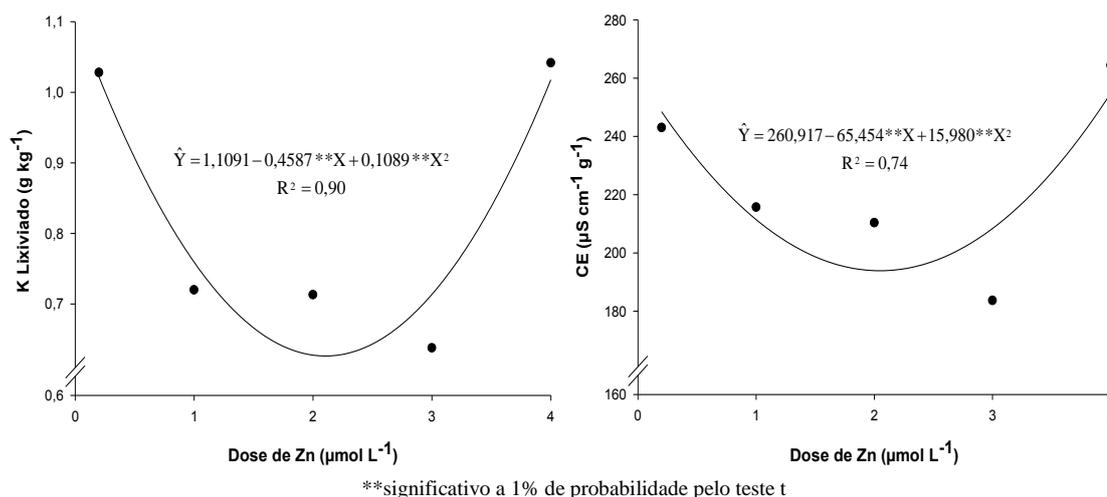


Figura 15 – Potássio lixiviado (KL) e condutividade elétrica (CE) nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de zinco em solução nutritiva, no segundo ano de avaliação.

Segundo Poltronieri et al. (2011) o zinco, independentemente da forma de fornecimento, influencia positivamente a qualidade de grãos de café, caracterizada pelos baixos valores de condutividade elétrica e de potássio lixiviado dos grãos.

O aumento do KL e da CE nas maiores doses de Zn, pode estar relacionado a interações negativas do Zn com outros nutrientes, como também ao seu excesso provocando toxidez as plantas, com isso pode ter afetado a integridade da membrana e consequentemente provocado à lixiviação de K e o aumento da CE. Uma maior lixiviação de potássio, com o consequente aumento na condutividade elétrica, é um forte indicador de danos na membrana e na parede celular (GOULART et al. 2007).

A deterioração das estruturas de membranas reflete um processo de ruptura celular ocasionada pela rápida embebição de água pelos grãos e de acordo com Lima et al. (2008), quanto maior os danos em membranas, maior quantidade de eletrólitos é liberada na solução, resultando em maior valor de CE e LK. Segundo Illy et al. (1982) a desorganização celular permite que a água penetre e se difunda com maior facilidade com o aumento da intensidade dos danos celulares. Os testes de lixiviação de potássio e condutividade elétrica são utilizados em pesquisas como indicadores consistentes da integridade das membranas celulares. Os grãos com membranas mal estruturadas lixiviam mais solutos quando imersos em água (PRETE, 1992). Várias pesquisas demonstram que a piora da qualidade, se dá nos grãos em que a lixiviação de potássio e de condutividade elétrica aumentam (BORÉM et al., 2008; MARQUES et al., 2008; SANTOS; CHALFOUN; PIMENTA, 2009).

Percebe-se então que as doses de Zn influenciaram nas determinações de potássio lixiviado e de condutividade elétrica. Esse fato acentua a importância de uma boa nutrição das plantas de cafeeiro com o Zn, com a finalidade de se melhorar cada vez mais a qualidade do produto final que é o grão, o que resultará em melhores preços no mercado e maiores lucros para o produtor.

Nos dois anos de avaliação, os teores foliares de Zn observados nas folhas índice (ano1 $\hat{Y} = 5,4521 + 1,3667Zn$; $r^2 = 0,69$ e ano2 $\hat{Y} = 10,9162 - 1,5373Zn + 0,4994Zn^2$; $R^2 = 0,99$) quando os atributos de qualidade estavam maximizados, variaram de 8 a 12,75 mg kg⁻¹ (pontos de máximo ou mínimo) e coincidiram com a faixa considerada adequada por Martinez et al. 2003 na avaliação do estado nutricional do cafeeiro, que é de 8 a 12 mg kg⁻¹.

Análise sensorial

O café como bebida é normalmente classificado em sete grupos: estritamente mole, mole, apenas mole, dura, riada, rio e rio zona, em que as quatro primeiras consideradas bebidas finas e as três últimas bebidas fenicadas. Certos atributos podem ser adicionados a classificação, que podem levar à aquisição de características secundárias obtendo-se assim tipos de bebida tais como dura fraca, mole com bom corpo, doce e equilibrado entre outras (POLTRONIERI, 2010). No presente trabalho as características da bebida foram transformadas em escalas de valores permitindo uma avaliação quantitativa, como também foram incluídos, adicionalmente suas classificações e seus atributos (Tabela 8).

Pela avaliação sensorial (prova de xícara), verificou-se que não houve diferença significativa entre das doses de Zn, no entanto percebe-se que as maiores doses de Zn, proporcionaram atributos diferentes das menores doses, mas de modo geral correspondentes a bebidas mole, com exceção da menor dose de Zn que ficou como bebida dura (Tabela 8).

Tabela 7. Avaliação sensorial de grãos de café beneficiados, em razão das doses de zinco em solução nutritiva no segundo ano

Doses de Zn ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Prova de xícara		
	Classificação	Notas	Atributos
0,2	Bebida Dura	70	Fraco
1,0	Bebida Mole	84	Bom corpo, Acidez e Macio
2,0	Bebida Mole	85	Floral, Doce, Refinado, Equilibrado e Bom corpo
3,0	Bebida Mole	84	Doce e Achocolatado
4,0	Bebida Mole	83	Mel
Média		$\hat{y} = 81,2$	
CV (%)		1,97	

CONCLUSÕES

O incremento das doses de Zn até valores próximos a $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ permitiu maximizar nos dois anos de avaliação, os atributos relacionados à qualidade da bebida, como a atividade da PPO, os teores de sacarose, trigonelina e a acidez titulável. Doses inferiores, ou superiores permitiram o incremento dos atributos relacionados com a perda de qualidade da bebida como, os fenóis totais, ácido 5-CQA, ~~ácido málico~~, pH, potássio lixiviado e CE. Os teores foliares que se relacionaram aos pontos de máximo ou mínimo dos atributos de qualidade estudados variaram entre 8,0 e $12,75 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn, ou seja estiveram dentro da faixa considerada adequada para o cafeeiro.

O fornecimento de Zn via foliar, suplementando o fornecimento via radicular, aumentou a produção de frutos, a atividade da PPO, os teores de sacarose, trigonelina e cafeína, atributos relacionados à qualidade da bebida do café, e, promoveu redução de fenóis totais, 5-CQA, índice de coloração, atributos relacionados à perda de qualidade da bebida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIC – **Associação Brasileira da Indústria de Café**. Tendências de consumo de café. viii, 2010. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/media/EST_PESQTendenciasConsumo2010.pdf>. Acesso em: 16 Abr. 2014.

ABRAHÃO, A. A. de. et al. Classificação física e composição química do café submetido a diferentes tratamentos fungicidas. **Coffee Science**, Lavras, v. 4, n. 2, p. 100-109, 2009.

AOAC. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 15 th. Arlington, v. 1, p. 685-1213. 1990.

ALLOWAY, B. J. **Zinco em solos e nutrição das culturas**. Internacional Zinc Association, em Bruxelas, na Bélgica. 2004. Disponível em: http://www.fertilizer.org/ifacontent/.../1/.../2008_IZA_IFA_ZincInSoils.pdf (acessado em novembro de 2013).

ALLOWAY, B. J. **Zinc in Soils and Crop Nutrition**. Second edition, published by IZA and IFA Brussels, Belgium and Paris, France, 2008, 139 p.

AMORIM, H. V.; SILVA, D. M. Relationship between the polyphenol oxidase activity of coffee beans and the quality of the beverage. **Nature**, New York, v. 219, n. 27, p. 381-382, 1968.

ARRUDA, N. P. et al. Correlação entre precursores e voláteis em café arábica brasileiro processado pelas vias seca, semiúmida e úmida e discriminação através da análise por componentes principais. **Química Nova**, v.35, n.10, p. 2044-2051, 2012.

ASHIHARA, H. Metabolism of alkaloids in coffee plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Rio de Janeiro, v.18, n.1, p.1–8, 2006.

AVELINO, J. et al. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of Science Food and Agriculture**, Sussex, v. 85, p. 1869-1876, 2005.

BORÉM, F. M. et al. Caractization of the moment of endosperm cell damage during coffee drying. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 22., 2008. Campinas. **Resumes...** Campinas: ASIC, 2008a. p. 14-19.

BOARDMAN, R., MCGUIRE, D. O. The role of zinc in forestry. In: Zinc in forest environments, ecosystems and tree nutrition forest ecology. Umea, **Forest Ecology and Management**, v. 37, n. 1, p. 167-205, 1990.

BUCKERIDGE, M. S. et al. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes: estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 12, p. 137-162, 2000. Edição especial.

CLIFFORD, M. N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products.

In: CLIFFORD, M. N.; WILLSON, K. C. **Coffee, botany, biochemistry and production of beans and beverage**. London: CROOMBELM, p. 305-359, 1985.

CAMPA, C. et al. Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild *Coffea* species. **Food Chemistry**, Oxford, v. 93, n. 1, p. 135–139, 2005.

CAMPA, C. et al. Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. **Food Chemistry**, Oxford, v. 88, n. 1, p. 39-43, 2004.

CARVALHO, V.D.; CHAGAS, S.J.R.; CHALFOUN, S.M.; BOTREL, N.; JUSTE JÚNIOR, E.S.G. Relação entre a composição físico-química e química do grão beneficiado e qualidade da bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 449-454. 1994.

CARVALHO, V. D. de; CHALFOUN, S. M.; CHAGAS, S. J. de R. Relação entre classificação do café pela bebida e composição físico-química, química e microflora do grão beneficiado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15., 1989, Maringá. **Anais...** Maringá: MEC/IBC, 1989. p. 25-26.

CAKMAK, I. and MARSCHNER, H. Decrease in nitrate uptake and increase in proton release in zinc deficient cotton, sunflower and buckwheat plants. **Plant Soil**, Slezská, v. 129, p. 261–268, 1990.

CAKMAK, I. and MARSCHNER, H. Increase in membrane permeability and exsudation of roots of zinc deficient plants. **Journal of Plant Physiol.** Bristol, v. 132, p. 356–361, 1988.

CHAGAS, S. J. R. et al. Caracterização química e qualitativa de cafés de alguns municípios de três regiões produtoras de Minas Gerais. II. Valores de acidez titulável e teores de açúcares (redutores, não redutores e totais). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, p. 224-231, 1996.

CHALFOUN, S.M.S. **O café (*Coffea arabica* L.) na Região Sul de Minas Gerais - relação da qualidade com fatores ambientais, estruturais e tecnológicos**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996. 171p.

CLEMENTE, J. M. et al. Effect of N and K doses in nutritive solution on growth, production and coffee bean size. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 2, p. 279-285, 2013.

CLEMENTE, J. M. **Nutrição nitrogenada e potássica afetando crescimento, produção, composição química e qualidade da bebida de *Coffea arabica***. Viçosa: UFV, 2010. 54p. (Dissertação em Fitotecnia)

CLIFFORD, M. N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: CLIFFORD, M. N.; WILLSON, K. C. (Ed.). **Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage**. Westport: Croom Helm, 1985. chap. 13, p. 305-374.

CORADI, P. C. et al. Effect of drying and storage conditions on the quality of natural

and washed coffee. **Coffe Science**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 38-47, 2007.

CORRÊA, P. C.; SILVA, C. G.; MIANDA, L. C. G. Qualidade da bebida do café (*Coffea arabica*L.) avaliada por espectrofotometria. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 22, p. 9-12, 1997.

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

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

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

FARAH, A. **Distribuição nos grãos, importância na qualidade da bebida e biodisponibilidade dos ácidos clorogênicos do café**. 2004. (Dissertação de mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

FARAH, A. et al. Formation of chlorogenic acids lactones in roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 5, p. 1105-1113, 2005.

FAVARO, J. R. A. **Crescimento e produção de Coffea arabica L. em resposta à nutrição foliar de zinco na presença de cloreto de potássio**. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa. 1992, 83p.

FELDMAN, J.R. et al. Importance of non volatile compounds to the flavor of coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.17, p.733-739, 1969.

FIGUEIREDO, L. P. **Abordagem sensorial e química da expressão de genótipos de Bourbon em diferentes ambientes**. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, 2013, 127 p.

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

FRANCA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; OLIVEIRA, S. S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **LWT- Food Science and Technology**, Oxford, v. 38, n. 7, p. 709-715, 2004.

FRANCA, A. S. et al. Physical and chemical attributes of detective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, Oxford, v. 90, n. 1-2, p. 89-94, 2005.

GOULART, P. F. P. et al. Aspectos histoquímicos e morfológicos de Grãos de café de Diferentes qualidades. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 3, p. 662-666, 2007.

HANSCH, R. e MENDEL, R. R. As funções fisiológicas de micronutrientes minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 1,

p. 259 – 266, 2009.

HAGERMAN, A. E. **Tannin chemistry**. 2002. Disponível em: <<http://www.users.muohio.edu/hagermae/>>. Acesso em 12 de março de 2013.

HASLAM, E. **Plant polyphenols vegetables tannins**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989, 230 p.

ILLY, A.; VIANI, R. **Express coffee: the chemistry of quality**. London: Academic Press, 1995, 253 p.

KAYA, C.; HIGGS, D. Inter-relationships between zinc nutrition, growth parameters and nutrient physiology in a hydroponically grown tomato cultivar. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, n. 10, p. 1491-1503, 2001.

KHURANA, N.; CHATTERJEE, C. Influence of variable zinc on yield, oil content, and physiology of sunflower. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.3 2, n. 19-20, p. 3023-3030, 2001.

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

KIRKBY, E. A; RÖMHELD, V. **Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade**. Tradução: Suzana Oellers Ferreira. Encarte Técnico. 2007. (Informações Agronômicas nº 118)

KY, C. L. et al., Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. **Food Chemistry**, v. 75, n. 1, p.223–230, 2001.

KOSHIRO, Y. et al., 2006. Changes in content and biosynthetic activity of caffeine and trigonelline during growth and ripening of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* fruits. **Plant Science**, 171, pp.242–250.

LANTICAN, M. A., PRINGALI, P. L. and RAJARAM, S. Are marginal wheat environments catching up. **CYMMIT World Wheat Overview and Outlook**. Part 2, p. 39-44, 2001.

LEITE, I. P.; CARVALHO, V. D. Influência do local de cultivo e do tipo de colheita nas características físicas, composição química do grão e qualidade do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, p.299-308, 1994.

LIMA, A. R. et al. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Química Nova**. São Paulo, v. 33, n. 1, p. 20-24, 2010.

LIMA, M. V. et al. Preparo do café despulpado, cereja descascado e natural na região sudoeste da Bahia. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 55, n. 2, p. 124-130, 2008.

LIMA, D. M. **Armazenabilidade de sementes de Coffea arabica L. e de Coffea canephora Pierre, submetidas a diferentes métodos de desmucilagem e de secagem.** Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2005. 106 p.

LÓPEZ-GALILEA, I.; PEÑA, M. P. DE; CID, C. Correlation of selected constituents with the total antioxidant capacity of coffee beverages: influence of the brewing procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, n. 1, p. 6110-6117, 2007.

MAFRA, D. et al. The importance of zinc in human nutrition. **Revista de Nutrição**, v.17, n.1, p.79- 87, 2004.

MALAVOLTA, E. **Nutrição Mineral e Adubação do Cafeeiro: Colheitas econômicas máximas.** São Paulo: Agronômica Ceres, 1993. 210 p.

MALTA, M. R.; CHAGAS, S. J. de R.; OLIVEIRA, W. M. de. Composição físico-química e qualidade do café submetido a diferentes tipos de processamento (natural, descascado e desmucilado). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003. Porto Seguro. **Anais...** Brasília: EMBRAPA CAFÉ, 2003. p. 259.

MALTA, M. R.; CHAGAS, S. J. R. Avaliação de compostos não-voláteis em diferentes cultivares de cafeeiro produzidas na região Sul de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 57-61, 2009.

MALTA, M. R.; SANTOS, M. L.; SILVA, F. A. M. Qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1385-1390, 2002.

MARTINEZ, H. E. P., CLEMENTE, J. M. **O uso do cultivo hidropônico de plantas em pesquisa.** 1ª ed. Viçosa, Editora UFV. 2011, 76p.

MARTINEZ, H. E. P. et al. Faixas críticas de concentrações de nutrientes e avaliação do estado nutricional de cafeeiros em quatro regiões de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 38, p. 703-713, 2003.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants.** 3ed. New York, Academic Press, 2012. 651p.

MARCUCCI, C. T., BENASSI, M. T., ALMEIDA, M. B., NIXDORF, S. L. Teores de trigonelina, ácido 5-cafeoilquínico, cafeína e melanoidinas em cafés solúveis comerciais brasileiros. **Química Nova**, v. 36, N. 4, 544-548, 2013.

MARQUES, E. R. et al. Eficácia do teste de acidez graxa na avaliação da qualidade do café arábica (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes períodos de temperatura e pré-secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 32, n. 5, p. 1557-1562, 2008.

MAZZAFERA, P.; GONÇALVES, K.V.; SHIMIZU, M.M. Extração e dosagem da atividade da polifenoloxidase do café. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 4, p.695-700, out./dez. 2002.

MAZZAFERA, P., 1994. Caffeine, theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguariensis*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 6, n. 1, p. 149-151.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 5. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849 p.

MENDONÇA, L. M. V. L. et al. Composição química de grãos crus de cultivares de *Coffea arabica* L. suscetíveis e resistentes à *Hemileia vastatrix* Berg et Br. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 413-419, 2007.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. 4.ed. Berna: International Potash Institute, 1987. 687p.

MENEZES, H. C. **Variação dos monoisômeros e diisômeros do ácido cafeoilquínico com maturação de café**. 1990. 171 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.

MENDONCA, L. M. V. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDES, A. N. G. Parâmetro bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 239-243, 2005.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E REFORMA AGRÁRIA. **Manual de análise de semente**. Brasília, 1992. P. 183-190.

MONTEIRO, M. C.; FARAH, A. Chlorogenic acids in Brazilian *Coffea Arabica* cultivars from various consecutive crops. **Food Chemistry**, Oxford, 134, p. 611- 614, 2012.

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

MORAIS, S. A. L., AQUINO, F. J. T., NASCIMENTO, P. M., NASCIMENTO, E. A., compostos bioativos e Chang R. atividade antioxidante de Conilon café submetido a diferentes graus de torrefação. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 327-331. 2009.

PEREIRA, R. G. F. A.; VILLELA, T. C.; ANDRADE, E. T. Composição química de grãos de cafés (*coffea arábica* L.) submetidos a diferentes tipos de pré-processamento. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2002, VITÓRIA. **Resumos...** Brasília, DF: Embrapa, 2002. p. 826-831.

PINTO, N. A. V. D. et al. Caracterização química e sensorial de bebidas e blends de cafés torrados tipo expresso. Industrialização e qualidade do café. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2002, Vitória. **Anais...** Porto Velho: EMBRAPA, 2002. v. 4, p. 1136-1139.

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

POLTRONIERI, N. Y. **Conteúdo foliar de zinco, produção, qualidade de grãos e plasticidade foliar do cafeeiro em resposta ao suprimento do nutriente.** Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, 2010. 87 p.

POLTRONIERI, N. Y.; MARTINEZ, H.E.P.; CECON, P.R. Effect of zinc and its form of supply on production and quality of coffee beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 2431-2436. 2011.

PRADO, R. M. **Nutrição de plantas.** São Paulo: UNESP, 2008. 407 p.

PRETE, C.E.C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (Coffea arabica L.) e sua relação com a qualidade da bebida.** Tese (Doutorado em Fitotecnia)-ESALQ, 1992. 125p.

RIBEIRO, D. E. **Interação genótipo e ambiente na composição química e qualidade sensorial de cafés especiais em diferentes formas de processamento.** Lavras – MG (Dissertação de mestrado), 2013. 62 p.

ROGERS, W. J.; MICHAUX, S.; BASTIN, M.; BUCHELI, P. Changes to the content of sugars, sugars alcohols, myoinositol, carboxylic acids and inorganic anions in development grains from different varieties of Robusta (*Coffea canephora*) and arabica (*Coffea arabica*) coffees. **Plant Science**, v. 149, n. 2, p. 115-123, 999.

SAATH, R. **Qualidade do café natural e despulpado em diferentes condições de secagem e tempos de armazenamento.** Botucatu – SP, Tese (Doutorado em Agronomia), 2010. 229 p.

SANTOS, M. A.; CHALFOUN, S. A.; PIMENTA, C. J. Influência do processamento por via úmida e tipos de secagem sobre a composição, físico química e química do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 213-218, jan./fev. 2009.

SAGARDOY, R., Morales F, López-Millán AF, Abadía A, Abadía. Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics, **Journal of Plant Biology**, v. 11, n. 1, p. 339-50, 2009.

SALVA, T.J.G.; LIMA, V.B. A composição química do café e as características da bebida e do grão. **O Agrônomo**, Campinas. v. 59, n. 1, p. 57-59, 2007.

SAEG **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SCHERER, R. et al. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. **Food Chemistry**, v. 135, n. 11, p. 50-154, 2012.

SINGLETON, V. L. The total phenolic content of grape berries during the maturation of several varieties. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 17, p. 126-134, 1966.

SILVA, E.B.; NOGUEIRA, F.D.; GUIMARAES, P.T.G.; CHAGAS, S.J.R.; COSTA, L.; FONTES E. Doses de potássio na produção e qualidade do grão de Café beneficiado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 335-345. 1999.

SILVA, E.B.; NOGUEIRA, F.D.; GUIMARÃES, P.T.G. Qualidade dos grãos de café em função de doses de potássio. **Acta Scientiarum**, v. 24, p. 1291-1297. 2002.

SILVA, E. A. et al. The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 229-238, 2005.

SILVA, M.C. da; CASTRO, H.A.O.; FARNEZI, M.M.M.; PINTO, N.A.V.D.; SILVA, E.B. Caracterização química e sensorial de cafés da chapada de minas, visando determinar a qualidade final do café de alguns municípios produtores. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, p.1782-1787, 2009. Edição especial.

SILVA FILHO, J. B. **Índices de nitrogênio na planta e produtividade de tubérculos de batata-semente em sistema hidropônico de três fases**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2011. 75p.

SLUITER, A.; HAMES B.; RUIZ, R.; SCARLATA C.; SLUITER J.; TEMPLETON D. & CROCKER, D. **Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass**. Laboratory Analytical Procedure, 2008.

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. Chlorogenic acid composition of instant coffee. **Analyst**, v. 109, n. 3, p. 263-270, 1984.

VITORINO, M. D.; FRANÇA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; BORGES, M. L. A. Metodologia de obtenção de extrato de café visando a dosagem de compostos não voláteis. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 26, n. 3, p. 17-24, 2001.

CAPÍTULO 2

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E QUALIDADE DE CAFÉ ARÁBICA SUBMETIDO A DOSES DE COBRE

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E QUALIDADE DE CAFÉ ARÁBICA SUBMETIDO A DOSES DE COBRE

RESUMO

O cobre embora exigido em pequenas quantidades pelo cafeeiro é essencial na constituição e na ativação de varias enzimas, atuando na oxidação de compostos fenólicos, formação de lignina e síntese de aminoácidos. Tais compostos estão diretamente relacionados à qualidade química dos grãos crus do café e por isso podem influenciar na qualidade da bebida. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar a influência do Cu na composição química dos grãos e na qualidade de bebida do café. O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia (UFV-MG), em sistema hidropônico com os tratamentos arranjados em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, sendo cada parcela constituída por 2 vasos, contendo uma planta de cafeeiro em cada vaso. Os tratamentos consistiram de doses crescentes de Cu (0,05; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em solução nutritiva, mais um tratamento adicional que recebeu solução nutritiva contendo 0,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Zn via solução, e 12 pulverizações foliares com sulfato de Cu a 0,2%. Foram colhidos os grãos maduros de cada tratamento, e após sua secagem e beneficiamento determinaram-se: Acidez titulável (AT), fenóis totais, ácido 5-cafeoilquinico (5-CQA), a atividade da polifenoloxidase (PPO), os teores de sacarose, cafeína, trigonelina, K lixiviado, condutividade elétrica e análise sensorial. Verificaram-se no primeiro ano de avaliação respostas linear para a AT, atividade da enzima PPO e nos teores de sacarose para as doses de Cu. No segundo a AT, atividades da enzima PPO se ajustaram a função raiz quadrada e a sacarose ao modelo quadrático. Os teores de trigonelina no primeiro ano apresentaram resposta segundo a função raiz quadrada e para o segundo ano não se verificou efeito das doses de Cu. No primeiro ano os teores de fenóis totais e 5-CQA decresceram segundo ao modelo de raiz quadrada até um ponto de mínimo, com posterior incremento com as doses de Cu, para o segundo ano os fenóis totais se ajustaram ao modelo quadrático e o ácido 5-CQA a função raiz quadrada. As doses de Cu via solução nutritiva e pulverização foliar influenciaram positivamente a atividade da PPO, os teores de sacarose e trigonelina, e negativamente fenóis totais e 5-CQA, atributos relacionados à qualidade dos grãos de café. Os teores foliares que se relacionaram aos pontos de máximo ou mínimo dos atributos de qualidade estudados

variaram entre 5,8 e 11,37 mg kg⁻¹ de Cu.

PALAVRAS-CHAVE: Coffea arabica L., qualidade de café, cobre

**CHEMICAL COMPOSITION AND QUALITY OF COFFEE ARABIC
SUBMITTED TO DOSES OF COPPER**

ABSTRACT

Copper although required in small amounts by the coffee is essential in the formation and activation of several enzymes, acting in the oxidation of phenolic compounds, lignin formation and synthesis of amino acids. Such compounds are directly related to the chemical quality of raw coffee beans and therefore may influence the quality of the drink. The objective of this study was to evaluate the influence of Cu in the chemical composition of the grains and quality of coffee beverage. The experiment was conducted in the greenhouse of the Department of Plant Science (UFV-MG), hydroponically with treatments arranged in a completely randomized design with three replications, each plot had 2 pots containing one plant of coffee in each pot. Treatments consisted of increasing doses of Cu (0.05, 0.1, 0.2, 0.4 and 0.8 mmol L⁻¹) in nutrient solution, and an additional treatment that received nutrient solution containing 0.05 micromol L⁻¹ via the nutrient solution, and 12 with foliar sprays of 0.2% copper sulfate. Mature grains from each treatment were collected and after drying and processing were analyzed to the following features: titratable acidity (TA), total phenols, 5-caffeoilquinic acid (5-CQA), the activity of polyphenol oxidase (PPO), the levels of sucrose, caffeine, trigonelline, leached K, electrical conductivity and sensory analysis. In the first year of assessment we obtained linear responses to AT, PPO enzyme activity and sucrose levels for doses of Cu. In the second year AT, PPO enzyme activities were adjusted to square root function sucrose and the quadratic model. The contents of trigonelline in the first year showed response according to the square root function and for the second year there was no effect of doses of Cu. In the first year the total phenol and 5-CQA second to the square root model decreased to a minimum point, with further increase with doses of Cu, for the second year total phenols adjusted the quadratic model and the 5-CQA square root function. Doses of Cu via nutrient solution and foliar spraying positively influenced the activity of PPO, the levels of sucrose and

trigonelline, and negatively total phenols and 5-CQA, related to the quality of coffee beans attributes. Leaf contents that related to the points of maximum or minimum of the quality attributes studied ranged between 5.8 and 11.37 mg kg⁻¹ of Cu.

Key words: Coffea arabica L., quality coffee, copper

INTRODUÇÃO

Devido às mudanças nas preferências do consumidor, a qualidade da bebida do café tem recebido atenção especial do setor cafeeiro, tornando-se a responsável pela difusão e adoção de novas tecnologias na cadeia produtiva do café (ABIC, 2013). Atualmente, o consumidor paga mais por produtos que possuam atributos associados à bebida, entre outros, aroma, sabor, acidez, corpo, adstringência e sabor residual (SAATH, 2010).

A qualidade da bebida é primordial para valorizar o produto (International Coffee Organization – ICO, 1991). Essa está associada aos diversos constituintes químicos do grão, responsáveis pelas características qualitativas da bebida (BYTOF et al., 2005; BYTOF et al., 2007; CHALFOUN; PARIZZI, 2008). E como o sabor característico do café como bebida é proveniente do grão, este é diretamente relacionado com as variedades e influenciado por tratos agrícolas (adubação no solo ou foliar), processos de secagem, fermentação, torrefação, moagem e envase (CAIXETA, 1999).

Independentemente da natureza dos cafés, a qualidade depende diretamente da sua composição química. Todos os atributos são consequência da presença de alguns componentes químicos, ou de combinações desses mesmos constituintes, em determinadas proporções (BUFFO; CARDELLI-FREIRE, 2004/2008; TOCI; FARAH, 2008). Assim, se torna possível definir a qualidade do café, relacionando-a quer com a quantificação de determinados constituintes, quer pela ausência de outros (CASAL et al. 2000; CASAL, 2004).

Vale ressaltar que a composição química dos grãos do café como também as suas variações qualitativas e quantitativas, já vem sendo analisadas por diversos pesquisadores, em função da espécie estudada, dos efeitos isolados do processamento, do ambiente de cultivo e do manejo (AVELINO et al., 2005; CAMPA et al., 2005;

DUARTE et al., 2010; KNOPP et al., 2006; MONTEIRO; FARAH, 2012; RIBEIRO, 2013). Dentre os componentes físico-químicos do grão cru do café, se destacam os isômeros do ácido clorogênico (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA), cafeína, trigonelina, fenóis e sacarose, os quais se mostram ter estreita relação com a qualidade sensorial da bebida e sua classificação (FARAH et al., 2006; FRANCA et al., 2005; SILVA et al., 2005).

Outra característica bioquímica do grão que apresenta maior correlação com a qualidade final do café é a atividade da enzima cúprica polifenoloxidase, pois de acordo com vários autores, se mostra diretamente relacionada com a qualidade da bebida do café (CARVALHO et al., 1994; MAZZAFERA et al., 2002; SILVA et al., 2009). Segundo Carvalho et al. (1994), cafés de melhor qualidade de bebida possuem elevada atividade enzimática da polifenoloxidase e elevado índice de coloração. Esses mesmos autores verificaram que as variações da atividade enzimática da polifenoloxidase, permitem separar as classes de bebida, mostrando para o café “riado e rio” atividades inferiores a $55,99 \text{ U g}^{-1}$ de amostra; nos cafés de bebida “dura” atividades entre $55,99$ e $62,99 \text{ U g}^{-1}$ de amostra; nos cafés de bebida “mole” atividades entre $62,99$ e $67,66 \text{ U g}^{-1}$ de amostra e nos cafés de bebida “estritamente mole” atividades superiores a $67,66 \text{ U g}^{-1}$ de amostra, constatando assim um aumento significativo na atividade da polifenoloxidase à medida que o café se apresenta com melhor qualidade.

Dentre as condições de manejo, a adubação e a nutrição da planta com micronutrientes por via radicular ou foliar podem influenciar a composição química do grão verde, o qual, após torrado, produz compostos que conferem características de aroma e sabor ao café. Essa influencia da nutrição mineral foi verificada em vários trabalhos de pesquisa para nitrogênio e potássio (SILVA et al., 1999; SILVA et al., 2002; MALTA et al., 2003; CLEMENTE, 2010).

Em relação aos micronutrientes e sua influencia na formação de compostos nos grãos e na qualidade da bebida do café, poucos são os estudos, limitando-se ao efeito do zinco na qualidade da bebida do café (POLTRONIERI et al. 2011; MARTINEZ et al. 2013). Não há relatos sobre a relação entre o Cu via solução nutritiva e pulverização foliar com a qualidade dos grãos de café.

Mediante o exposto, e em virtude da busca pela produção de cafés de melhor qualidade percebe-se a necessidade de se pesquisar a relação da nutrição mineral com cobre e a qualidade da bebida do café. O cobre está diretamente envolvido na constituição e na ativação de varias enzimas. Uma dessas enzimas é a polifenoloxidase e

oxidase de diamina, que catalisam a oxidação de compostos fenólicos a cetonas, precursores da lignina (MARSCHNER, 2012; MENGEL e KIRBY, 2001).

No contexto destas considerações, este estudo teve como objetivo avaliar a influência do cobre na produção, na composição química dos grãos de café e na qualidade de bebida.

MATERIAL E MÉTODOS

Sistema de cultivo e condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), situada no município de Viçosa, MG, localizada nas coordenadas 20° 45'S sul e 42° 51'O, com altitude média de 651 m, no período de agosto de 2010 a agosto de 2013. A temperatura média anual durante o período de condução do experimento foi de 22,4 °C, com temperatura máxima de 45 °C e mínima de 12°C, dentro da casa de vegetação.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições, sendo cada parcela constituída por 2 vasos, contendo cada um, uma planta, totalizando 72 vasos.

Os tratamentos consistiram de doses de Cu em solução nutritiva. No primeiro ano de avaliação empregaram-se as doses de 0,05; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$. No segundo ano de avaliação as doses foram ajustadas para 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 e 3,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu. A mudança nas doses de Cu se fez em virtude das plantas mostrarem deficiência aguda do nutriente, demonstrando com isso que os valores utilizados na solução nutritiva eram insuficientes para produção de grão na segunda safra, com isso afetaria os resultados do experimento.

Nos dois anos houve um tratamento adicional em que se forneceu 0,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu via solução nutritiva, complementando a dose com pulverizações foliares mensais à base de sulfato de Cu na concentração de 0,2%, sendo aplicado um total de 12 pulverizações a cada ano de cultivo. Os demais nutrientes foram fornecidos nas concentrações preconizadas por Clemente et al. (2013).

Foram utilizadas mudas enxertadas em fenda cheia, de café da variedade Catuaí Vermelho IAC 99. Foi utilizada a própria variedade IAC 99 como porta enxerto (cavalo) e enxerto (cavaleiro). Para o enxerto foram utilizados somente os ramos

plagiotrópicos. O processo de enxertia foi feito com intuito de reduzir a fase vegetativa das plantas, favorecendo com isso uma frutificação precoce. Na fase pré-experimental as plantas foram conduzidas em recipientes retangulares de polietileno rígido (30 cm x 74 cm x 14 cm), com volume de 25 litros com solução nutritiva de 0,5 força e aeração forçada.

Posteriormente as mudas foram transplantadas para os vasos plásticos com capacidade de 11 L, contendo uma muda por vaso, preenchidos com areia lavada e uma camada de 2 cm de argila expandida no fundo recoberta por tela de sombrite de 50%, conforme Figura 1. No segundo ano de condução as plantas foram transferidas para vasos de 20 L de capacidade preparados da mesma forma descrita anteriormente. Os substratos (areia e argila expandida) utilizados, foram lavados com HCl a 18% e ácido oxálico a 1%, água e água desionizada conforme descrito por Martinez e Clemente (2011).

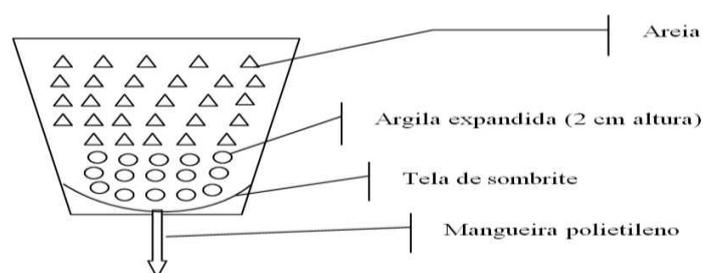


Figura 1 – Detalhamento do vaso que foi utilizado no experimento. Fonte: Silva Filho (2011).

O sistema hidropônico utilizado foi o de três fases circulante. As plantas receberam diariamente aplicações de solução nutritiva no volume de 9,6 litros/vaso, cujo excesso foi drenado para um reservatório de descarga de 50 L. Esse reservatório foi equipado com eletrobomba que recalrava a solução drenada para os vasos, conforme a Figura 2. O controle da circulação da solução nutritiva foi realizado com o auxílio de um temporizador analógico programado para acionar a eletrobomba durante 1 minuto com vazão de 1,6 L/min por vaso e intervalos de 3 horas entre irrigações durante o dia. À noite o sistema permanecia desligado.

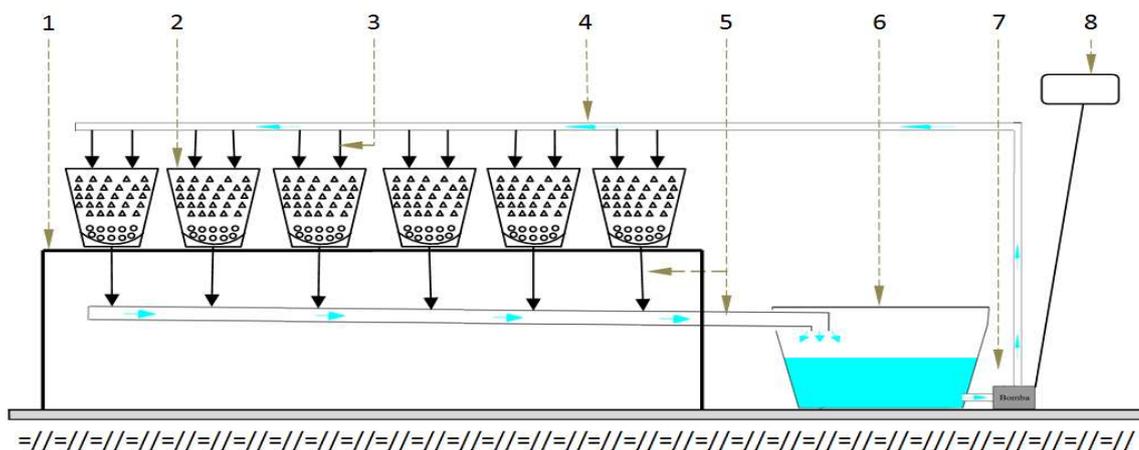


Figura 2 – Perfil do sistema hidropônico circulante de 3 fases. Legenda: 1- bancada do experimento; 2- vaso cônico; 3- linha secundária de irrigação (microtubos); 4- linha principal de irrigação (mangueira de 16 mm PN30); 5- tubulação de descarga; 6- reservatório; 7- eletrobomba 34W; 8- temporizador. Fonte: Silva Filho (2011).

A solução nutritiva continha 6; 0,5; 3,23; 2,25; 1 e 1,75 mmol L⁻¹ de N, P, K, Ca, Mg, S e 40; 12; 23; 0,5 e 0,3 μmol L⁻¹ de Fe, Mn, B, Cu e Mo, respectivamente, conforme descrito por Clemente et al (2013). O volume da solução foi monitorado diariamente, e completado com água até o volume inicial de 50 L em cada reservatório. O pH da solução foi monitorado e mantido entre 5,5 e 6,0 mediante ajustes com a adição de HCl ou NaOH. Para determinar o momento da troca da solução nutritiva foram utilizados os valores de condutividade elétrica (CE), procedendo-se a troca ao verificar-se uma depleção correspondente a 30% da CE inicial. Foram utilizados os seguintes sais: KH₂PO₄, MgSO₄, K₂SO₄, KNO₃, Ca(NO₃)₂, NaNO₃, CuSO₄, ZnSO₄, MnCl₂, H₃BO₃, (NH₄)₆Mo₇, FeCl₂ e Na₂EDTA. A solução nutritiva foi contida em 12 reservatórios de plástico de 50 L, segundo os tratamentos e cada reservatório forneceu solução a seis vasos com uma planta cada.

As soluções estoque de macronutrientes foram purificadas pelo método da APDC (amoniopirrolidinaditiocarbamato) e a solução de FeCl₃ usando-se a resina trocadora específica para Zn (Dowex 1X-8 de 50 mesh) conforme descrito por Martinez e Clemente (2011).

a) Avaliações

Produção

Os frutos foram colhidos individualmente no estágio de maturação cereja. Foram avaliadas as produções das duas plantas da parcela, sendo feita a contagem dos frutos de

cada planta, sendo esse valor convertido em produção por planta (frutos/planta).

Posteriormente os frutos foram colocados para secar sobre leito de papel toalha, sobre bancadas, em casa de vegetação até atingirem 11 a 12% de umidade. Após a secagem, foram descascados obtendo-se assim os grãos beneficiados. Os grãos beneficiados foram pesados, obtendo-se o peso das duas plantas da parcela, sendo esse valor convertido em produção por planta (g/planta), e posteriores foram feitas as análises químicas.

b) Estado nutricional das plantas

O estado nutricional das plantas foi avaliado no início do pleno florescimento da cultura. Para realizar análise química foliar foram coletadas as folhas do terceiro ou quarto nó, contado do ápice para a base, dos ramos plagiotrópicos em floração. O material amostrado foi lavado em água desionizada e seco em estufa de ventilação forçada de ar a 70 °C, por 72 horas. Em seguida o material foi moído em moinho tipo Wiley equipado com peneira de 20 mesh. Os teores de Zn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica conforme método adaptado de Malavolta et al. (1997).

c) Qualidade dos Grãos

Acidez Titulável

A acidez titulável foi determinada pelo método descrito pela AOAC (1990). Amostras de 1 g de café cru moído receberam 25 mL de água destilada e foram colocadas em agitador elétrico por 1 hora a 150 rpm, em seguida procedeu-se a filtragem em papel de filtro. Uma alíquota de 5 mL da solução filtrada foi adicionada a um erlenmeyer junto a 50 mL de água destilada e 3 gotas de fenolftaleína (1%), procedendo-se a titulação com NaOH (0,1 mol L⁻¹). O resultado foi expresso em mL de NaOH 0,1 (mol/L)/100g de amostra.

Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos (málico, tartárico e cítrico) foram determinados de acordo com Scherer et al., (2012). Uma amostra de 0,3 g, de grãos de café moído foi triturada em politron com 10 mL de água ultra-pura. Uma alíquota de 0,5 mL foi agitada com 1,5 mL da fase móvel que constuiu-se de KH₂PO₄ 0,01 mol L⁻¹ (pH 2,6). O sobrenadante

foi filtrado em filtro com membrana de 0,45 μm , e injetado diretamente em tubos de HPLC. As análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com coluna C18 de fase reversa.

Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi determinado pelo método descrito pela AOAC (1990). Amostras de 2g de café cru moído receberam 50 mL de água destilada e foram colocadas em centrífuga por 1 hora a 150 rpm. Em seguida foi feita a filtragem em papel de filtro quantitativo de 9 cm de diâmetro e posteriormente foi feita a leitura com peagâmetro digital.

Fenóis Totais

A determinação dos compostos fenólicos totais na bebida do café foi realizada pelo método de Folin Denis, descrito pela Association of Official Agriculture Chemists-AOAC (1990). Uma amostra de 0,5 g de grãos foi extraída com 30 mL de metanol 50% sob agitação constante durante 15 minutos usando-se tubos com tampa rosqueada, seguido de filtragem em papel de filtro qualitativo n° 4.

Em uma alíquota de 0,1 mL do extrato adicionaram-se 2,5 mL de uma solução aquosa do reativo de Folin-Ciocalteu (10%) e 2,0 mL de uma solução recém-preparada de carbonato de sódio a 7,5%. Manteve-se solução em um banho de água a uma temperatura de 50 °C por 5 minutos. A absorbância foi registrada em um espectrofotômetro de UV/VIS a 760 nm. A curva de calibração foi feita com solução aquosa de ácido gálico nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As leituras foram feitas contra um branco. Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico.

Ácidos clorogênicos (3- cafeoilquinico, 4-cafeoilquinico e 5-cafeoilquinico)

Os ácidos clorogênicos foram extraídas com metanol aquoso (40 %) e clarificado com soluções de Carrez I e II (FARAH et al, 2005; TRUGO e MACRAE, 1984). As extrações foram realizadas da seguinte forma: amostras de café moído (0,5 g) foram extraídas com 80 mL de metanol 40% e transferidas para balões volumétricos de 100 mL. Em cada amostra foram adicionados 2 mL das soluções Carrez 1 e 2; após completar o volume para 100 mL e agitar, a mistura foi deixada em repouso por 10 minutos. O precipitado foi filtrado em papel de filtro Watman n°1; posteriormente foi

passado novamente em filtro com membrana de 0,45 μm , e injetado diretamente em tubos de HPLC. A curva de calibração foi plotada usando-se a mistura de isômeros em concentrações variando de 10 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Polifenoloxidase (PPO)

Uma amostra de 1 grama de café cru foi moído e colocada com 10 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0, a 4°C, contendo 1% de ácido ascórbico. O material foi deixado em banho de gelo sob agitação por 10 minutos. Em seguida o extrato foi filtrado em papel de filtro comum, e o filtrado mantido em gelo para posterior dosagem da atividade.

O substrato utilizado para a dosagem da atividade da enzima foi o DOPA (3,4 – dihidroxifenilalanina), como usado por Carvalho et al. (1994) e Correa et al. (1997) – 8 mg de DOPA dissolvidos em 10 mL do tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0.

A seguir, em uma alíquota de 900 μL do tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0 contendo DOPA foram adicionados 100 μL do extrato. Imediatamente após a adição do extrato na cubeta de leitura foi feita a leitura de absorvância em 420 nm, e a partir daí a cada 15 segundos durante 5 minutos.

Índice de coloração

O índice de coloração foi determinado pelo método descrito por Singleton (1966), adaptado para café. Uma amostra de 1 g de café cru moído foi colocado em erlenmeyer ao qual foram adicionados 25 mL de água destilada. A amostra foi homogeneizada em agitador por 1 hora. Procedeu-se a filtração em papel de filtro quantitativo de 9 cm de diâmetro, sendo tomada uma alíquota de 5 mL do filtrado aos quais foram adicionados a 10 mL de água destilada. As amostras foram deixadas em repouso por 20 minutos e lidas em espectrofotômetro ajustado para 425 nm.

Cafeína e trigonelina

Os componentes químicos cafeína e trigonelina foram determinados pelo método descrito por Mazzafera (1994) e Vitorino et al. (2001). Os grãos de café foram moídos em moinho de bolas e uma amostra de 0,1 g foi extraída com 10 mL de metanol 80% durante 1 hora em banho-maria (80 °C), com ocasional agitação. Depois de resfriarem em temperatura ambiente, uma alíquota de 2 mL foi centrifugada em durante

10 minutos. O sobrenadante foi filtrado em filtro com membrana de 0,45 μm , e injetado diretamente em tubos de HPLC. As análises foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com coluna Acclaim 120 C18 de fase reversa. O sistema encontrava-se acoplado a um fotodetector de arranjo de diodos que por sua vez estava conectado por interface a um microcomputador para processamento de dados.

A análise de cafeína foram feitas tendo como solvente o metanol e água na proporção de 40:60 e fluxo de 1 mL minuto^{-1} , sendo detectada em 272 nm. A quantificação foi feita por comparação com o padrão de cafeína pura.

As análises de trigonelina foram feitas tendo metanol, água e ácido acético na proporção de 20:79:1 e fluxo de 1 mL minuto^{-1} , sendo detectada em 265 nm. A quantificação foi feita por comparação ao padrão externo de trigonelina pura. A curva de calibração para cafeína e trigonelina foi feita em concentrações variando de 0 a 175 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Proantocianidinas

Uma amostra de 0,3 g de café moído foi extraído com 10 mL de metanol 80% sob agitação constante durante 24 horas em temperatura ambiente, usando-se tubos com tampa rosqueada, seguido de filtração em papel de filtro qualitativo n° 4.

Transferiu-se 0,10 mL do extrato bruto para um tubo de ensaio e adicionaram-se 2,0 ml de uma solução recém preparada de vanilina em ácido sulfúrico 70% na concentração de 1g/100mL. A solução resultante foi colocada em banho de água a 50 °C por 15 minutos. Mediu-se a absorvância a 500 nm. Juntamente com os extratos preparou-se uma curva de calibração com catequina nas concentrações de 2, 5, 10, 20 e 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Tanto as amostras quanto os padrões da curva de calibração passaram pelo mesmo tratamento. A leitura foi feita contra um branco e os resultados expressos em equivalentes de catequina (HAGERMAN, 2002 e HASLAM, 1989).

Sacarose

Uma amostra de 0,05 g foi colocada em tubo de centrífuga, na qual foi adicionado 1 mL de etanol 80%, em seguida foram imersos em banho de água (80 °C) durante 20 minutos. Posteriormente as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante vertido em outro tubo de centrífuga. Sobre o resíduo foi adicionado 1 mL de etanol 80% e o processo foi repetido novamente. Os sobrenadantes foram centrifugados

durante 1 minuto, passado em filtro de membrana de 0,45 μ m e injetado em tubos de HPLC.

Para determinação da sacarose foi utilizado um detector de índice de refração e uma coluna SP 0810 (300mm X 8 mm) em temperatura de 80 °C; utilizou-se água ultra-pura como fase móvel em fluxo de 1 mL/minuto. A curva de calibração foi feita nas concentrações de 0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg mL⁻¹ utilizando-se sacarose pura (SLUITER et al. 2008).

Glicose, manose, arabinose e galactose

Os açúcares redutores (glicose, manose, arabinose e galactose) foram determinados pelo método descrito por SLUITER et al., (2008). Amostras de café (0,5 g) foram submetidas à hidrólise ácida com 3 mL de ácido sulfúrico 72% e mantidas em banho-maria (50 °C) durante 7 minutos. Posteriormente ao pré-tratamento foram adicionados 84 mL de água ultra-pura, as amostras foram autoclavadas durante 45 minutos (121 °C). Depois de resfriadas a temperatura ambiente, uma alíquota de 10 ml foi transferida para enlenmeyer e o pH corrigido para valores entre 4 e 6 com carbonato de cálcio puro. O sobrenadante foi coletado e passado em membrana de filtro de 0,45 μ m e injetados em tubos para HPLC.

Para determinação desses açúcares foi utilizado um detector de índice de refração a 50 °C e uma coluna SP 0810 (300mm X 8 mm) em temperatura 80 °C; utilizou-se água ultra-pura como fase móvel e fluxo de 0,6 mL minuto⁻¹. A quantificação foi feita por comparação com os padrões de glicose, manose, arabinose e galactose. A curva de calibração foi construída nas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 mg ml⁻¹ para todos os açúcares.

Potássio lixiviado e condutividade elétrica

O potássio lixiviado e condutividade elétrica foram determinados pelo método descrito por Prete (1992). Amostras de 50 grãos de café beneficiado foram colocadas em copos plásticos de 180 mL, aos quais foram adicionados 75 mL de água destilada; em seguida foram colocadas em estufa ventilada por 5 horas. Após esse tempo foram realizadas leituras das condutividades elétricas. De cada amostra retirou-se uma alíquota para realizar a leitura do K lixiviado em fotômetro de chama.

Teor de água

O teor de água foi determinado pelo método padrão da estufa a $105\pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, de acordo com metodologia proposta por Mara (1992).

Análise sensorial

A prova de xícara foi realizada no segundo ano de produção, por provadores profissionais da “3 Irmãos Corretora de Café”. Para realização das análises estatísticas os resultados obtidos para classificação da bebida pela prova de xícara foram convertidos em valores numéricos. Estes valores constam na tabela 1.

Tabela1 – Notas estabelecidas para cada classificação obtida pela prova de xícara

Classificação	Notas
Estritamente Mole (Cafés especiais)	88
Mole	80
Apenas Mole	70
Duro	60
Duro/Riado	59
Duro Fermentado	58
Duro/Riado/Rio	57
Riado	55
Riado/Rio	53
Rio	50
Rio Zona	45

d) Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. Aplicou-se análise de regressão para avaliar os efeitos de doses de Zn e teste de Dunnett para comparar as doses de Zn com o tratamento testemunha. Os modelos foram selecionados com base na significância, dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste “t”, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no fenômeno biológico e no coeficiente de determinação. Os dados foram analisados usando-se o programa SAEG 9.0 (Sistema de Análise Estatística e Genética) (SAEG, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) Produção

Nos dois anos houve efeito significativo das doses de Cu para produção de grãos de cafeeiro. No primeiro ano o aumento da dose de cobre na solução nutritiva proporcionou efeito linear crescente para produção de grãos de cafeeiro, sendo os teores foliares de 5,80 mg kg⁻¹ de Cu ($\hat{Y} = 2,8444 + 3,7018Cu$; $r^2 = 0,88$), os que se relacionaram ao ponto de maior produção (21 g por planta) (Figuras 3A). No segundo ano a produção de grãos se ajustou ao modelo quadrático, apresentando o ponto de máxima produção (38,6 g por planta) na dose estimada de 1,45 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de 7,20 mg kg⁻¹ de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907Cu$; $r^2 = 0,98$) (Figura 3B).

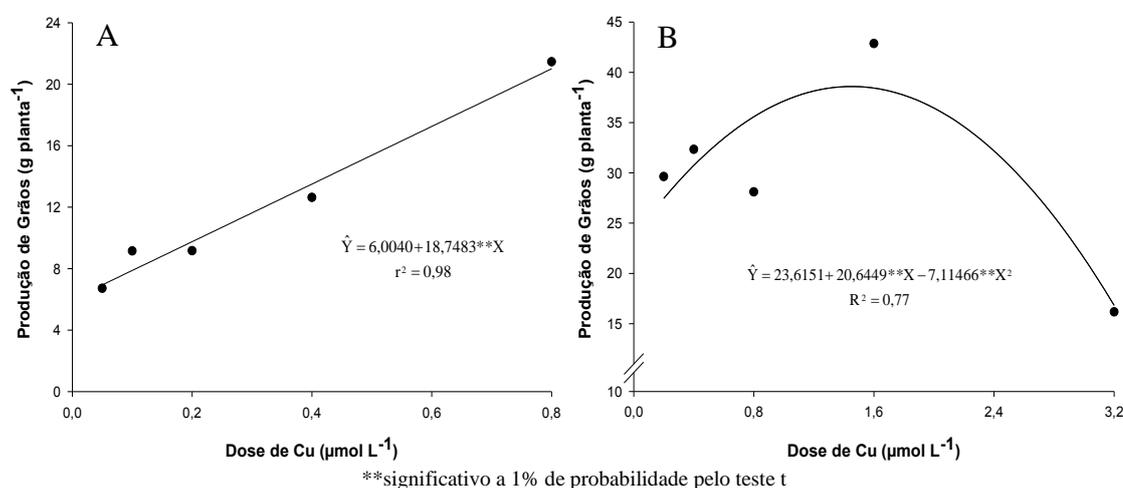


Figura 3 – Produção média de grãos de cafeeiro em função das doses de cobre em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

Segundo Pilon et al. (2006) e Marschner (2012) o cobre desempenha papel na fotossíntese, respiração, distribuição de hidratos de carbono, metabolismo de proteínas, atividade antioxidante, lignificação e formação dos grãos de pólen.

Sancenón et al. (2004), ao estudarem plantas de *Arabidopsis* transgênicas com baixa expressão ao transportador de Cu, demonstraram que a formação anormal do grão de pólen pode ser consideravelmente reduzida com a adição de cobre as plantas. Graham (1975), citado por Marschner (2012) afirmou que as principais causas da redução na produção de grãos e frutos, em plantas deficientes em cobre é a inibição da formação das anteras, ao menor número de grãos de pólen por anteras, e a perda da viabilidade do pólen.

A redução na produção de frutos em doses superiores a 1,45 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu no

segundo ano de avaliação pode estar relacionada à interação negativa com outros cátions, em que o excesso de cobre pode ter induzido deficiência de Fe, Zn e Mn em razão da semelhança dos raios iônicos (BOARDMAN e MCGUIRE, 1990; SAGARDOY et al, 2009).

Na Tabela 3, são apresentados os valores médios de número de frutos por plantas (NF), produção de grãos beneficiados, massa de 100 grãos (MAS100G) e dos frutos de café em coco, obtidos para as diferentes doses de Cu e para o tratamento que recebeu pulverizações foliares mensais com Cu (Testemunha). Apenas as doses de Cu 0,05; 0,1 e 0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ diferiram de sua testemunha (pulverização foliar com Cu) com relação ao número de frutos por plantas (FP). O número de frutos produzido pela testemunha foi superior que o das menores doses de Cu (0,05 e 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$), e inferior ao da dose 0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu. A produção de grãos, massa de 100 grãos (PES100G) e dos frutos, nas doses de Cu de 0,05; 0,1; 0,2 e 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram inferiores aos da testemunha, enquanto que na maior dose de Cu (0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) não diferiram dela.

Verifica-se, neste trabalho que o fornecimento de Cu via foliar destacou-se quando as doses fornecidas via solução nutritiva eram baixas, demonstrando com isso, que o fornecimento do Cu via foliar, é uma forma alternativa de suprir as necessidades das plantas de café, quando o fornecimento via radicular for insuficiente.

Tabela 3. Valores médios das variáveis, número de frutos por planta (NF), produção de grãos, massa de 100 grãos (MAS100G) e dos frutos de café em coco, em função das doses de cobre em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	FP (frutos/planta)	Produção grão (g/planta)	MAS100G (g)	Massa fruto (g/planta)
0,05 + Pulverização	38,67	18,16	16,50	42,94
0,05	12,83*	6,71*	14,05*	14,73*
0,1	18,66*	9,14*	13,68*	19,10*
0,2	27,33	9,15*	13,77*	20,04*
0,4	30,83	12,62*	14,76*	27,58*
0,8	57,00*	21,45	15,59	46,54

Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,05 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

b) Qualidade dos Grãos

Acidez titulável

Nos dois anos houve efeito significativo das doses de Cu para a acidez titulável. No primeiro ano a acidez titulável apresentou incremento linear para as doses de cobre,

com o maior valor de acidez titulável (52,12 mL NaOH 100g⁻¹) verificado na dose máxima aplicada de Cu e teor foliar de 5,8 mg kg⁻¹ de Cu ($\hat{Y} = 2,8444 + 3,7018Cu$; $r^2 = 0,88$) (Figura 4A). No segundo ano a acidez titulável se ajustou ao modelo raiz quadrática, apresentando o menor valor (115,57 mL NaOH 100g⁻¹) na dose estimada de 1,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de 9,75 mg kg⁻¹. ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907Cu$; $r^2 = 0,98$) (Figura 4B).

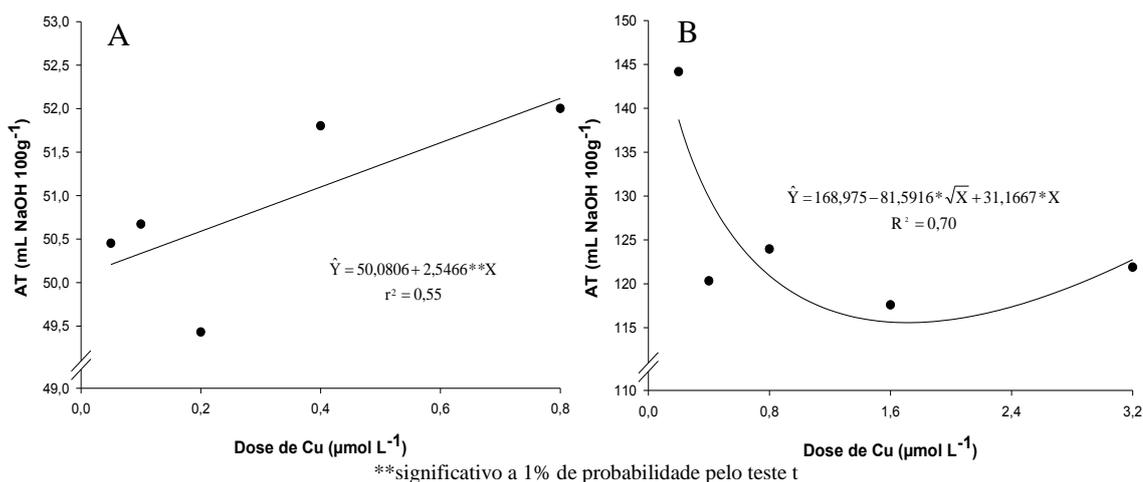


Figura 4 – Acidez titulável total nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de cobre em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

Observou-se no primeiro ano uma relação direta da AT com a produção de grãos (Figura 3A), com o maior valor de AT (52,12 mL NaOH 100g⁻¹), na maior dose de Cu (0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) proporcionando a maior produção de grãos (21 g por planta). No segundo ano observou-se uma baixa concordância da produção de grãos (Figura 3B) com os valores de AT, verificando-se na dose de Cu em que a acidez foi mínima (1,75 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na AT) uma pequena redução na produção de grãos (37,95 g por planta).

Comparando os valores estimados de acidez titulável total (Figura 4A e 4B), com os encontrados por Carvalho et al. (1994), observa-se que, apesar de ter ocorrido diferença significativa nas doses de Cu, o menor e o maior valor da acidez titulável encontrado no primeiro ano (50,21 e 52,12 mL NaOH 0,1N 100g⁻¹) e no segundo ano (115,57 e 138,45 NaOH 0,1N 100g⁻¹), estão abaixo da faixa de classificação como café de bebida dura, riada e rio (250,4; 272,2 e 284,5 mL de NaOH 0,1N 100g⁻¹), ou seja, apesar de ter ocorrido diferença significativa na acidez em decorrência das doses Cu essa diferença não tem grande impacto na qualidade dos grãos de café. No presente trabalho a qualidade do café se enquadra em cafés especiais, pelos baixos valores de

acidez.

De acordo com Carvalho et al. (1994) a acidez titulável (AT) dos grãos de café tem uma relação inversa com a qualidade da bebida do café, pois cafés de melhor qualidade possuem maior atividade enzimática da polifenoloxidase e índice de coloração e, menor acidez titulável. Os mesmos autores ressaltam a importância da utilização da acidez total titulável em conjunto com a atividade da polifenoloxidase e o índice de coloração como suporte, a fim de melhorar a classificação sensorial da bebida do café.

Ácidos orgânicos

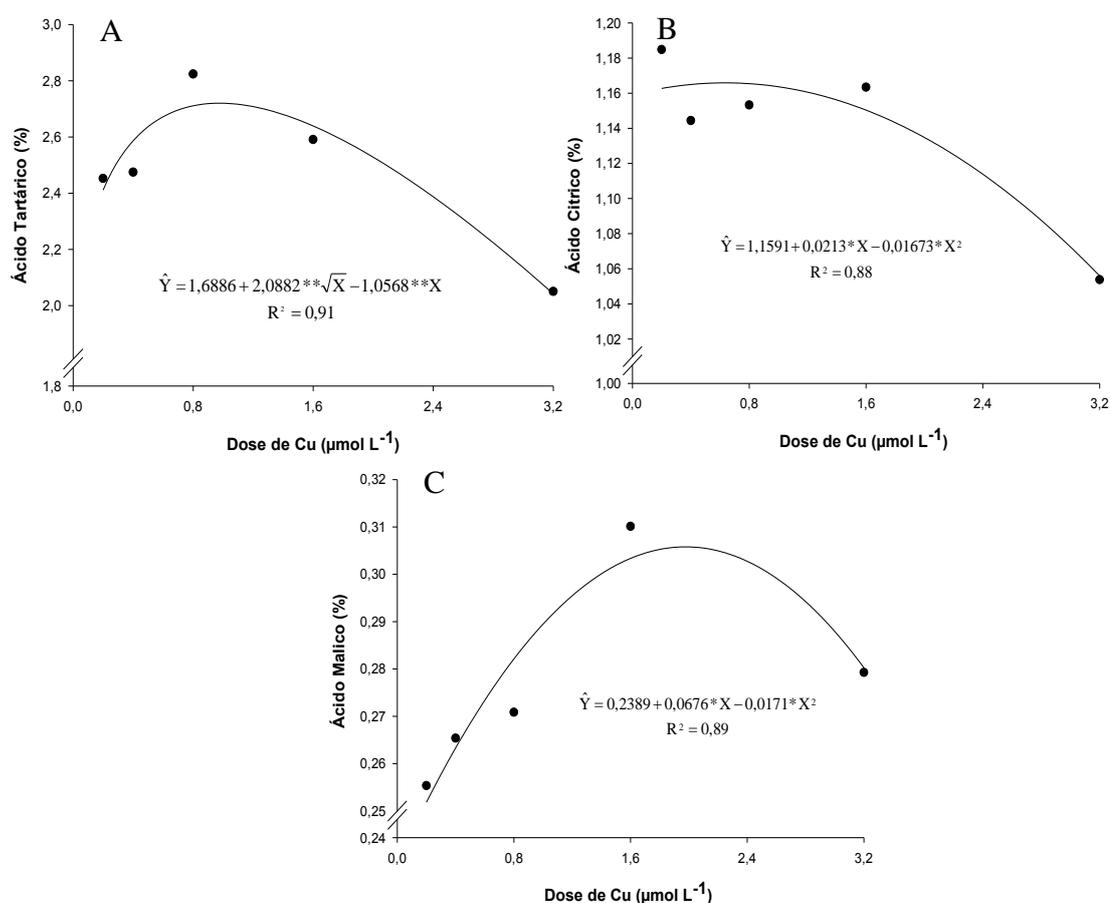
No primeiro ano de avaliação não se verificou efeito significativo da dose de Cu para os teores dos ácidos cítrico, tartárico e málico nos grãos de café. Os resultados apresentados no segundo ano (Figuras 5A, 5B e 5C) demonstram que as doses de Cu influenciaram significativamente os teores dos ácidos tartárico, málico e cítrico. Pode-se observar nos dados apresentados (Figura 5A), que o ácido tartárico se ajustou ao modelo raiz quadrática com o maior teor (2,72%) verificado na dose estimada de $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de $6,29 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907\text{Cu}$; $r^2 = 0,98$), no entanto para a maior dose de Cu ($3,2 \mu\text{mol L}^{-1}$) o teor do ácido reduziu-se 25%, apresentando-se com 2,04% em comparação ao valor da dose estimada (2,72%).

O ácido cítrico se ajustou ao modelo quadrático, com o maior teor (1,16%) encontrado na dose estimada de $0,63 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu, e teor foliar de $5,11 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907\text{Cu}$; $r^2 = 0,98$). Com o incremento das doses de Cu acima desse valor houve redução nos teores desse ácido que atingiu na maior dose de Cu ($3,2 \mu\text{mol L}^{-1}$) o menor teor (1,05%). Isso corresponde a uma redução de 10% em comparação a dose estimada no ponto de máximo (1,16%) (Figura 5B).

Em relação ácido málico os resultados foram semelhantes aos dos demais ácidos, com o maior teor (0,30%) apresentado na dose estimada de $1,97 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de $9,39 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907\text{Cu}$; $r^2 = 0,98$) (Figura 5C).

Segundo Feldman et al. (1969), a acidez dos grãos de café é constituída predominantemente por ácidos não voláteis, tais como oxálico, málico, cítrico, tartárico, pirúvico. Esses ácidos são originários de diversas rotas bioquímicas, bem como da fermentação por microorganismos dos açúcares existentes na polpa e na mucilagem dos

frutos (CHALFOUN, 1996).



*, **significativo respectivamente a 5 e 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 5 – Teor de ácido tartárico (A), cítrico (B) e málico (C) nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de cobre em solução nutritiva, no segundo ano de avaliação.

Na tabela 2, são apresentados as comparações entre os valores de acidez titulável, os teores dos ácidos cítricos, tartárico, málico e pH obtidos com as diferentes doses de Cu e o tratamento adicional (testemunha), que recebeu pulverizações foliares com o elemento. Verifica-se que não houve diferença significativa da acidez titulável entre a testemunha e os demais tratamentos., Para as outras variáveis como ácido cítrico, ácido tartárico e ácido málico, os teores dos ácidos cítrico e tartáricos da testemunha foram inferiores aos das doses de Cu (0,1 e 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e (0,1; 0,2 e 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$) respectivamente. Para o ácido málico verificou-se o inverso, o teor do ácido na testemunha foi superior ao da dose de Cu 0,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e não diferiu do das demais doses.

Para os valores de pH (Tabela 3) houve diferença significativa da testemunha em

relação a todas as doses de Cu, em que os valores do pH da testemunha foram inferiores aos valores das doses de Cu (0,05; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

Tabela 3. Valores médios das variáveis, ácido cítrico (ACCITR), ácido tartárico (ATART), ácido málico (AMALI) e acidez total titulável (ATT) em função das doses de cobre em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

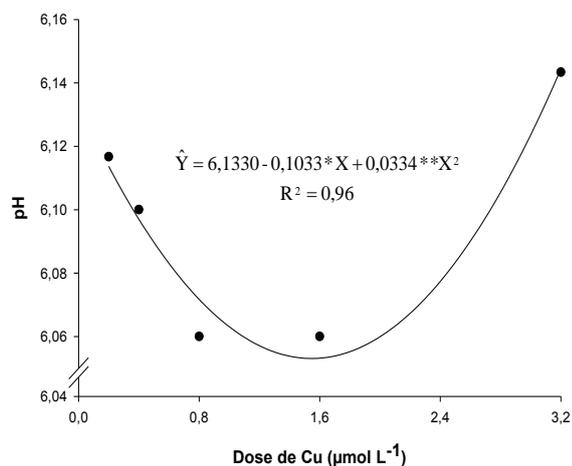
Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	ATT (mL NaOH 100g ⁻¹)	ACCITR (%)	ATART (%)	AMALI (%)	pH
0,05 + Puerização	50,20	1,03	1,71	0,3167	5,69
0,05	50,45	1,13	2,59*	0,2325*	5,94*
0,1	50,67	1,59*	2,29*	0,3161	5,89*
0,2	49,43	1,23	2,29*	0,3224	5,81*
0,4	51,80	1,48*	2,17*	0,3027	5,91*
0,8	52,00	1,24	2,02	0,3055	5,84*

Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,05 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

O pH é um parâmetro de muita importância na aceitação do produto pelo consumidor. Para café beneficiado grão cru os valores de pH encontram-se na faixa de 5,30 a 5,90 (OIC, 1992; BARRIOS, 2001; SIQUEIRA; ABREU, 2006). No presente trabalho obtiveram-se valores na faixa de 5,69 a 5,94%, tendo a testemunha apresentado o menor valor de pH (Tabela 3).

Potencial hidrogeniônico (pH)

Não houve variação nos valores de pH com as doses de Cu da solução nutritiva no primeiro ano de avaliação. No segundo ano observou-se efeito quadrático nas doses de Cu sobre o pH, verificando-se o menor valor (6,05) na dose estimada de 1,55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de 8,05 mg kg⁻¹ de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907\text{Cu}$; $r^2 = 0,98$) (Figura 6). Para a maior e menor dose de Cu verificaram-se os maiores valor ES de pH correspondendo a 6,11 a 6,14 respectivamente. Pinto et al. (2002) obtiveram em grãos de café torrado, as bebidas estritamente mole, mole e riada para os menores valores de pH (5,30 a 5,32).



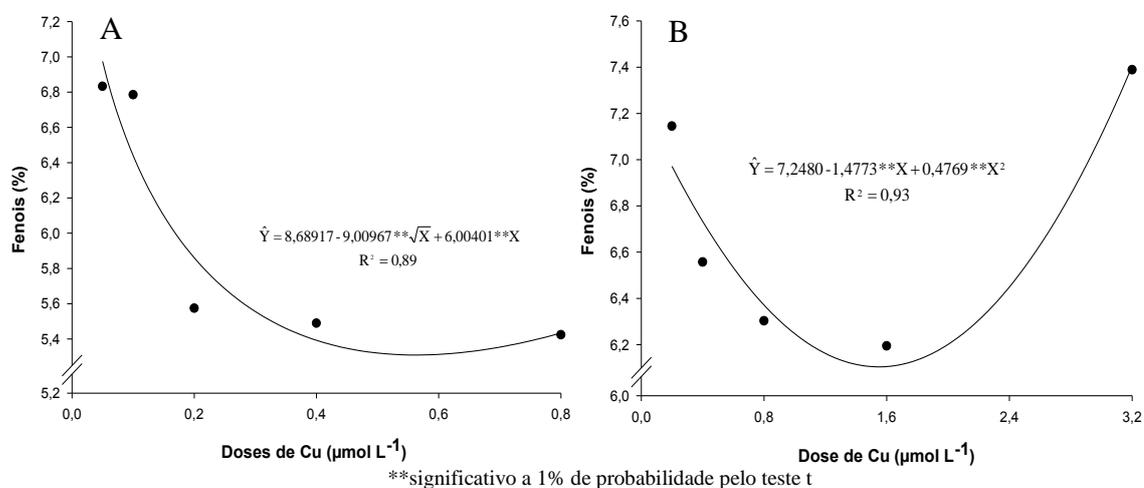
*; **significativo respectivamente a 5% e 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 6 – pH nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de cobre em solução nutritiva.

Em relação ao teor de fenóis totais, verificou-se efeito significativo nos dois anos para as doses de Cu. No primeiro ano, em resposta às doses de Cu, os teores de fenóis totais decresceram e se ajustaram ao modelo de raiz quadrada, com o ponto de mínima (5,3%) verificado na dose estimada de 0,6 µmol L⁻¹ de Cu e teor foliar de 4,7 mg kg⁻¹ de Cu ($\hat{Y} = 2,8444 + 3,7018 \text{Cu}$; $r^2 = 0,88$) (Figura 7A).

Fenóis Totais

No segundo ano houve declínio nos teores de fenóis que se ajustaram ao modelo quadrático, com o menor teor (6,10 %) verificado na dose estimada de 1,55 µmol L⁻¹ e teor foliar de 8,05 mg kg⁻¹ de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907\text{Cu}$; $r^2 = 0,98$) (Figura 7B).



**significativo a 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 7 – Teor de fenóis nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de cobre em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação,

A redução nos teores de fenóis com as maiores doses de Cu está diretamente relacionada ao papel do Cu no metabolismo secundário das plantas, ou seja, no processo de lignificação e formação de substâncias melanóticas, pois as enzimas que oxidam os fenóis em lignina e outros compostos, como lacase e as peroxidases são ativadas pelo Cu. Conseqüentemente quanto maior o teor de cobre na planta maior será atividade dessas enzimas, contribuindo com isso para redução dos teores de fenóis. Enquanto que a deficiência de Cu diminui a atividade dessas enzimas, levando ao acúmulo de fenóis e à diminuição da lignificação (ROBSON et al., 1981).

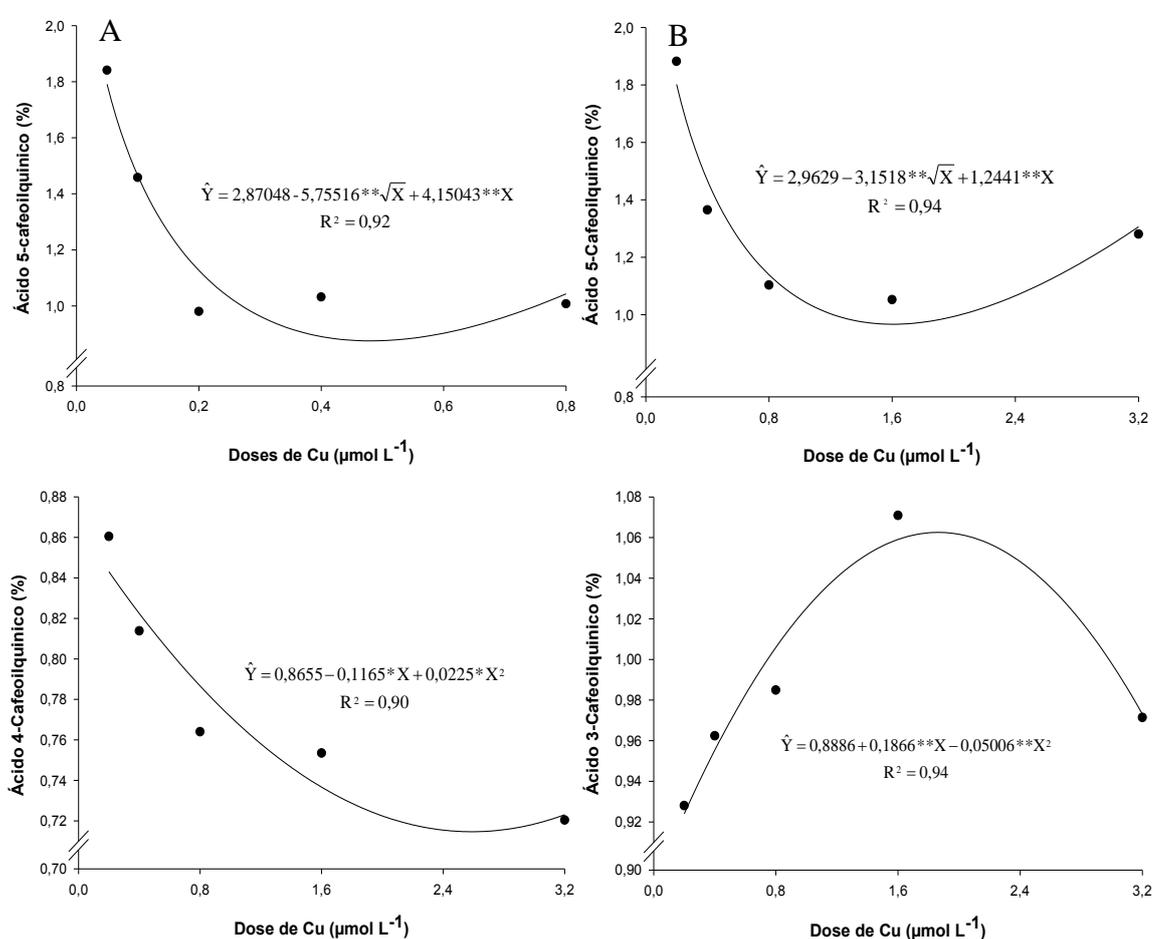
Ácidos clorogênicos (3- cafeoilquinico, 4-cafeoilquinico e 5-cafeoilquinico)

Nos dois anos de avaliações os teores do ácido 5-cafeoilquinico (5-CQA) se ajustaram a função raiz quadrada nas doses de Cu. Verificou-se no primeiro ano que os teores de 5-cafeoilquinico decresceram com posterior estabilização com aumento das doses de Cu, com o menor teor (0,87 % de 5-CQA) verificado na dose estimada de 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de 4,7 mg kg^{-1} de Cu ($\hat{Y} = 2,8444 + 3,7018 * \text{Cu}$; $r^2 = 0,88$) (Figura 8A). Efeito semelhante foi observado para o segundo ano de avaliação, em que os teores de 5-cafeoilquinico decresceram com posterior aumento com o incremento das doses de Cu, com o menor teor (0,97%) verificado na dose estimada de 1,62 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de 8,27 mg kg^{-1} de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907 ** \text{Cu}$; $r^2 = 0,98$) (Figura 8B).

Essa redução nos teores do 5-CQA com o aumento das doses de Cu, esta inversamente proporcional à atividade da PPO (Figura 9), em que à medida que os teores do 5-CQA decrescem ou aumentam, o inverso ocorre com a PPO. De acordo com Carvalho et al.(1989), existem indícios da ocorrência de maior concentração de polifenóis, como o caso do ácidos clorogênicos (CGA), em cafés de pior qualidade. Farah (2004) encontrou os maiores teores de 5-CQA em cafés com qualidade de bebida inferior.

No primeiro ano não se verificou efeito das doses de Cu para os ácidos 4-cafeoilquinico (4-CQA) e 3-cafeoilquinico (3-CQA). No segundo ano houve efeito significativo dos teores do ácido 4-CQA e 3-CQA nas doses de cobre. Os teores do ácido 4-CQA diminuiram com o incremento das doses de Cu depois estabilizaram-se, se ajustando ao modelo quadrático, com o menor teor (0,71%) verificado na dose estimada

de 2,59 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de Cu de 11,37 mg kg^{-1} ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907\text{Cu}$; $r^2 = 0,98$) (Figura 8C). Os teores do ácido 3-CQA aumentaram com o incremento das doses de Cu, com os valores se ajustando ao modelo quadrático, com o maior teor (1,06%) verificado na dose estimada de 1,86 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de Cu de 9,03 mg kg^{-1} ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907\text{Cu}$; $r^2 = 0,98$) (Figura 8D). Esse resultado corresponde ao incremento de 15% no teor do ácido 3-CQA, em relação a menor dose de cobre, que proporcionou teor de 0,92% do isômero. Para a dose máxima de Cu houve redução no teor do ácido 3-CQA de 9% em comparação ao valor da dose estimada no ponto de máximo (1,06%).



*, **significativo respectivamente a 5 e 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 8 – Teor do ácido 5-cafeioiquínico no primeiro ano de avaliação (A) no segundo ano (B), teor do ácido 4-cafeioiquínico (C) e de 3-cafeioiquínico (D) no segundo ano de avaliação, nos grãos crus de café em função das doses de cobre em solução nutritiva.

Esse aumento nos teores do ácido 3-cafeoilquínico com o aumento das doses de Cu, esta diretamente proporcional à atividade da PPO (Figura 9), em que à medida que

os teores do 3-CQA aumentam ou diminuem, o mesmo ocorre para a PPO. Essa variação é inversa a que ocorre para os teores de fenóis totais (Figura 7), 5-CQA e 4-CQA cujas concentrações decresceram com o aumento da dose de Cu.

De acordo com Salva e Lima (2007), cafés que contêm menos ácidos clorogênicos proporcionam bebidas menos adstringentes e com sabor mais característico de café. Esse mesmos autores relatam que o amargor, a adstringência e o gosto de mofo da bebida se devem a concentração de ácidos clorogênicos e das proporções em que os diferentes CGAs são encontrados nos cafés crus. Dentre os grupos que compõe os CGAs do café, 5-CQA é o mais abundante em sementes de café.

Segundo Farah (2009) os ácidos clorogênicos oferecem proteção em relação a estresses abióticos, tais como aqueles associados à temperatura alta, estresse hídrico e biótico, exposição à luz UV e deficiência de nutrientes. Além disso, os ácidos clorogênicos contribuem para o processo de fermentação e influencia marcadamente a qualidade de xícara do café (FARAH et al., 2006).

Os compostos fenólicos possuem alto potencial redox, sendo assim, substratos preferenciais no combate ao estresse. Além da funcionalidade, contribuem expressivamente como precursores de flavor no café torrado (ARRUDA et al. 2012; LIMA et al. 2010). No processo de torrefação os ACGs são precursores dos ácidos fenólicos livres e, por conseguinte, dos compostos fenólicos voláteis que participam da formação do aroma do café (MOREIRA et al. 2000). Os ácidos clorogênicos reagem durante a torra, produzindo compostos ácidos, lactonas e outros derivados fenólicos responsáveis pelo aroma e sabor do café, acidez final e adstringência da bebida (LÓPEZ-GALILEA et al. 2007).

Polifenoloxidase (PPO)

No primeiro ano a atividade da polifenoloxidase (PPO) aumentou linearmente com a dose de cobre, em que a maior atividade da enzima (80,76 U. g⁻¹ de amostra) foi verificada na dose máxima aplicada (0,8 μmol L⁻¹ de Cu) (Figura 9A). Nessa condição as plantas apresentavam teor foliar de 5,8 mg kg⁻¹ de Cu ($\hat{Y} = 2,8444 + 3,7018 \text{Cu}$; $r^2 = 0,88$). Esse resultado corresponde ao incremento de 23% no aumento da atividade da PPO, em relação à menor dose de cobre, que permitiu obter atividade da enzima de 65,53 76 U. g⁻¹ de amostra.

No segundo ano a atividade da polifenoloxidase (PPO) respondeu às doses de Cu

segundo ao modelo de raiz quadrada, verificando-se a maior atividade da enzima (81,35 U. g⁻¹ de amostra) na dose estimada de 0,78 μmol L⁻¹ de Cu (Figura 9B), correspondente a concentração foliar de 5,6 mg kg⁻¹ de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907Cu$; $r^2 = 0,98$). Enquanto para a menor e maior dose de Cu obtiveram-se as menores atividades da PPO, que corresponderam 77,85 e 65,23 U. g⁻¹ de amostra respectivamente.

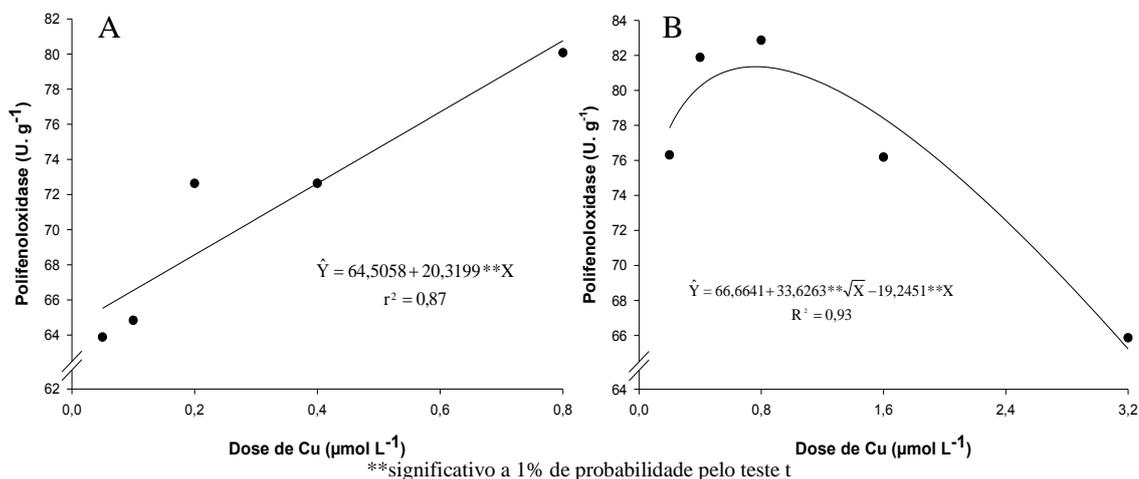


Figura 9 – Atividade da polifenoloxidase nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de cobre em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

Observou-se no primeiro ano uma relação direta da atividade da PPO com a produção de grãos (Figura 3A), com a maior atividade da PPO (80,76 U. g⁻¹ de amostra), na maior dose de Cu (0,5 μmol L⁻¹) proporcionando a maior produção de grãos (21 g por planta). No segundo ano observou-se uma baixa concordância da produção de grãos (Figura 3B) com atividade da PPO, verificando-se na dose estimada de Cu (0,78 μmol L⁻¹ maior atividade da PPO), uma baixa produção de grãos (35,58 g por planta).

Na classificação proposta por Carvalho et al. (1994) com base na atividade da PPO, no primeiro ano de avaliação, pode-se atribuir aos grãos de café na dose máxima de Cu a classificação na faixa de bebida “estritamente mole”, enquanto que para a menor dose de Cu os grãos de café seriam classificados como bebida “mole”. Para o segundo ano, seria atribuído aos grãos de café na dose de Cu estimada como ponto de máximo e na menor dose a classificação “estritamente mole” e para a maior dose de Cu os grãos de café seriam classificados como bebida “mole”.

Esses resultados demonstram que as baixas concentrações de Cu (primeiro ano) como também as altas (segundo ano), podem ter efeito negativos na atividade da enzima PPO, isso conseqüentemente poderá refletir na baixa qualidade do grão e da bebida do café. O aumento na atividade da PPO devido à aplicação do Cu, se deve ao fato desse

nutriente participar da estrutura da enzima como grupo prostético, o que favoreceu a formação de maior quantidade de enzimas nos grãos, e conseqüentemente, proporcionou maior atividade. A polifenoloxidase é uma enzima cúprica que, de acordo com vários autores, se mostra diretamente relacionada com a qualidade da bebida do café (CARVALHO et al., 1994; CHAGAS et al., 1996; MAZZAFERA et al., 2002; SILVA et al., 2009).

Os valores da atividade da PPO obtidos nas maiores doses de Cu são bastante superiores aos preconizados por Carvalho et al. (1994), demonstrando que o Cu influencia a atividade da PPO e, como conseqüência na qualidade da bebida do café.

Índice de coloração

Nos dois anos de avaliação não se verificou efeito das doses de Cu para o índice de coloração (Tabela 5). Os grãos de café com maior atividade da polifenoloxidase, apresentaram tendência de maior IC conforme Carvalho et al. (1994), apesar de não existirem diferenças significativas para o IC entre as doses de cobre (Tabela 5). Cafés de melhor qualidade possuem maior atividade da PPO e IC, conforme pesquisas desenvolvidas por, Carvalho et al. (1994), Leite e Carvalho (1994), Chagas et al. (1996), Silva et al. (2002) e Silva et al. (2009). Carvalho et al. (1994) estabeleceram que cafés com índices de coloração iguais ou superiores a 0,65 se enquadram nas classes de cafés "duro", "apenas mole", "mole" e "estritamente mole". Os índices de coloração inferiores a 0,65 (D.O. 435 nm) são classificados como "rio" e "riado", ou seja, cafés não exportáveis.

Na presente pesquisa em que a bebida foi classificada como "mole" (Tabela 11) independentemente da dose de Cu, os valores de IC variaram entre 0,74 (segundo ano) e 1,22 (D.O. 435 nm) (primeiro ano). Esses resultados não corroboram com os de Corrêa et al. (1997) em que o índice de coloração possibilitou a distinção entre as bebidas dura, apenas mole, mole e estritamente mole. Porém os valores do índice de coloração encontrados por esses autores foram: 0,47, 0,54, 0,63, e 0,72 respectivamente.

Tabela 5. Valores médios do índice de coloração (IC) no primeiro e segundo ano de avaliação, em função das doses de cobre em solução nutritiva

ANO 1 Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	IC (D.O. 435nm)	ANO 2 Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	IC (D.O. 435nm)
0,05	1,16	0,2	0,85
0,1	1,16	0,4	0,77
0,2	1,03	0,8	0,74
0,4	1,14	1,6	0,80
0,8	1,22	3,2	0,85
Média	$\hat{y} = 1,17$	Média	$\hat{y} = 0,80$
CV (%)	7,83	CV (%)	18,44

Com base nos resultados obtidos (Tabela 6), observa-se que houve diferença significativa da testemunha pulverizada para os teores de fenóis totais, os isômeros do ácido clorogênico (3CQA e 5CQA), da enzima PPO e do índice de coloração em comparação as doses de Cu fornecidas exclusivamente na solução nutritiva.

Pela análise dos compostos fenólicos totais e do ácido 5-CQA, observou-se diferença significativa da testemunha em comparação as menores doses de Cu (0,05 e 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$), em que as menores doses de Cu apresentaram valores superiores de fenóis totais e do ácido 5-CQA. Esses maiores teores de fenóis totais e do ácido 5-CQA nas menores doses de Cu está diretamente relacionada ao papel do Cu no metabolismo secundário das plantas, ou seja, no processo de lignificação e formação de substâncias melanóticas, pois o baixo suprimento de Cu nas menores doses, faz com que a atividade das enzimas que oxidam os fenóis em lignina e outros compostos, como lacase e as peroxidases sejam reduzidas, pois dependem do Cu para ativá-las.

Existem indicações que há maior concentração de compostos fenólicos totais em cafés de pior qualidade. Pinto et al. (2002), em grãos de café arábica, classificados em diferentes padrões de bebidas, determinaram maior teor de compostos fenólicos nos cafés de bebida rio, quando comparados aos classificados como bebida mole.

O teor do isômero do ácido clorogênico (3-CQA) na testemunha diferiu das doses de Cu (0,05 e 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$), em que o teor do 3-CQA de 1,37 e 1,29% respectivamente, foi superior ao da testemunha, que permitiu obter um teor de 0,97% de 3-CQA.

Verifica-se na tabela 6, que houve diferença significativa da atividade da enzima

PPO da testemunha em relação às doses de Cu, em que a atividade da enzima PPO na testemunha foi superior às doses de Cu (0,05; 0,1; 0,2 e 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$), no entanto para a maior dose de Cu (0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) não houve diferença. Com base na classificação proposta por Carvalho et al. (1994) em função da PPO, pode-se atribuir aos grãos de café pulverizados com Cu, com atividade da PPO de 86,09 U. g^{-1} de amostra, a tratar-se de bebida “estritamente mole”.

Para os valores do índice de coloração (Tabela 6) houve diferença significativa da testemunha em relação a todas as doses de Cu, em que os valores do índice de coloração da testemunha foi superior aos valores determinados para as doses de Cu. Para o índice de coloração (IC) de grãos de café observou-se uma relação direta com a PPO, tendo a testemunha apresentado o maior valor IC (2,28 DO. 435nm) e maior atividade da enzima PPO.

Tabela 6. Valores médios das variáveis, ácidos clorogênicos fenóis totais (FEN), (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA), polifenoloxidase (PPO) e índice de coloração (IC) em função das doses de cobre em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	FEN (%)	3CQA (%)	4CQA (%)	5CQA (%)	PPO (U. g^{-1})	IC (DO. 435nm)
0,05 + Puerização	5,34	0,97	1,10	1,15	86,09	2,28
0,05	6,83*	1,37*	0,97	1,84*	63,87*	1,16*
0,1	6,78*	1,11	0,94	1,46*	64,83*	1,16*
0,2	5,57	0,82	1,05	0,98	72,62*	1,03*
0,4	5,49	1,29*	0,93	1,03	72,63*	1,14*
0,8	5,42	1,01	0,95	1,01	80,07	1,22*

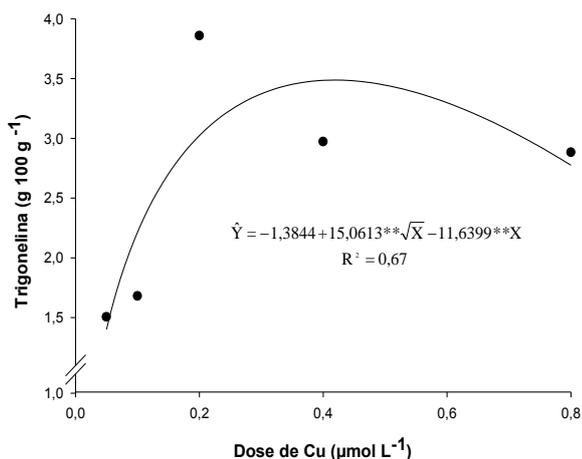
Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,05 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

Cafeína e trigonelina

Os teores de trigonelina no primeiro ano se ajustaram ao modelo de raiz quadrada para as doses de cobre. Apresentando o maior teor de trigonelina (3,48 $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) na dose estimada de 0,45 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e teor foliar de 4,5 mg kg^{-1} de Cu ($\hat{Y} = 2,8444 + 3,7018\text{Cu}$; $r^2 = 0,88$), enquanto que na maior dose de Cu (0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) houve redução nos teores de trigonelina (2,77 $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) (Figura 10). No segundo ano de avaliação não se verificou efeito das doses de Cu para os teores de trigonelina.

Verificou-se, no primeiro ano que os teores de trigonelina não se relacionaram com a produção de grãos (Figura 3A), em que o maior teor de trigonelina (3,48 $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) na dose estimada (0,45 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu) proporcionou uma baixa produção de grãos

(14,44 g planta⁻¹).



**significativo a 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 10 – Teor de trigonelina nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de cobre em solução nutritiva, no primeiro ano de avaliação.

As maiores doses de Cu contribuíram expressivamente para o aumento no teor de trigonelina nos grãos de café (3,48 g 100 g⁻¹). A enzima responsável pela formação de trigonelina via ácido nicotínico é a nicotinato N-metiltransferase também conhecida como trigonelina sintase (KOSHIRO et al., 2006; ASHIHARA, 2006). Como o Cu participa diretamente da formação de mais de cem enzimas e, indiretamente, da ativação de varias outras enzimas em plantas, em diversas rotas metabólicas e bioquímicas, pode estar envolvidos no processo de formação da trigonelina até certo limite.

Segundo Farah et al. (2006) a trigonelina é um dos precursores de produtos responsáveis pela qualidade do aroma do café, já que após a torra a degradação deste composto pode chegar até 90%, sendo a niacina o composto que se forma mais conhecido, como também as piridinas e alguns pirróis. O mesmo autor trabalhando com amostras de cafés de diferentes qualidades, observou que a redução da qualidade da bebida de café estava associada à redução dos níveis de trigonelina nos grãos.

Nos dois anos de avaliação não se verificou efeito das doses de Cu para os teores de cafeína, porém, mesmo não tendo ocorrido diferença significativa entre as doses de Cu para a cafeína, observou-se uma tendência de aumento no seu teor do primeiro ano para o segundo ano de avaliação, tendo o primeiro ano apresentado teores médios variando de 0,99 a 1,37 g 100g⁻¹ e no segundo ano de 1,30 a 1,47 g 100g⁻¹ (Tabela 7).

Proantocianidinas

Para os teores de proantocianidinas, também não houve efeito significativo das doses de Cu em solução nutritiva nos dois anos de avaliação, verificando-se uma pequena variação no primeiro ano de 7,48 a 8,15 mg g⁻¹ e no segundo ano de 6,17 a 6,26 mg g⁻¹, com tendência de redução do primeiro ano para o segundo ano de avaliação. No entanto, os teores de proantocianidinas no presente trabalho foram superiores aos citados na literatura para o café arábica (MORAIS et al. 2009).

Tabela 7. Valores médios de cafeína (CAF), trigonelina (TRIG) e proantocianidinas (PROANT) no primeiro e segundo ano de avaliação em função das doses de cobre em solução nutritiva

ANO 1			ANO 2			
Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	CAF (g 100g ⁻¹)	PROANT (mg g ⁻¹)	Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	CAF g 100g ⁻¹	PROANT (mg g ⁻¹)	TRIG (g 100g ⁻¹)
0,05	0,99	8,12	0,2	1,30	6,26	0,861
0,1	1,20	7,48	0,4	1,46	6,25	0,862
0,2	1,37	7,53	0,8	1,46	6,17	1,103
0,4	1,13	8,07	1,6	1,47	6,21	0,948
0,8	1,12	8,15	3,2	1,39	6,18	0,891
Média	$\hat{y}=1,16$	$\hat{y}=7,87$	Média	$\hat{y}=1,41$	$\hat{y}=6,21$	$\hat{y}=0,933$
CV (%)	7,82	3,12	CV (%)	12,97	0,88	8,92

Observa-se na tabela 8, que houve diferença significativa das doses de Cu fornecidas via solução nutritiva em comparação com a testemunha, para as variáveis, cafeína, trigonelina e proantocianidinas. Os teores de cafeína na testemunha foram superiores aos da dose de Cu 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e não diferiram das demais doses (Tabela 8). A cafeína é a principal purina na composição do café e encontra-se no citoplasma e ligada à parede celular. Sem dúvida, esse alcalóide tem papel importante como estimulante (MENEZES, 1990). Segundo Illy e Viani (1995), a quantidade de cafeína presente no café é responsável por 10% de seu amargor, no entanto, o teor de cafeína não tem efeito direto na qualidade sensorial. Por outro lado, Franca, Mendonça e Oliveira, (2005) e Farah et al. (2006) encontraram maiores teores de cafeína em amostras de café arábica de alta qualidade, quando comparadas com as demais.

Os teores de trigonelina nas doses de Cu 0,05 e 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram inferiores (1,50 e 1,68 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$) aos da testemunha (3,35 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$) (Tabela 8). A trigonelina (1-metil-3-carboxipiridina) está entre os alcaloides mais importantes do café. Sua degradação térmica gera pirróis e piridinas, relevantes para o flavor do café torrado. É produzida a partir do ácido nicotínico, mas em estágios avançados de germinação, parece ter função de reserva de ácido nicotínico para uma futura conversão à coenzima nicotinamida adenina dinucleotídico (NAD) (SHIMIZU; MAZZAFERA, 2000).

Para os teores de proantocianidinas, verifica-se que o valor observado no tratamento testemunha (7,12 mg g^{-1}) diferiu dos observados nas doses de Cu (0,05; 0,4 e 0,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) fornecidas via solução (8,12; 8,07 e 8,15 mg g^{-1}), (Tabela 8). Os teores de proantocianidinas no presente trabalho foram superiores aos citados na literatura para o café arábica (MORAIS et al. 2009). As proantocianidinas juntamente com os polifenóis apresentam sabor adstringente típico, são responsáveis pela adstringência da bebida do café (HASLAM, 1989; SILVA, 1991), interferindo no sabor e aroma do café após a torra.

Tabela 8. Valores médios das variáveis, cafeína (CAF), trigonelina (TRIG) e proantocianidinas (PROANT) em função das doses de cobre em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	CAF ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	TRIG ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	PROANT (mg g^{-1})
0,05 + Pulyerização	1,22	3,35	7,12
0,05	0,99*	1,50*	8,12*
0,1	1,20	1,68*	7,48
0,2	1,37	3,86	7,53
0,4	1,13	2,97	8,07*
0,8	1,12	2,88	8,15*

Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,05 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

Sacarose

No primeiro ano o teor de sacarose apresentou efeito linear crescente com as doses de cobre. Na maior dose o teor de sacarose nos grãos crus foi igual a 7,94% (Figura 11A). O teor foliar de Cu que correspondeu ao ponto de máxima concentração de sacarose foi 5,8 mg kg^{-1} de Cu ($\hat{Y} = 2,8444 + 3,7018\text{Cu}$; $r^2 = 0,88$). Esse resultado corresponde ao

incremento de 62% no teor de sacarose, em relação à menor dose de cobre, que permitiu obter o teor de 4,91% de sacarose. Este comportamento possivelmente esteja relacionado ao bom suprimento de cobre às plantas nas maiores doses, favorecendo com isso um maior transporte fotossintético de elétrons do PSII ao PSI, como consequência do aumento nos teores de plastocianina, na taxa de fixação de CO₂, como também um maior teor de amido e de carboidratos solúveis (especialmente sacarose) nas plantas (KIRKBY e RÖMHELD, 2007).

No segundo ano de avaliação devido as modificações nas doses de Cu, o teor de sacarose apresentou incremento quadrático para as doses crescentes de Cu via solução nutritiva, verificando-se na dose estimada de 1,80 μmol L⁻¹ de Cu, o maior teor de sacarose correspondente a 8,88% nos grãos crus de café (Figura 11B), com teor foliar de Cu correspondendo a 8,85 mg kg⁻¹ ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907Cu$; $r^2 = 0,98$). Esse resultado corresponde ao incremento de 21 % no teor de sacarose, em relação à menor dose de cobre, que permitiu aos grãos apresentarem 7,33% de sacarose. Para a dose máxima de Cu houve redução no teor de sacarose de 15% em comparação ao valor da dose estimada no ponto de máximo (8,88% de sacarose).

Na comparação da produção de grãos no primeiro ano de avaliação (Figura 3) com os teores de sacarose, observa-se uma relação direta, em que o maior teor de sacarose (7,94%) na maior dose de Cu (0,8 μmol L⁻¹) coincidiu com a maior produção de grãos (22 g por planta). No segundo ano observou-se menor concordância da produção de grãos (Figura 3B) com os teores de sacarose, verificando-se na dose estimada de Cu (1,80 μmol L⁻¹ maior teor de sacarose), uma pequena redução na produção de grãos (37,72 g por planta).

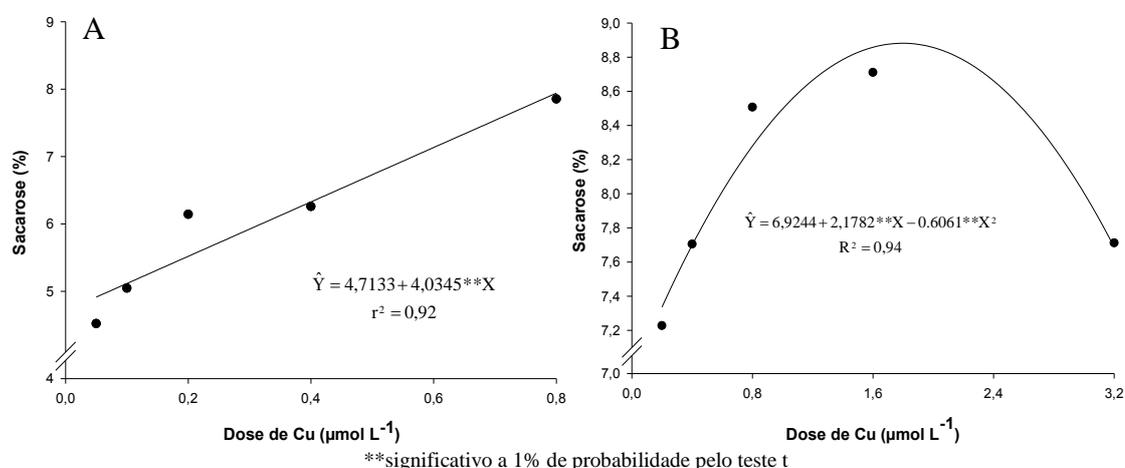


Figura 11 – Teor de sacarose nos grãos crus de café em função das doses de cobre em solução nutritiva, no primeiro ano (A) e segundo ano (B) de avaliação.

Cerca de 50% do Cu nas plantas estão nos cloroplastos, na plastocianina, onde participa da transferência de elétrons na fase fotoquímica da fotossíntese (HÄNSCH e MENDEL, 2009). Segundo Marschner, (2012), o aumento no fornecimento de Cu proporciona aumentos significativos de fotoassimilados para os grãos, em detrimento do rendimento da folhagem.

Esse aumento no teor de sacarose para as doses de cobre parece indicar que possivelmente esse micronutriente esteja também envolvidos na ativação da ligase da sacarose, enzima responsável pela acumulação desse açúcar em grãos de café arábico.

De acordo com Yruela, (2009) existem mais de cem enzimas em plantas que contem Cu. A sacarose é considerada uma característica de grande importância na qualidade da bebida, pois é um importante precursor do sabor e aroma do café. Os açúcares livres dominantes nos grãos de café são basicamente frutose, glicose e sacarose (ROGERS et al., 1999b). A sacarose representa quase todo açúcar livre nos grãos maduros de café.

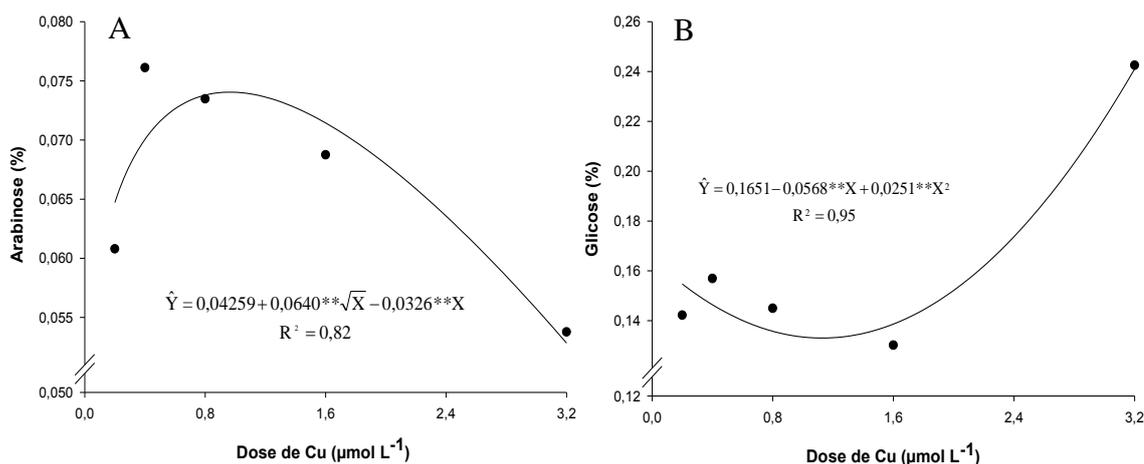
Em *C. arabica* o teor de sacarose na matéria seca varia entre 5,1 e 9,4%, no grão maduro (CLIFFORD, 1985; KY et al., 2001; CAMPA et al., 2004). Segundo Franca et al. (2004), a qualidade final da bebida está intrinsecamente relacionada com a composição química dos grãos torrados, que é afetada pelas condições de processamento e pela composição química dos grãos crus de café.

Glicose, manose, arabinose e galactose

No primeiro ano de avaliação não se verificou efeito das doses de Cu para os teores dos açúcares redutores (manose, glicose, galactose e arabinose).

Observa-se pelos resultados (Figura 12A e 12B), que no segundo ano de avaliação, houve efeito das doses de cobre em solução nutritiva para os teores de arabinose e glicose. Com o aumento da dose de Cu, o teor de arabinose aumentou conforme o modelo de raiz quadrada com o maior teor (0,074%) verificado na dose estimada de $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu (Figura 12A). Os teores foliares de Cu no ponto de máxima concentração de arabinose foram $6,29 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907\text{Cu}$; $r^2 = 0,98$). Esse resultado corresponde ao incremento de 14% no teor de arabinose, em relação a menor dose de cobre ($0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$), no qual resultou o teor de 0,065%. Na dose máxima de Cu ($3,2 \mu\text{mol L}^{-1}$) houve redução de 40% no teor (0,053%) em comparação ao valor da dose que permitiu valor máximo (0,074%).

Em relação aos teores de glicose, o aumento nas doses de Cu reduziu os teores de glicose, com o menor teor (0,13%) apresentado na dose estimada de 1,13 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e teor foliar de 6,70 mg kg^{-1} de Cu ($\hat{Y} = 3,1025 + 3,1907\text{Cu}$; $r^2 = 0,98$) (Figura 12B). Enquanto que na dose máxima de Cu (3,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$) houve um incremento no teor de glicose de 85% (0,24 % de glicose) em comparação ao valor da dose estimada que proporcionou 0,13% de glicose.



**significativo a 1% de probabilidade pelo teste t

Figura 12 – Teor de arabinose (A) e glicose (B) nos grãos crus de cafeeiro em função das doses de cobre em solução nutritiva, no segundo ano de avaliação.

Dos açúcares solúveis presentes nos grãos de café, destacam-se a glicose, frutose, manose, galactose e a sacarose, uma pequena porcentagem dos carboidratos presentes no grão. Estes, além de atuarem como reservas de utilização rápida constituem importante proteção, limitando os danos causados pela dessecação em sementes maduras (BUCKERIDGE et al., 2000).

Com isso, contribuem com a doçura da bebida do café, um dos atributos de sabor mais desejáveis nos cafés especiais, e participam de importantes reações (PEREIRA et al., 2002; CORADI et al., 2007; MARQUES et al., 2008). Segundo Mendonça et al. (2007), maior concentração de açúcares nos grãos crus de café contribuem, expressivamente, para as reações durante a torração.

Verifica-se na Tabela 9, que houve diferença significativa das doses de Cu fornecidas via solução nutritiva em relação à testemunha suplementada com pulverizações foliares para as variáveis sacarose (SAC), manose (MAN) e glicose (GLI), em que os teores dos açúcares (sacarose, manose e glicose) da testemunha foram superiores aos das doses de Cu (0,05; 0,1; 0,2 e 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Enquanto que para a

maior dose de Cu ($0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$) não houve diferença dos teores de açúcares em relação à testemunha. Para galactose e arabinose também não observou diferença entre a testemunha e as doses de Cu.

Tabela 9. Valores médios das variáveis, sacarose (SAC), manose (MAN), glicose (GLI), galactose (GAL) e arabinose (ARA) em função das doses de cobre em solução nutritiva e pulverizado no primeiro ano

Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	SAC (%)	MAN (%)	GLI (%)	GAL (%)	ARA (%)
0,05 + Pulverização	7,72	0,3052	0,2403	0,1338	0,0443
0,05	4,52*	0,2598*	0,1093*	0,1176	0,0479
0,1	5,05*	0,2590*	0,1142*	0,1420	0,0645
0,2	6,14*	0,2756	0,1097*	0,1266	0,0690
0,4	6,26*	0,2767	0,1195*	0,1313	0,0484
0,8	7,85	0,2936	0,2237	0,1340	0,0535

Observação: médias com asterisco na coluna diferem da Testemunha (0,05 + pulverização) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett

Esse aumento nos teores dos açúcares (sacarose, manose e glicose) possivelmente esteja relacionado ao bom suprimento de cobre via pulverização foliar, favorecendo com isso um maior transporte fotossintético de elétrons, como consequência do aumento nos teores de plastocianina, na taxa de fixação de CO_2 , como também um maior teor de amido e de carboidratos solúveis (especialmente sacarose) nas plantas (KIRKBY e RÖMHELD, 2007). Cerca de 50% do Cu encontrado nas plantas está presente nos cloroplastos, presentes na plastocianina, onde participa do transporte de elétrons entre o PSII e PSI na membrana do tilacóide (HÄNSCH e MENDEL, 2009).

De modo geral, os teores dos açúcares totais descritos nesse trabalho encontram-se numa faixa entre 5% e 8,5%, tendo a testemunha e a maior dose de Cu ($0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$) apresentado os maiores teores (8,43% e 8,54% respectivamente). Barrios (2001), Pinto (2002) e Villela (2002) afirmam que em cafés considerados bebida mole, apenas mole e estritamente mole estão entre 8,6 e 10% e Abrahão et al. (2009) observaram teores de açúcares solúveis totais em café cereja entre 7,06% e 7,71%.

Dos açúcares totais os redutores (manose, glicose, galactose e arabinose) estão presentes em menores quantidades (PEREIRA, 2002; PIMENTA; Vilela, 2002; RIBEIRO et al., 2003; SILVA et al., 2004; BORÉM et al., 2006; ABRAHÃO et al., 2009) pois, predominam os não redutores (sacarose). A concentração de sacarose pode

variar de 1,9 a 10% na matéria seca (PEREIRA et al., 2002; LIMA, 2005; KNOPP et al., 2006; MENDONÇA et al., 2007). Maiores concentrações de açúcares no grão cru permitem um aumento na participação destes compostos nas reações do processo de torração (MENDONÇA et al., 2007), contribuindo com a doçura da bebida, que é considerado um dos atributos de sabor mais desejáveis nos cafés especiais (PEREIRA et al., 2002; CORADI et al., 2007; MARQUES et al., 2008). De acordo com Pereira et al. (2002); Coradi et al. (2007) e Marques et al. (2008), pode-se atribuir essa melhor qualidade às substâncias voláteis formadas a partir da combinação de tais açúcares com as proteínas no processo de torração.

Potássio lixiviado e condutividade elétrica

A quantidade de potássio lixiviado e a condutividade elétrica não variaram com a dose de Cu (Tabela 10). Os grãos de café com maior atividade da polifenoloxidase, apresentam tendência de maior IC, menor lixiviação de potássio e CE (CARVALHO et al., 1994), apesar de não diferirem para o KL e CE, em razão das doses de cobre (Tabela 9). Cafés de melhor qualidade possuem maior atividade da PPO e IC, menor KL e CE conforme pesquisas desenvolvidas por Carvalho et al. (1994), Leite & Carvalho (1994), Chagas et al. (1996), Silva et al. (2002) e Silva et al. (2009).

Tabela 10. Valores médios das variáveis, potássio lixiviado (KL) e condutividade elétrica (CE) em razão das doses de cobre em solução nutritiva

Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	KL g kg ⁻¹	CE $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$
0,2	0,943	244,30
0,4	0,692	218,00
0,8	0,836	221,60
1,6	0,952	224,00
3,2	1,00	268,00
Média	$\hat{y} = 0,88$	$\hat{y} = 235,18$
CV (%)	15,04	11,99

Os testes de condutividade elétrica e potássio lixiviado são utilizados como identificador da qualidade, porque apresentam maior sensibilidade na detecção de

degradações nas membranas celulares dos grãos, pelo manejo inadequado nas fases de pré e pós-colheita (ANGÉLICO, 2008). Uma maior lixiviação de potássio, e consequente aumento na condutividade elétrica, é um bom indicador de danos na membrana e na parede celular (GOULART et al. 2007).

Levando-se em consideração os resultados obtidos no segundo ano de avaliação, em que as doses de Cu empregadas permitiram obter curvas de resposta de maior amplitude, observa-se que doses entre 1,45 e 2,59 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu permitiram otimizar a produtividade e diversas características relacionadas à qualidade. Nessa faixa, produção de grãos e sacarose alcançaram valores máximos, enquanto que ATT, pH, fenóis totais, 5-CQA e 4-CQA alcançaram valores mínimos. Nessas condições os teores de Cu nas folhas índice estiveram entre 7,20 e 11,37 mg kg^{-1} ou seja, no limite inferior da faixa crítica determinada por MARTINEZ et al., 2003. Cabe salientar, entretanto, que essa faixa crítica foi obtida em condições de campo e apresenta a variabilidade inerente a tais condições, incluindo a presença de íons adsorvidos às cutículas foliares não eliminados no processo de lavagem das folhas que precede a análise, o que no presente estudo, em condições controladas, não ocorreu.

Merece destaque, ainda, o fato da atividade da PPO, importante definidora da qualidade, ter sido maximizada em grãos de plantas com 5,6 mg kg^{-1} de Cu nas folhas índice, ou seja, abaixo da faixa crítica proposta por MARTINEZ et al., 2003.

Análise sensorial

O café como bebida é normalmente classificado em sete grupos: estritamente mole, mole, apenas mole, dura, riada, rio e rio zona, sendo as quatro primeiras consideradas bebidas finas e as três últimas bebidas fenicadas. Certos atributos podem ser adicionados a classificação, provenientes de fermentações que podem levar à aquisição de características secundárias obtendo, assim, tipos de bebida tais como dura fraca, mole com bom corpo, doce e equilibrado entre outras. No presente trabalho características da bebida foram transformadas em escalas de valores permitindo uma avaliação quantitativa, como também foram incluídos suas classificações e atributos (Tabela 11).

Pela avaliação sensorial (prova de xícara) verificou-se que não houve diferença significativa entre as doses de Cu em solução nutritiva. No entanto, as maiores doses de Cu proporcionaram atributos diferentes das doses menores, mas de modo geral

corresponderam à bebida mole (Tabela 11).

Tabela 11. Avaliação sensorial de grãos de café beneficiados, em função das doses de cobre em solução nutritiva no segundo ano

Doses de Cu ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Classificação	Prova de xícara	
		Notas	Atributos
0,2	Bebida Mole	82	Bom corpo e Equilibrado
0,4	Bebida Mole	82	Bom corpo
0,8	Bebida Mole	82	Bom corpo, Doce e Equilibrado
1,6	Bebida Mole	82	Equilibrado e corpo aveludado
3,2	Bebida Mole	84	Doce, Bom corpo, Frutado e vinho
Média		$\hat{y} = 82,4$	
CV (%)		2,72	

CONCLUSÕES

Doses de Cu entre 1,5 e 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ via solução nutritiva permitiram maximizar nos dois anos de avaliação, a produção de grãos e os atributos químicos relacionadas à qualidade de bebida do café, como a atividade da PPO, os teores de sacarose, trigonelina, acidez titulável, arabinose, o isômero do ácido clorogênico (3-CQA), os ácidos tartárico, cítrico e málico. Doses inferiores, ou superiores permitiram o incremento dos atributos relacionados com a perda de qualidade da bebida como, os fenóis totais, o ácido 5-CQA, o pH, AT, e o isômero do ácido clorogênico (4-CQA). Os teores foliares que se relacionaram aos pontos de máximo ou mínimo dos atributos de qualidade estudados variaram entre 5,6 e 11,37 mg kg^{-1} de Cu, ou seja estão no limite inferior, ou abaixo da faixa de concentrações consideradas adequadas para o cafeeiro.

O fornecimento de Cu via foliar aumentou a produção de frutos, a atividade da PPO, os teores de sacarose, manose, glicose, trigonelina e cafeína, o índice de coloração, pH e os teores de ácido málico, atributos relacionados com a melhoria da qualidade da bebida do café, e, negativamente, fenóis totais, isômeros do ácido clorogênico (5-CQA) todos prejudiciais à qualidade da bebida de café.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIC – **Associação Brasileira da Indústria de Café**. Tendências de consumo de café. viii, 2010. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/media/EST_PESQTendenciasConsumo2010.pdf>. Acesso em: 16 Abr. 2014.

ABRAHÃO, A. A. de. et al. Classificação física e composição química do café submetido a diferentes tratamentos fungicidas. **Coffee Science**, Lavras, v. 4, n. 2, p. 100-109, 2009.

AOAC. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 15 Ed. Arlington, v. 1, p. 685-1213, 1990.

ARRUDA, N. P. et al. Correlação entre precursores e voláteis em café arábica brasileiro processado pelas vias seca, semiúmida e úmida e discriminação através da análise por componentes principais. **Química Nova**. São Paulo, v. 35, n. 10, p. 2044-2051, 2012.

AVELINO, J. et al. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of Science Food and Agriculture**, Sussex, v. 85, p. 1869-1876, 2005.

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

BOARDMAN, R., MCGUIRE, D. O. The role of zinc in forestry. In: Zinc in forest environments, ecosystems and tree nutrition forest ecology. **Forest Ecology and Management**, v. 37, p. 167-205, 1990.

BORÉM, F. M. et al. Caractization of the moment of endosperm cell damage during coffee drying. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 22., 2008. Campinas. **Resumes...** Campinas: ASIC, 2008a. p. 14-19.

BUFFO, R. A.; CARDELLI-FREIRE, C. Coffee flavour: an overview Flavour and Fragrance Journal. John Wiley & Sons, **London: Library**, v. 19, n. 2, p. 99-104, 2004.

BUFFO, R. A.; REINECCIUS, G. A. Determination of linear response in the detection of mixtures of aroma compounds by atmospheric pressure ionization–mass spectrometry (API–MS). Flavour and Fragrance Journal, John Wiley & Sons, Ltd, **London: online Library**, v. 23, n. 1, p. 16-22, 2008.

BYTOF, G., KNOPP, S.E., SCHIEBERLE, P., TEUTSCH, I., SELMAR, D. Influence of processing on the generation of g-aminobutyric acid in green coffee beans. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 220, n. 3/4, p. 245-250, 2005.

BYTOF, G., KNOPP, S.E., KRAMER, D., BREITENSTEIN, B., BERGERVOET, J.H.W., STEVEN, P. C.G. & SELMAR, D. Transient occurrence of seed germination processes during coffee post-harvest treatment. **Annals of Botany**, London, v. 100, n. 1,

p. 61-66, 2007.

CAIXETA, G. Z. T. **Economia cafeeira, mercado de café, tendências e perspectivas. In: I Encontro sobre Produção de Café com Qualidade.** Viçosa, MG: UFV, Departamento de Fitopatologia, 1999. 259 p.

CAMPA, C. et al. Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild Coffea species. **Food Chemistry**, Oxford, v. 93, n. 1, p. 135–139, Nov. 2005.

CAMPA, C. et al. Trigonelline and sucrose diversity in wild Coffea species. **Food Chemistry**, Oxford, v. 88, n. 1, p. 39-43, Nov. 2004.

CARVALHO, V. D.; CHALFOUN, S. M.; CHAGAS, S. J. de R. Relação entre classificação do café pela bebida e composição físico-química, química e microflora do grão beneficiado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15., 1989, Maringá. **Anais...** Maringá: MEC/IBC, 1989. p. 25-26.

CARVALHO, V.D.; CHAGAS, S.J.R.; CHALFOUN, S.M.; BOTREL, N.; JUSTE JÚNIOR, E.S.G. Relação entre a composição físico-química e química do grão beneficiado e qualidade da bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n. 3, p. 449-454. 1994.

CASAL, S. et al. Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid, and caffeine content, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v.48, p. 3420-3424, 2000.

CASAL, S. I. P. **Compostos nitrogenados: desenvolvimento de metodologias analíticas e sua aplicação na discriminação de espécies e no controlo da intensidade da torra do café.** (Dissertação de Doutorado em Ciências Farmacêuticas)-Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Porto, 2004, 266 p.

CHAGAS, S. J. de R. et al. Caracterização química e qualitativa de cafés de alguns municípios de três regiões produtoras de Minas Gerais. II. Valores de acidez titulável e teores de açúcares (redutores, não redutores e totais). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, p. 224-231, 1996.

CHALFOUN, S.M.S. **O café (Coffea arabica L.) na Região Sul de Minas Gerais - relação da qualidade com fatores ambientais, estruturais e tecnológicos.** Tese (Doutorado) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996. 171p.

CHALFOUN, S. M.; PARIZZI, F. C. Fungos toxigênicos e micotoxinas em café. In: BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café.** Lavras: Editora UFLA, 2008. p. 513.

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

CLIFFORD, M. N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: CLIFFORD, M. N.; WILLSON, K. C. **Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage.** London: CROOMBELM, 1985. p. 305-359.

CLEMENTE, J. M. et al. Effect of N and K doses in nutritive solution on growth, production and coffee bean size. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 2, p. 279-285, 2013.

CLEMENTE, J.M. **Nutrição nitrogenada e potássica afetando crescimento, produção, composição química e qualidade da bebida de Coffea arabica**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - UFV, 2010. 54p.

DUARTE, G. S.; PEREIRA, A. A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet postharvesting methods. **Food Chemistry**, Oxford, v. 118, p. 851–855, 2010.

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

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

FARAH, A. **Distribuição nos grãos, importância na qualidade da bebida e biodisponibilidade dos ácidos clorogênicos do café**. 2004. (Dissertação de mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

FARAH, A. et al. Formation of chlorogenic acids lactones in roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 5, p. 1105–1113, 2005.

FARAH, A. Coffee as a Speciality and Functional Beverage. IN: PAUL PAQUI. (Org.). **Functional and Speciality Beverage Technology**. 1^a ed. London: Wood head Publishing Limited / CRC Press, 2009, p. 370-395.

FELDMAN, J.R. et al. Importance of non volatile compounds to the flavor of coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.17, p. 733-739, 1969.

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

FRANCA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; OLIVEIRA, S. S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **LWT - Food Science and Technology**, Oxford, v. 38, n. 7, p. 709-715, 2004.

FRANCA, A. S. et al. Physical and chemical attributes of detective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, Oxford, v. 90, n. 1-2, p. 89-94, 2005.

HAGERMAN, A. E. **Tannin chemistry**. 2002. Disponível em: <<http://www.users.muohio.edu/hagermae/>>. Acesso em 12 de março de 2013.

HANSCH, R. e MENDEL, R. R. As funções fisiológicas de micronutrientes minerais (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**. v. 12, n. 1, p. 259 – 266, 2009.

HASLAM, E. **Plant polyphenols vegetables tannins**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 230 p.

ILLY, A.; VIANI, R. **Express coffee: the chemistry of quality**. London: Academic Press, 1995. 253 p.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Flavour profiles of commercial roasted and ground coffee samples from Brasil**. London, 1991. (Sensory Report). 1991b.

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

KIRKBY, E. A; RÖMHELD, V. **Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade**. Tradução: Suzana Oellers Ferreira. Encarte Técnico. 2007. (Informações Agronômicas nº 118)

KY, C. L. et al. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. **Food Chemistry**, 75, pp.223–230, 2001.

KOSHIRO, Y. et al. Changes in content and biosynthetic activity of caffeine and trigonelline during growth and ripening of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* fruits. **Plant Science**, v. 171, p. 242–250, 2006.

LANTICAN, M. A.; PRINGALI, P. L.; RAJARAM, S. Are marginal wheat environments catching up. **CYMMIT World Wheat Overview and Outlook**. Part 2, p. 39-44, 2001.

LEITE, I. P.; CARVALHO, V. D. Influência do local de cultivo e do tipo de colheita nas características físicas, composição química do grão e qualidade do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 299-308, 1994.

LIMA, A. R. et al. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Química Nova**. São Paulo, v. 33, n. 1, p. 20-24, 2010.

LÓPEZ-GALILEA, I.; PEÑA, M. P. DE; CID, C. Correlation of selected constituents with the total antioxidant capacity of coffee beverages: influence of the brewing procedure. **J. Agric. Food Chem.** v. 55, p. 6110-6117, 2007.

MAFRA, D. et al. The importance of zinc in human nutrition. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 1, p.79- 87, 2004.

MALAVOLTA, E. **Nutrição Mineral e Adubação do Cafeeiro: Colheitas econômicas máximas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1993. 210 p.

MALTA, M. R.; CHAGAS, S. J. de R.; OLIVEIRA, W. M. de. Composição físico-química e qualidade do café submetido a diferentes tipos de processamento (natural, descascado e desmucilado). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL,

3., 2003. Porto Seguro. **Anais...** Brasília: EMBRAPA CAFÉ, 2003. p. 259.

MALTA, M. R.; CHAGAS, S. J. R. Avaliação de compostos não-voláteis em diferentes cultivares de cafeeiro produzidas na região Sul de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 57-61, 2009.

MALTA, M. R.; SANTOS, M. L.; SILVA, F. A. M. Qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1385-1390, 2002.

MARQUES, E. R. et al. Eficácia do teste de acidez graxa na avaliação da qualidade do café arábica (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes períodos de temperatura e pré-secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 32, n. 5, p. 1557-1562, 2008.

MARTINEZ, H. E. P., CLEMENTE, J. M. **O uso do cultivo hidropônico de plantas em pesquisa**. 1ª ed. Viçosa, Editora UFV. 2011, 76p.

MARTINEZ, H. E. P. et al. Faixas críticas de concentrações de nutrientes e avaliação do estado nutricional de cafeeiros em quatro regiões de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 38, p. 703-713, 2003.

MARTINEZ, H. E. P.; POLTRONIERI, Y.; FARAH, A.; PERRONE, D. Zinc supplementation, production and quality of coffee beans. **Revista Ceres**, v. 60, p. 293-299, 2013.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3ed. New York, Academic Press, 2012. 651p.

MARCUCCI, C. T., BENASSI, M. T., ALMEIDA, M. B., NIXDORF, S. L. Teores de trigonelina, ácido 5-cafeoilquínico, cafeína e melanoidinas em cafés solúveis comerciais brasileiros. **Química Nova**, Vol. 36, No. 4, 544-548, 2013.

MAZZAFERA, P.; GONÇALVES, K.V.; SHIMIZU, M.M. Extração e dosagem da atividade da polifenoloxidase do café. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.59, n.4, p.695-700, out./dez. 2002.

MAZZAFERA, P., 1994. Caffeine, theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguariensis*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 6, n. 1, p. 149– 151.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E REFORMA AGRÁRIA. **Manual de análise de semente**. Brasília, 1992. P. 183-190.

MENDONÇA, L. M. V. L. et al. Composição química de grãos crus de cultivares de *Coffea arabica* L. suscetíveis e resistentes à *Hemileia vastatrix* Berg et Br. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 413-419, 2007.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. 5. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849 p.

MENEZES, H. C. **Variação dos monoisômeros e diisômeros do ácido cafeoilquínico**

com maturação de café. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990. 171 p.

MONTEIRO, M. C.; FARAH, A. Chlorogenic acids in Brazilian Coffea Arabica cultivars from various consecutive crops. **Food Chemistry**, Oxford, 134, p. 611- 614, 2012.

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

MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, P. M.; NASCIMENTO, E. A.; Compostos bioativos e atividade antioxidante de Conilon café submetido a diferentes graus de torrefação. **Química Nova**. v. 32, n. 2, p. 327-331, 2009.

ORGANIZATION INTERNATIONAL DEL COFFEE. **Quantitative descriptive flavours profiling of coffees form.** Londres, 1991. 215 p. (Reporte de evaluación sensorial).

PIMENTA, C. J.; VILELLA, E. R. Qualidade do café (coffea arabica L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, p. 1481-1491, 2002. Especial.

PINTO, N. A. V. D. et al. Caracterização química e sensorial de bebidas e blends de cafés torrados tipo expresso. Industrialização e qualidade do café. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2002, Vitória. **Anais...** Porto Velho: EMBRAPA, 2002. v. 4, p. 1136-1139.

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

PILON, M.; ABDEL-GHANY, S. E.; COHU, C. M., GOGOLIN, K. A., YE, H. Copper cofactor delivery in plant cells. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 1, p. 256–263, 2006.

POLTRONIERI, Y.; MARTINEZ, H.E.P.; CECON, P.R. Effect of zinc and its form of supply on production and quality of coffee beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 2431–2436. 2011.

PRADO, R. M. **Nutrição de plantas.** São Paulo: UNESP, 2008. 407 p.

PRETE, C.E.C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (Coffea arabica L.) e sua relação com a qualidade da bebida.** Tese (Doutorado em Fitotecnia)- ESALQ, 1992. 125p.

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v. 36, n. 1, p. 409–430, 2009.

RIBEIRO, D. E. **Interação genótipo e ambiente na composição química e qualidade**

sensorial de cafés especiais em diferentes formas de processamento. Lavras – MG (Dissertação de mestrado), 2013. 62p.

ROBSON, A. D. and REUTER, D. J. Diagnosis of copper deficiency and toxicity. In **Copper in Soils and Plants**. LONERAGAN, J. F. ROBSON A. D. and GRAHAM, R. D. eds. Academic Press, London and Orlando. 1981, p. 287–312.

ROGERS, W. J.; MICHAUX, S.; BASTIN, M.; BUCHELI, P. Changes to the content of sugars, sugars alcohols, myoinositol, carboxylic acids and inorganic anions in development grains from different varieties of Robusta (*Coffea canephora*) and arabica (*Coffea arabica*) coffees. **Plant Science**, London, v. 149, n. 2, p. 115-123, 999.

SAATH, R. **Qualidade do café natural e despulpado em diferentes condições de secagem e tempos de armazenamento.** Tese (Doutorado em Agronomia), 2010. 229 p.

SAGARDOY, R.; MORALES, F.; LÓPEZ-MILLÁN, A. F.; ABADÍA, A. ABADÍA, J. **Plant Biology**, v. 11, p. 339–50, 2009.

SALVA, T.J.G.; LIMA, V.B. A composição química do café e as características da bebida e do grão. **O Agrônomo**, Campinas. v. 59, n. 1, p. 57-59, 2007.

SAEG Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SCHERER, R. et al. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. **Food Chemistry**, v. 135, n. 11, p. 50–154, 2012.

SHIMIZU, M. M.; MAZZAFERA, P. Compositional changes of proteins and amino acids in germinating coffee seeds. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 3, p. 259-265, 2000.

SINGLETON, V. L. The total phenolic content of grape berries during the maturation of several varieties. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 17, p. 126-134, 1966.

SILVA, L.C. **Desenvolvimento e avaliação de um secador de café (*Coffea arábica* L.) intermitente de fluxos contracorrente.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, 1991. 74p.

SILVA, E.B.; NOGUEIRA, F.D.; GUIMARAES, P.T.G.; CHAGAS, S.J.R.; COSTA, L.; FONTES E. Doses de potássio na produção e qualidade do grão de Café beneficiado. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 34, p. 335–345, 1999.

SILVA, E.B.; NOGUEIRA, F.D.; GUIMARÃES, P.T.G. Qualidade dos grãos de café em função de doses de potássio. **Acta Scientiarum**, v. 24, p. 1291–1297, 2002.

SILVA, E. A. et al. The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 229-238, 2005.

SILVA, M.C. da; CASTRO, H.A.O.; FARNEZI, M.M.M.; PINTO, N.A.V.D.; SILVA, E.B. Caracterização química e sensorial de cafés da chapada de minas, visando determinar a qualidade final do café de alguns municípios produtores. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1782-1787, 2009. Edição especial.

SILVA FILHO, J.B. da. **Índices de nitrogênio na planta e produtividade de tubérculos de batata-semente em sistema hidropônico de três fases**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2011. 75p.

SIQUEIRA, H. H. de.; ABREU, C. M. P. de. Composição físico-química e qualidade do café submetido a dois tipos de torração e com diferentes formas de processamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 113-116, 2006.

SLUITER, A.; HAMES B.; RUIZ, R.; SCARLATA C.; SLUITER J.; TEMPLETON D. & CROCKER, D. **Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass**. Laboratory Analytical Procedure, 2008.

TOCI, A. T.; FARAH, A. Volatile compounds as potential defective coffee beans markers. **Food Chemistry, Oxford**, v. 108, p. 1133-1141, 2008.

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. Chlorogenic acid composition of instant coffee. **Analyst**, v. 109, n. 3, p. 263-270, 1984.

VILLELA, T. C. **Qualidade de café despulpado, desmucilado, descascado e natural, durante o processo de secagem**. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002. 66 p.

VITORINO, M. D.; FRANÇA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; BORGES, M. L. A. Metodologia de obtenção de extrato de café visando a dosagem de compostos não voláteis. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 26, n. 3, p. 17-24, 2001.