

**PERFIL DE AMINOÁCIDOS NOS FRUTOS  
VERDES DO CAFEIRO PROCESSADOS  
POR VIA SECA E VIA ÚMIDA**

**EDUARDO CARVALHO DIAS**

**2008**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos  
da**

**Biblioteca Central da UFLA**

Dias, Eduardo Carvalho.

Perfil de aminoácidos nos frutos verdes do cafeeiro processados por  
via seca e via úmida / Eduardo Carvalho Dias. – Lavras : UFLA, 2008.  
67 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.  
Orientador: Flávio Meira Borém.

Bibliografia.

1. Café. 2. Aminoácidos. 3. Asparagina. 4. Pós-colheita. 5.  
Processamento. 6. Qualidade. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 663.93

**EDUARDO CARVALHO DIAS**

**PERFIL DE AMINOÁCIDOS NOS FRUTOS VERDES DO  
CAFEIRO PROCESSADOS POR VIA SECA E VIA ÚMIDA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Lavras como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação “Strictu sensu” em  
Ciência dos Alimentos, para obtenção do  
título  
de “Mestre”.

**Orientador**

**Prof. Dr. Flávio Meira Borém**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008**

**EDUARDO CARVALHO DIAS**

**PERFIL DE AMINOÁCIDOS NOS FRUTOS VERDES DO  
CAFEIRO PROCESSADOS POR VIA SECA E VIA ÚMIDA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Lavras como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação “Strictu sensu” em  
Ciência dos Alimentos, para obtenção do  
título de “Mestre”.

APROVADA em 7 de março de 2008

Prof. Dr. Mário César Guerreiro

UFLA

Dr. Sílvio Júlio de Rezende Chagas

EPAMIG

Prof. Dr. Flávio Meira Borém  
(Orientador)  
UFLA

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por iluminar o meu caminho e ter permitido alcançar mais uma meta.

À minha mãe, Inelma, pelo apoio incondicional para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de ter ingressado no mestrado.

Ao Prof. Flávio Meira Borém, por ter acreditado no meu trabalho, pela orientação e incentivo.

Ao Prof. Mário Guerreiro, pela paciência, dedicação e apoio durante todo o período de realização deste trabalho.

À Prof.(a) Rosemary, pela atenção e contribuição de importantes sugestões para a finalização do projeto.

Ao Dr. Sílvio Júlio, pela grande contribuição na banca de defesa.

Aos meus irmãos, Myrna, Fábio, Érika, e ao meu pai, Lindolfo e minhas sobrinhas, Paula, Laura e Clara pelo apoio, ajuda e incentivo durante o período de realização do mestrado.

À D. Aguiar e Galvão e toda família, pela acolhida e atenção durante todo o período que permaneci em Lavras.

Aos professores e funcionários dos Departamentos de Ciência dos Alimentos e Química, e do Pólo de Tecnologia e Pós-colheita de Café.

Aos amigos: Hebe, Joyce, Abel, Éder, Pedro, Gilberto, Luciana, Marcos, Roseane, e a todos que de alguma forma, auxiliaram na condução e realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

### Página

RESUMO.....	i
ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO .....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	03
2.1 Importância econômica e social do café .....	03
2.2 Processamento do café.....	04
2.2.1 Processamento via úmida.....	06
2.2.2 Processamento dos frutos verdes imaturos .....	07
2.3 Secagem.....	08
2.4 Composição dos grãos de café.....	09
2.4.1 Importância do aminoácido asparagina .....	11
2.4.2 Modificações na composição química .....	16
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	17
3.1 Local da realização do experimento .....	17
3.2 Obtenção da matéria-prima e delineamento experimental.....	17
3.3 Preparação das amostras de café.....	19
3.4 Metodologia de análise .....	19
3.4.1 Preparação da fase móvel .....	20
3.4.1.1 Eluente A .....	20
3.4.1.2 Eluente B.....	20
3.4.2 Preparação das soluções padrões .....	21
3.4.2.1 Solução padrão A.....	21
3.4.2.2 Soluções padrões B1, B2 e C.....	21
3.4.3 Hidrólise do material .....	21
3.4.4 Preparação da derivatização dos padrões e amostras.....	22
3.4.5 Determinação dos aminoácidos livres .....	23

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
4.1 Caracterização do ambiente de secagem.....	25
4.2 Perfil dos aminoácidos presentes no grão imaturo .....	26
4.3 Determinação dos níveis de asparagina nos grãos imaturos de café .....	32
4.4 Níveis dos aminoácidos nos grãos processados por via seca e úmida ....	33
5 CONCLUSÕES .....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
ANEXOS .....	52

## RESUMO

DIAS, Eduardo Carvalho. **Perfil de aminoácidos nos frutos verdes do cafeeiro processados por via seca e via úmida**. Lavras. 2008. 67p. (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG\*

O café natural produzido no Brasil apresenta um padrão de qualidade extremamente variável, sendo que ao longo da colheita apresenta frutos em diferentes estádios de maturação. Os frutos verdes são componentes constantes do café do Brasil independentemente da forma de processamento. As operações na pós-colheita podem minimizar este problema desde que corretas técnicas de processamento sejam aplicadas. O descascamento do café verde imaturo surge como uma forma de melhorar a qualidade deste, propiciando um maior valor agregado. As alterações químicas, bioquímicas e fisiológicas que ocorrem nos grãos de café, em função dos tipos de procedimentos realizados na pós-colheita, resultam em quantidades diferentes dos componentes precursores do sabor e aroma que irão determinar a qualidade final dos grãos. Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito do processamento via seca e via úmida e do tempo de imersão em água na composição dos grãos dos frutos verdes imaturos do cafeeiro. Os carboidratos e aminoácidos são os principais constituintes que contribuem para o desenvolvimento do sabor e aroma típico durante a torração. A análise de aminoácidos é importante porque esses compostos atuam como precursores das substâncias voláteis e aromáticas, e durante a reação de Maillard, a asparagina participa na formação da acrilamida, substância potencialmente prejudicial à saúde. Os aminoácidos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa depois da derivatização com fenilsotilcianato para a detecção em ultravioleta. Os procedimentos realizados na pós-colheita interferiram significativamente no perfil de aminoácidos presentes nos grãos de café imaturos. A asparagina foi o aminoácido que apresentou a maior concentração nos grãos imaturos do café processado por via seca, e significativamente menor nos grãos de café descascados no processo por via úmida, e a arginina, treonina, glutamina, triptofano, valina, isoleucina e histidina apresentaram níveis superiores quando os frutos imaturos do cafeeiro foram processados por via seca, em comparação com o processamento via úmida. A fenilalanina, aspartato e o glutamato apresentaram maiores níveis no processamento via úmida.

---

Comitê orientador: Prof. Dr. Flávio Meira Borém - UFLA (Orientador)  
Prof. Dr. Mário César Guerreiro - UFLA (Co-orientador)  
Prof.(a) Dr. (a) Rosemary G. A. F. Pereira - UFLA (Co-orientadora)

## ABSTRACT

DIAS, Eduardo Carvalho. **Amino acids profile in the unripe arabica fruits by dry and wet processing**. 2008. 67 p. (Dissertation - Master in Food Science) Federal University of Lavras, Lavras/MG\*

The quality of natural coffee produced in Brazil is quite variable. During harvest, fruits at different stages of maturation can be found. Since manual and selective harvesting are economically prohibited, unripe fruits are naturally present in Brazil's post harvest. Processing operations can minimize this problem, providing correct processing techniques are applied. Wet processing can effectively used. Nevertheless, an unripe portion of fruit with low quality will be produced. Mechanical depulping of immature coffee appears to be a potential way of improving its quality. The chemical, biochemical and physiological alterations that happen during post harvest result in different flavor and aroma precursor compounds that will determine coffee bean quality. The effect the wet and dry processing and water emersion time of immature fruits in coffee bean compounds were studied. Carbohydrates and amino acids contribute to the development of typical aroma during roasting, which is considered as the major attribute related to coffee quality. The analysis of amino acids is important, because these compounds act as precursor of aromatic and volatile substances while the asparagine produces acrylamide, a potentially harmful substance during the course of Maillard reaction. The amino acids were analyzed by reversed phase chromatography after derivatization with phenylisothiocyanate and ultraviolet detection. The procedures used in the post harvest interfere significantly in the amino acid profile of the immature coffee beans. Asparagine is the amino acid with the highest concentration in the natural unripe coffee and significantly lower in pulped natural unripe coffee; and arginine, threonine, glutamine, tryptophan, valine, isoleucine and histidine presented superior levels when immature coffee fruits were processed by dry processing in comparison with wet processing. Phenylalanine, aspartic acid and glutamic acid presented superior levels in wet processing.

---

Guidance Committee: Prof. Dr. Flávio Meira Borém - UFLA (Adviser)  
Prof. Dr. Mário César Guerreiro - UFLA (Co-adviser)  
Prof.(a) Dr. (a) Rosemary G. A. F. Pereira - UFLA (Co- adviser)

## 1 INTRODUÇÃO

O café natural produzido no Brasil e no estado de Minas Gerais apresenta um padrão de qualidade extremamente variável. Nos cafeeiros, ocorrem mais de uma floração, e ao longo de toda a colheita, apresentam frutos em diferentes estádios de maturação. No início da colheita, predominam um maior percentual de frutos verdes e cereja, e no final, frutos passas e secos. O sistema tradicionalmente utilizado para a colheita do café resulta, então, em um produto desuniforme em razão da heterogeneidade da maturação dos frutos. O café, em geral, é colhido quando a porcentagem dos frutos verdes está em torno de 15-20% e o teor de água em torno de 55 a 60% (b.u.). Dessa forma, ocorrerão frutos em diferentes estádios de maturação e, portanto, frutos com diferentes teores de água. Se, por um lado, nas colheitas tardias, os frutos secos podem ter sofrido alguma fermentação indesejável, nas colheitas antecipadas, os frutos verdes irão resultar em defeitos verdes e preto-verdes depreciando o aspecto, o tipo e a bebida do café.

As operações pós-colheita podem minimizar esse problema, desde que corretas técnicas de processamento sejam aplicadas. No processamento do café via seca, os frutos são processados na sua forma integral, produzindo frutos secos, conhecidos como café em coco ou café natural; e o processamento via úmida produz os cafés em pergaminho (despolpados, descascados e desmucilados). Em ambos os processos, o principal objetivo é preparar o café para a secagem e, em seguida, para o armazenamento e comercialização removendo-se a água até níveis seguros, bem como as partes externas do fruto (exocarpo, mesocarpo e endocarpo) antes da torração.

Até alguns anos atrás, pouco se conhecia sobre as relações existentes entre os componentes químicos do café e as características do grão e da bebida. Mesmo assim, as tecnologias que surgiram na cafeicultura brasileira

foram aos poucos adaptando-se para a produção de cafés de melhor qualidade.

Os diferentes processos metabólicos que ocorrem na pós-colheita do café dependem do método de processamento. Essas diferenças no metabolismo irão resultar em diferenças químicas, bioquímicas e, conseqüentemente, na quantidade dos componentes precursores do sabor e do aroma e demais substâncias presentes no grão que irão determinar a qualidade final do café.

Por isso, a determinação do perfil de aminoácidos poderá fornecer uma base para o controle e geração de novas tecnologias para os tratamentos na pós-colheita, minimizando a formação de potenciais componentes químicos prejudiciais à saúde, por meio de adequação dos procedimentos pós-colheita, viabilizando o processamento do cereja descascado.

Com este trabalho objetivou-se avaliar os efeitos dos diferentes procedimentos realizados durante o processamento do café, determinando o perfil dos aminoácidos presentes nos frutos imaturos do cafeeiro, e principalmente a concentração do aminoácido asparagina, um dos precursores da acrilamida, substância potencialmente prejudicial à saúde.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Importância econômica e social do café**

Os grãos de café são produzidos e exportados por mais de 50 países em desenvolvimento; entretanto, a maior parte dos consumidores está nos países como os EUA, Brasil, União Européia e Japão. É uma das bebidas mais difundidas no mundo, proporcionando aos países produtores uma renda média de oito bilhões de dólares/ano (ABIC, 2007). O café é um dos produtos agrícolas de maior importância para o Estado de Minas Gerais, para o Brasil e para o comércio internacional, tanto pela receita gerada pela exportação e industrialização, como também pelo número de empregos diretos e indiretos relacionados ao agronegócio.

A maior safra de café do mundo é produzida no Brasil e a colheita estende-se por um período de até seis meses, coincidindo com o período seco do ano, o que favorece a maturação dos frutos, a própria colheita e a secagem. A produção nacional da safra 2006/07, cultivada em 2,3 milhões de hectares, envolvendo cerca de 300.000 produtores, atingiu cerca de 42,5 milhões de sacas de café beneficiado, sendo 33,0 milhões de arábica e 9,5 milhões de robusta. O Estado de Minas Gerais ocupa a posição de maior produtor nacional, respondendo por 51,7% da safra. A estimativa de produção da safra 2007/2008 é de 32,6 milhões de sacas de café beneficiado. Desse total, estima-se que 22,5 milhões de sacas são de café arábica (69%) e apenas 10,1 milhões de sacas, de café robusta (31%). Por ser uma cultura que apresenta a bienalidade da produção, nota-se uma redução de 23,3% na produção brasileira (CONAB, 2007).

O consumo de café vem atingindo recordes de crescimento no Brasil, e o consumo per capita evoluiu de 4,01 quilos para 4,11 quilos por habitante, um crescimento de 2,5%. Com isso, estima-se que, em 2007, os brasileiros devam consumir em torno de 17,3 milhões de sacas de café, o que representa

um aumento de 5,5% no consumo do produto, segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC, 2007).

## **2.2 Processamento do café**

A qualidade do café está relacionada à composição química, ao número e tipo de defeitos presentes, como os grãos (preto, verde, ardido), interferindo na sua constituição química que, por consequência, compromete a qualidade da bebida (Garruti & Gomes, 1961; Gialluly, 1959; Mazzafera, 1998; Ohiokpehai et al., 1987). O sabor e o aroma do café torrado são alguns dos principais atributos relacionados também à sua qualidade. No entanto, o desenvolvimento dessas características durante a torração varia, entre outros fatores, em função da presença dos seus precursores nos grãos crus, cuja quantidade e qualidade dependerão da variedade, solo, altitude, condução da lavoura, colheita, estágio de maturação e método de processamento (Alpizar & Bertrand, 2004; Pereira, 1997).

A colheita do café deve ser iniciada quando a maioria dos frutos estiverem maduros e antes que se inicie a queda de frutos secos, evitando a incidência de grãos ardidos e pretos, que são resultantes da permanência prolongada dos frutos na árvore. Evitar, ao máximo, a colheita de frutos verdes, efetuando a separação dos frutos em vários estágios de maturação com o auxílio de lavadores e separadores para a obtenção de uma matéria-prima mais homogênea (Teixeira, 1984). Quando o café possui grande proporção de frutos verdes, as perdas de rendimento final são grandes, e o tipo e a bebida são comprometidos.

Entre os principais entraves do cafeicultor no âmbito da pós-colheita, destaca-se o ajuste entre o volume colhido diariamente e a capacidade da unidade de processamento. A cadência nesse processo é imprescindível, apesar de características inerentes a essa atividade dificultarem a sua manutenção, devido às variações no volume colhido e à desuniformidade ao longo da safra, às condições climáticas, além do desconhecimento técnico para a manipulação do café-cereja. A imersão em água limpa por um período

de até cinco dias auxilia no processamento do café-cereja, não afetando a qualidade final do produto, determinando a viabilidade na utilização da imersão como técnica para armazenagem prévia dos frutos cerejas e bóia, sem prejuízo para o café (Silva et al., 2007).

A queda progressiva na qualidade da bebida com a adição de quantidades crescentes de defeitos em amostras de café foi relatada por diversos autores (Teixeira & Pimentel Gomes, 1970; Myia et al., 1973/1974; Prete et al., 1995; Pereira, 1997; Coelho, 2000). Para as condições brasileiras, é recomendável proceder à colheita com o menor percentual de frutos verdes possível, uma vez que, ao final, será grande a porcentagem de café-bóia e de varrição e, conseqüentemente, será grande também o risco para a qualidade média de toda a produção.

A maioria dos produtores não possui condições para executar uma colheita seletiva e a pesquisa ainda não disponibilizou materiais genéticos com maior uniformidade no florescimento e, conseqüentemente na maturação dos frutos. A obtenção da máxima qualidade está diretamente relacionada à quantidade de frutos maduros presentes no lote de café e à proporção dos defeitos preto, ardido e verde, entre outros. Segundo Pimenta (1995), vários autores ressaltaram que o café deve ser colhido em seu ponto ideal de maturação, pois quando colhido verde ou seco na planta, pode ocasionar incidência de grãos verdes, ardidos e pretos, resultando nos piores defeitos para a qualidade do café.

O método de processamento interfere na qualidade da bebida, revelando que cafés de qualidade inferior, quando preparados pelo processo natural, podem fornecer excelentes bebidas se forem preparados adequadamente. Geralmente, os cafés naturais apresentam maior corpo e os cafés despulpados, acidez mais desejável. É bem aceito que os cafés obtidos por meio de diferentes processos apresentam características distintas na qualidade (Illy & Viani, 1995).

### **2.2.1 Processamento do café por via úmida**

Os cuidados exigidos nas fases de colheita e preparo como a época de colheita e a retirada dos frutos verdes do lote de frutos maduros, são fatores que contribuem diretamente para a obtenção de um bom produto. É no descascador que, se operado adequadamente, são separados os frutos cerejas maduros dos verdes (maturação incompleta) e a regulagem desse equipamento deve ser feita de tal modo que apenas as cascas do cereja maduro sejam removidas. Os verdes, se necessário, podem ser submetidos a outros tratamentos, antes de uma secagem lenta, para tentar facilitar a remoção da casca e evitar escurecimento da película prateada. Secando-se separadamente os grãos cerejas maduros descascados dos verdes, a chance de obtenção de uma grande parcela de cafés de alta qualidade é praticamente certa (Silva et al., 2007).

O descascamento é uma opção economicamente viável para o produtor, dependendo da proporção de frutos cereja e do ágio obtido no momento da comercialização. Com o surgimento do processamento do café via úmida, o descascamento do café cereja estabeleceu-se como uma forma de melhorar o padrão de qualidade. Com a remoção da casca e parte da polpa, a secagem do café-cereja descascado em terreiro pode reduzir o risco de ocorrência de fermentações indesejáveis, quando comparada ao café natural, permitindo a obtenção de grãos de alta qualidade, sem que as condições climáticas desfavoráveis venham a prejudicar o produto.

Entre os produtores brasileiros, observa-se uma opção crescente pelo descascamento do café, especialmente em razão do favorecimento da qualidade pela retirada dos frutos verdes do lote dos frutos maduros, a redução da área de terreiro, o menor tempo de secagem, a menor chance de ocorrer fermentações que depreciam a qualidade e a redução do consumo de energia (Begazo, 1979, Reinato et al., 2003; Borém, 2004). Por isso, outro fator positivo do processo por via úmida consiste em obter cafés de melhor qualidade, mantendo características de corpo, doçura e aroma (Bicudo, 1962; Borém, 2004; Brando, 1999; Silva, 2004; Vilela, 2002). Se por um lado, a

operação de descascamento resulta na formação de lotes melhores e mais uniformes de café descascado, por outro lado, resulta na formação de lotes de café com frutos verdes.

### **2.2.2 Processamento dos frutos verdes imaturos**

No Brasil, a presença do defeito verde nos lotes comerciais de café é, quantitativamente, um dos principais problemas para a oferta de cafés de melhor qualidade, tendo em vista a predominância da derriça completa na colheita e no processamento por via seca. Puerta-Quintero (2000), avaliando a influência dos grãos verdes na qualidade sensorial do café despulpado por fermentação natural ou desmucilamento mecânico, demonstrou que a presença de frutos verdes a partir de 2,5%, no momento da colheita, foi suficiente para desclassificar 30% das xícaras, na análise sensorial, em decorrência de sabores desagradáveis.

O café colhido no estágio de maturação verde apresenta aspecto de pior qualidade, quando comparado aos frutos colhidos maduros. Até o momento, a tecnologia mais viável para a remoção dos frutos verdes é o descascamento dos frutos maduros (Teixeira, 1984). No entanto, após essa operação, o lote formado predominantemente por frutos verdes possui baixo potencial para se produzir cafés com boa qualidade, colocando, muitas vezes em questionamento, a viabilidade do descascamento. No entanto, essa viabilidade econômica pode ser comprometida em razão da quantidade de frutos verdes e do deságio pago para os lotes formados somente com esse tipo de café (Borém, 2008).

A presença de grãos verdes proporciona, além da pior qualidade de bebida, menor peso e tamanho dos grãos. Nesse estágio, os grãos ainda não atingiram a maturidade fisiológica, dificultando a prática do despulpamento. É no descascador que, se operado adequadamente, são separados os grãos cerejas maduros dos verdes e a regulagem desse equipamento deve ser feita para ocasionar a remoção das cascas dos frutos cereja. Sabe-se que, no estágio maduro, o descascamento do fruto ocorre de maneira mais fácil, ao

contrário do café verde, em que a casca está fortemente aderida ao fruto, exigindo maior força para sua remoção (Silva, 2001).

Assim, os frutos verdes ou imaturos estão presentes no café do Brasil, independentemente da forma de processamento. O descascamento do café verde imaturo surge como uma forma de melhorar a qualidade do verde e, conseqüentemente, obter um maior valor agregado para esse café. Essa tecnologia de processamento necessita de pesquisas para que se possa caracterizar a qualidade do café obtido e seu impacto na viabilidade econômica do processamento via úmida. No entanto, a qualidade dos frutos verdes poderá ser melhorada, dependendo da forma de processamento e dos cuidados adotados durante a secagem (Borém et al., 2005).

O descascamento do café verde resulta em grãos com qualidade similar à obtida para o café cereja+verde, sendo, no entanto, significativamente inferior à qualidade do cereja descascado. Além de não permitir a fermentação e favorecer uma secagem mais uniforme, a amostra do café verde descascado apresenta poucos defeitos verdes, reduzindo, assim, significativamente, a porcentagem de PVA (preto, verde e ardido). Além da redução do número de defeitos, ocorrerá agregação de valor ao produto (Borém et al., 2005). A melhoria do processamento dos frutos verdes por via seca também é possível, sem, no entanto, resultar em lotes com a mesma qualidade do verde descascado, sendo, portanto, fundamental o desenvolvimento de tecnologia para esse caso, especialmente relacionada à secagem.

### **2.3 Secagem**

A secagem é uma etapa crítica na pós-colheita do café em relação aos atributos de qualidade desejável ao produto final. Portanto, é empregada como forma de assegurar a manutenção das características originais do produto, pois proporciona a redução da atividade biológica. Durante todas as etapas da pós-colheita, modificações na composição química e física dos grãos poderão ocorrer (cor, aspecto, defeitos, aroma e sabor da bebida),

prejudicando a qualidade do café, como consequência da diminuição do teor de água do produto (Silva, 2001).

O café necessita de cuidados especiais durante a secagem. Fatores externos, como temperatura, umidade e danos mecânicos, podem alterar a estrutura das membranas, fazendo com que percam a sua organização e a sua seletividade (Amorim et al., 1977). Além da temperatura, que tem efeito significativo sobre a qualidade do café, a secagem é influenciada por vários fatores, como a forma e o tempo em que é realizada, a umidade relativa e temperatura do ar ambiente, teor de água inicial e final do produto. Esses parâmetros não são independentes, influenciando todo o processo de secagem de maneira simultânea.

A secagem pode contribuir para o surgimento de defeitos e danos nos grãos de café, com o comprometimento da sua aparência e da qualidade final da bebida. A diminuição da qualidade do café está associada à elevação da acidez, devido principalmente ao número de defeitos dos grãos (Franca et al., 2004), bem como às fermentações que podem ocorrer durante o processo de secagem (Carvalho et al., 1994; Myia et al., 1973).

A escolha adequada do método, bem como as práticas durante a operação de secagem dos grãos de café, são essenciais para a obtenção de um produto de qualidade superior. Segundo Pereira (1997), verificou-se redução na qualidade do café com a adição dos grãos defeituosos pretos, verdes e ardidos, ressaltando que a qualidade encontra-se intimamente relacionada à composição química e que as alterações ocasionadas pela inclusão de grãos defeituosos poderão se refletir nas características sensoriais desses após a torração.

#### **2.4 Composição química dos grãos de café**

A composição química média do café arábica é de 13% de óleos, 60% de carboidratos, 8,2% de ácidos, 13% de proteínas e 1% de cafeína no café arábica (Urgent, 1995; Folstar, 1985 citado por Martin, 2000). De modo geral, o grão de café apresenta inúmeros componentes voláteis e não-voláteis,

tais como ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, trigonelina, compostos fenólicos, cafeína, bem como enzimas, que agem sobre esses constituintes (Clarke & Macrae, 1990; Menezes, 1994; Sivetz, 1963).

Os aminoácidos estão presentes em quantidades que variam entre 0,15% a 0,25% nos grãos de café e apresentam uma grande variedade na sua constituição, como a alanina, arginina, asparagina, aspartato, glutamina, cistina, ácido glutâmico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina e valina. Os açúcares, como a sacarose, glicose, frutose, arabinose, galactose, maltose e polissacarídeos, estão presentes. Adicionalmente, o café possui vitamina do complexo B, niacina, ou vitamina B3, e, em maior quantidade que todos os demais componentes, os ácidos clorogênicos, na proporção de 7% a 10% (Trugo, 2003).

Os componentes químicos do grão de café definem a qualidade da bebida tanto do ponto de vista sensorial quanto o da saúde do consumidor (Salva & Lima, 2007). A qualidade do café está associada ao sabor e aroma da bebida e ocorre devido à complexidade dos compostos presentes no café torrado (Franca et al., 2004).

Os grãos de café classificados como “defeito verde” são assim denominados por apresentarem a película prateada da semente de coloração verde brilhante. Quando esses grãos são examinados no microscópio, é visível que as paredes celulares são mais finas (baixo teor de celulose), o que denuncia o seu amadurecimento incompleto. Possuem, ainda, sabor metálico e adstringente, baixo teor de lipídeos e ácido oléico. (Illy & Viani, 1995).

Mazzafera (1998) comparou a composição química dos grãos de café cereja, dos grãos preto-verde e verde imaturo. Os resultados não diferiram em relação ao pH, o grão verde imaturo apresentou-se como o mais ácido. O principal carboidrato em todas as amostras foi a sacarose que, nos grãos cereja, apresentou-se em maior quantidade. Os açúcares redutores apresentaram em altas concentrações nos grãos imaturos e cerejas. A

quantidade de proteína aumentava a partir dos grãos preto-verdes para os verdes, seguindo para o fruto cereja; entretanto, não havia nenhuma interação com o conteúdo de aminoácidos livres, que apresentavam em concentrações mais elevadas nos grãos imaturos.

#### **2.4.1 Importância do aminoácido asparagina nos grãos de café**

A asparagina foi o primeiro aminoácido a ser isolado de plantas, 200 anos atrás (Vauquelin & Robiquet, 1806), depois que cristais característicos foram observados em soluções concentradas na seiva de aspargos por Delaville (1802). A asparagina é um aminoácido que, na sua forma amídica, tem uma massa molecular de 132.12 e um ponto isoelétrico de 5.41. Embora solúvel em ácidos e álcalis, asparagina só é moderadamente solúvel em água e forma cristais de monohidratados brancos. Além disso, a asparagina tem uma relação de N:C de 2:4, que a torna uma molécula eficiente para o armazenamento e transporte de nitrogênio em organismos vivos, particularmente em leguminosas.

Em análises qualitativas, Mazzafera (1998) constatou que a asparagina é o principal aminoácido presente nos grãos imaturos. Os aminoácidos livres apresentam-se em maiores quantidades nos grãos de café imaturos, em comparação com os frutos cerejas.

No café, os carboidratos e os aminoácidos são os principais constituintes que contribuem para a formação do sabor e do aroma típico durante a torração. A importância na alteração de aminoácidos e peptídeos está no fato de eles participarem na formação de compostos voláteis responsáveis pelo sabor e aroma do café. Entre os aminoácidos presentes no grão cru, a asparagina é o principal precursor da acrilamida, substância potencialmente cancerígena, e os teores desse aminoácido no grão de café tornam-se relevantes, pois sua concentração apresenta-se ainda maior nos frutos verdes imaturos.

A asparagina atua como um substrato para algumas reações enzimáticas na forma solúvel e apresenta uma pequena contribuição durante

as alterações fisiológicas da planta, estabelecendo uma combinação ideal para o acúmulo de compostos em situações adversas (Jia et al., 2001). Há evidência de que a asparagina solúvel é acumulada em todos os tecidos da planta durante os períodos de baixas taxas de síntese de proteína e uma provisão abundante de nitrogênio. O acúmulo de asparagina ocorre principalmente durante os processos fisiológicos normais, como a germinação de sementes e no transporte de nitrogênio (Lea et al., 2006).

A mudança no conteúdo de asparagina parece ser um bom indicador de alterações no metabolismo de nitrogênio de plantas induzidas pela aplicação de agrotóxicos e de outros fatores ambientais. Ainda não se conhecem as possíveis conseqüências da supressão de genes que determinam a formação das enzimas envolvidas na biossíntese da asparagina (Jia et al., 2001). Entretanto, o aumento no conteúdo desse aminoácido pode ser causado por estresse induzido, deficiências minerais, seca, metais tóxicos e ataque de patógenos (Lea et al., 2006).

O café robusta apresenta maiores quantidades de aminoácidos do que o arábica, sendo a concentração de asparagina significativamente maior nos grãos robusta (Murkovic, 2006). Os aminoácidos que apresentam menores concentrações nos grãos de café são glutamina, histidina, prolina, tirosina, metionina e lisina. As concentrações de aspartato, ácido glutâmico, serina e glutamina são comparáveis em ambos os tipos de café verde. O único aminoácido que apresenta em maior concentração no café arábica é a prolina (Murkovic, 2006).

Durante a torração do café, açúcares e compostos nitrogenados (proteínas, peptídeos e aminoácidos) reagem formando pirazinas, importantes para o desenvolvimento do aroma. Entretanto, outros compostos também poderão ser formados nessa fase, inclusive substâncias nocivas à saúde, como a acrilamida. Diversos autores têm demonstrado que o principal caminho para a formação de acrilamida em alimentos envolve a reação de Maillard entre aminoácidos e açúcares redutores (Mottram et al. 2002; Stadler et al.,

2002; Becalski et al., 2003; Yaylayan et al., 2003; Zyzak et al., 2003; Robert et al., 2004, Stadler et al., 2004).

É importante ressaltar que, embora muitos órgãos de regulamentação de alimentos concordem com a identificação qualitativa da acrilamida como um perigo carcinogênico, a FAO e a OMS consideram que modelos teóricos que calculam um risco quantitativo ao homem não são suficientemente seguros para se tirar conclusões, principalmente na ausência de resultados epidemiológicos positivos (Rice, 2005).

No âmbito do CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants), foi recomendada a elaboração de um Código de Práticas para a redução de acrilamida em alimentos, visando à proteção do consumidor pela diminuição da ingestão de acrilamida por meio da dieta. Esse código deverá apresentar os principais aspectos da produção comercial de alimentos, incluindo práticas agrícolas, estocagem, matérias-primas, processamento e preparação de alimentos e métodos potenciais para a redução de acrilamida nas áreas de agronomia, composição de produtos, condições de processamento e preparação final (CCFAC, 2006).

Na ausência de níveis de ingestão toleráveis para a acrilamida, o JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) relatou a contribuição relativa dos alimentos à ingestão total. Os produtos que mais contribuíram para a exposição na maioria dos países avaliados foram batatas fritas (16-30%), batatas chips (6-46%), café (13-39%), produtos de panificação e bolachas (10-20%), e pães e torradas (10-30%). Outros alimentos contribuíam menos que 10% da exposição total à acrilamida (FAO, 2005). A presença da acrilamida em alimentos pode representar riscos à saúde humana, incluindo o consumo de café. O potencial toxicológico da acrilamida em alimentos está relacionado não somente à presença de seus precursores, asparagina e açúcares redutores, mas também com às concentrações desses compostos na matéria-prima, que podem variar significativamente entre diferentes espécies e práticas de cultivo e processamento.

Nos primeiros estudos que abordaram misturas de aminoácidos e açúcares redutores submetidos a altas temperaturas, verificou-se que a presença de asparagina aumentava significativamente o nível de acrilamida formada, principalmente acima de 120° C. O aminoácido asparagina foi identificado como o principal precursor da acrilamida e, além disso, foi confirmado em experimentos, com <sup>15</sup>N e <sup>13</sup>C marcados, que átomos de carbono e nitrogênio da molécula de acrilamida eram provenientes dos locais correspondentes da molécula de asparagina (Mottram et al. 2002, Stadler et al., 2002; Becalski et al., 2003). A formação de acrilamida a partir de asparagina poderia explicar as altas concentrações encontradas em batatas e cereais, que são ricos desse aminoácido (Mottram et al., 2002).

Na presença de asparagina, alguns autores verificaram que a frutose foi mais eficiente que a glicose na formação de acrilamida. Embora aldoses sejam mais reativas que cetoses, a eficiência da frutose na reação poderia estar relacionada à liberação de água de cristalização e aumento da mobilidade molecular dos precursores, já que o ponto de fusão da frutose é inferior ao da glicose (Robert et al., 2004; Stadler et al., 2004).

Alguns autores sugeriram o aldeído de Strecker como composto intermediário, que necessitaria de etapas posteriores de redução e desidratação para ser convertido em acrilamida (Mottram et al. 2002). Outros autores demonstraram que o N-glicosídeo de asparagina ou base de Schiff, produto da reação inicial entre glicose e asparagina, foi o precursor direto de acrilamida (Stadler et al., 2002). A reação de formação da acrilamida a partir da asparagina e açúcar redutor é apresentada na Figura 1.

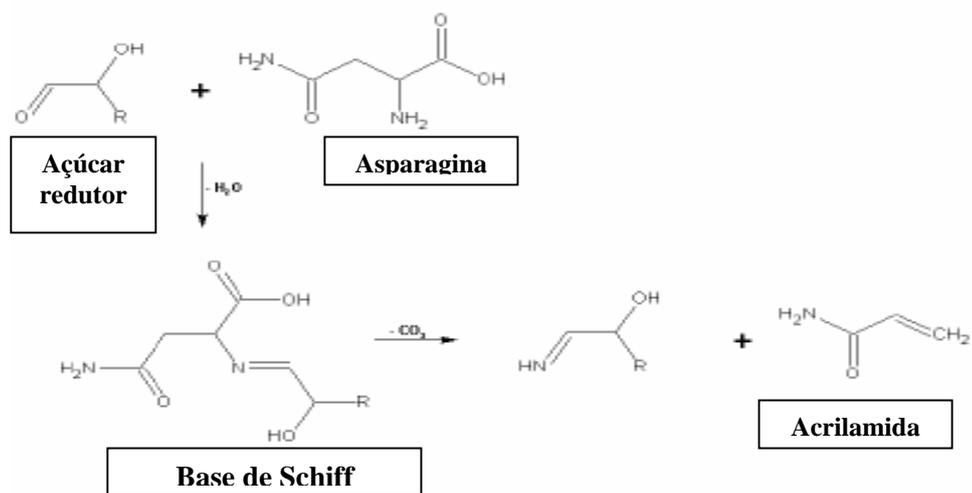


FIGURA 1 Representação esquemática da formação de acrilamida a partir da asparagina e do açúcar redutor.

#### **2.4.2 Modificações na composição química do grão de café**

Estudos sobre as alterações na composição química do café decorrente do processamento e da secagem ainda são escassos na literatura. Em pesquisas recentes, (Bytof et al., 2005) têm-se verificado variações no conteúdo de glicose e frutose, bem como de aminoácidos livres nos grãos crus de café, dependendo da forma de processamento. A constituição química do grão de café poderá ser modificada durante o processamento e a secagem do café, devido às transformações físicas, químicas, bioquímicas e fisiológicas que podem ocorrer (Mazzarefa & Purcino, 2004). Essas alterações modificam a composição original do grão de café verde e, em consequência, as propriedades sensoriais da bebida (Malta et al., 2005).

As reações bioquímicas que ocorrem na pós-colheita dos grãos de café interferem significativamente na qualidade e na quantidade de aminoácidos livres (Selmar et al., 2002; Bytof, 2003). O conteúdo total de proteína e de aminoácidos livres é notadamente maior em cafés processados via seca do que no processamento dos grãos via úmida (Selmar et al., 2002). Essas diferenças, segundo Bytof (2003), ocorrem principalmente devido a uma maior quantidade de ácido glutâmico na constituição dos grãos de café processados via seca, em comparação aos grãos processados via úmida. O metabolismo dos frutos e das sementes do café torna-se mais ativo quando esses são processados pela via úmida (Bytof et al., 2005).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local da realização do experimento**

O trabalho foi desenvolvido no Departamento de Ciência dos Alimentos, no Pólo de Tecnologia em Pós-Colheita do Café, no Centro de Prospecção Química da Universidade Federal de Lavras (Lavras/MG), e no Laboratório de Fontes Proteicas da Universidade Estadual de Campinas (Campinas/SP).

#### **3.2 Obtenção da matéria prima e delineamento experimental**

Frutos do cafeeiro (*Coffea arabica L.*) da variedade Topázio, cultivados no câmpus da UFLA, safra 2006/2007, foram colhidos sobre pano. Após a limpeza e separação hidráulica, a porção formada pelos frutos cereja e verde foi descascada sem o contrapeso que regula a pressão de descascamento, permitindo a saída de, no máximo, 10% de frutos maduros, juntamente com os frutos verdes.

A mistura de café verde não descascado, com um porcentual de máximo 10% de cereja, constituiu-se na testemunha do experimento. Parte dessa mistura de frutos foi descascada em seguida com o contrapeso, regulando a pressão de acordo com Borém et al. (2005), resultando em uma parcela de café verde descascado e outra parcela de café verde não descascado. Outra parte da mistura formada por café verde, proveniente do descascamento, foi deixada em repouso em duas caixas de 1.000 litros, uma contendo água e a outra sem água por um período de 12 horas. Após esse período, os frutos foram descascados com o contrapeso, regulando-se a pressão de acordo com Borém et al. (2005), resultando em uma parcela de café verde descascado e outra parcela de café verde não descascado (Figura 2).

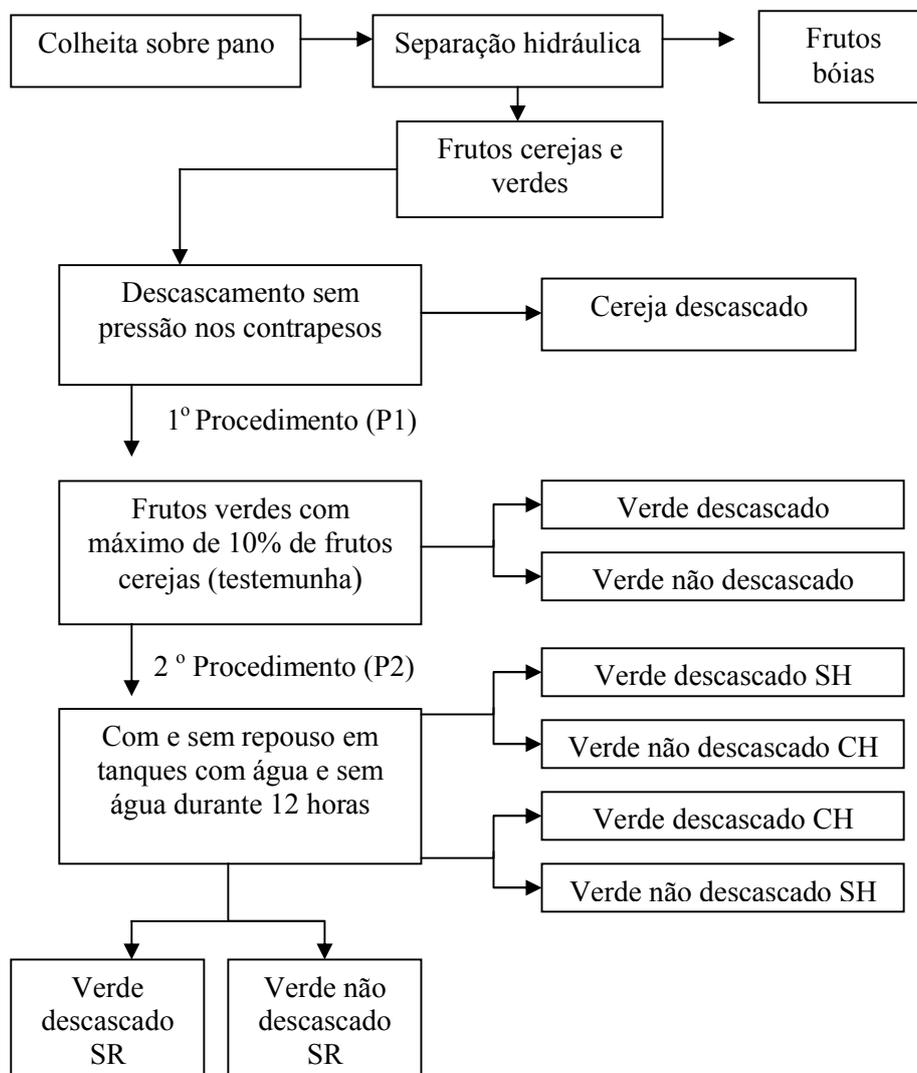


FIGURA 2 Representação esquemática da obtenção da matéria-prima e das amostras estudadas no presente trabalho. SR (sem repouso), CH (com repouso e com água), SH (com repouso e sem água).

Estudou-se neste trabalho a interferência do descascamento dos frutos verdes e sua interação com a imersão ou não em água por 12 horas (Borém et al., 2005; Silva et al., 2007). O delineamento usado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 [2 tipos de processamento (via seca e via úmida) e 3 procedimentos (sem repouso; com repouso por 12 horas dos frutos imersos em água, com repouso por 12 horas dos frutos amontoados sem água)]. Foram realizadas quatro repetições.

A secagem da testemunha e das demais parcelas experimentais foi realizada em terreiros de concreto em camadas finas com revolvimento durante o dia, até o café atingir 11% (b.u.) de teor de água.

### **3.3 Preparação das amostras de café**

Para a extração de aminoácidos, as amostras de café verde imaturo foram beneficiadas em um descascador marca Pinhalense, onde foram eliminadas as cascas e pedras. As amostras foram homogeneizadas e, em seguida, foi realizado um quarteamento para a obtenção de amostras representativas, sendo essas identificadas e armazenadas em uma câmara fria. As amostras foram processadas em um moinho analítico com refrigeração durante 2 minutos para a obtenção de uma granulometria bem fina. Foi realizada uma segunda moagem em um moinho tipo bola, utilizando nitrogênio líquido durante 1 minuto e, logo após, as amostras foram congeladas.

### **3.4 Metodologia de análise**

Para a determinação do perfil de aminoácidos, foi utilizada a metodologia proposta por White et al. (1986). Os aminoácidos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), empregando-se uma coluna LUNA C18 100Å 5μ 250x 4,6mm 00G-4252-EQ em fase reversa e a detecção feita por ultravioleta (UV) no comprimento de onda de 254 nm. A quantificação foi realizada por calibração interna multinível, com auxílio do ácido  $\alpha$ -aminobutírico (AAAB) como o padrão interno.

No sistema de secagem, houve uma modificação em que os tubos tiveram o diâmetro interno aumentado de 6 para 8 mm, permitindo uma redução no tempo de derivatização.

### **3.4.1 Preparação da fase móvel**

#### **3.4.1.1 Eluente A**

Foram pesados 4,92 g de acetato de sódio trihidratado a 99.9-100% e transferido para um balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume. A solução foi filtrada em 0,22 µm e foi retirado do balão 60 mL da solução. Adicionaram-se no balão, 60 mL de acetonitrila a 99.7-100%, grau HPLC, e EDTA dissódico a 2 g/L. O pH da solução foi ajustado para 6,60 com ácido acético glacial. Desaerou por 3 minutos utilizando a agitação magnética e o vácuo.

#### **3.4.1.2 Eluente B**

Foram pesados 2,46 g de acetato de sódio trihidratado a 99.9-100% e transferido para um balão volumétrico de 500 mL, completando o volume. A solução foi filtrada em 0,22 µm e foram retirados do balão 400 mL transferindo para um balão volumétrico de 1000 mL. Foram adicionados ao balão, 600 mL de acetonitrila a 99.7-100%, grau HPLC e 200 µL de EDTA dissódico a 2 g/L. O pH da solução foi ajustado para 6,60, com ácido acético glacial. Desaerou utilizando a agitação magnética e o vácuo.

### **3.4.2 Preparação das soluções padrões**

#### **3.4.2.1 Solução Padrão A**

Padrão Pierce H, com todos os componentes na concentração de 2,5  $\mu\text{M/ml}$ , exceto a cistina, que possui 1,25  $\mu\text{ml}$ , em HCl 0,1M.

Padrão Aa – para asparagina, glutamina, hidroxiprolina, triptofano, em que foram preparadas as soluções na concentração de 2,5  $\mu\text{M/ml}$  com os padrões adquiridos da SIGMA/ALDRICH.

#### **3.4.2.2 Solução padrão B1, B2 e C**

Foram pesados 0,65 g de ácido  $\alpha$ -aminobutírico (AAAB) a 99-100% e transferidos para um balão volumétrico de 1.000 mL completando-se o volume com ácido clorídrico 0,1M. Foram dissolvidos no ultra-som durante 5 minutos e homogeneizados e estocados a uma temperatura inferior a 10°C, obtendo-se o padrão B1.

Uma alíquota de 25 mL foi medida da solução padrão B1 em temperatura ambiente e foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL. Essa alíquota foi diluída com ácido clorídrico 0,1M e a solução foram homogeneizadas, obtendo-se a solução padrão B2.

Em balões volumétricos de 5mL, pesaram-se quantidades dos padrões A e Aa nas concentrações de 0,0625, 0,3125, 1,5625 g. Em seguida, foram adicionadas alíquotas de 1ml do padrão B2, em cada balão e diluiu-se com HCl 0,1M, obtendo-se o padrão C.

### **3.4.3 Hidrólise do material**

Em amostras de café em que a quantificação dos aminoácidos livres é requerida, essas são desproteinizadas com metanol 99% a uma proporção de 2 partes de metanol para 1 parte de amostra dissolvida em HCl 0,1M (v/v) e centrifugada a 13.000 rpm. Após a hidrólise ácida, foram aplicados o vácuo e um banho de ultra-som simultaneamente por 6 minutos. Em seguida, o conteúdo foi homogeneizado em um vortex durante 30 segundos e o tubo transferido para um módulo de reação térmica. A temperatura foi aumentada

de ambiente até 110°C e permaneceu nessa temperatura por 24 horas, e depois retornou a temperatura ambiente.

Foi colocado 10 mL do padrão (AAAB) dentro do tubo de hidrólise., onde continha a amostra. O tubo foi fechado e o conteúdo homogeneizado em um vortex durante 10 segundos. Transferiu quantitativamente a mistura para um balão volumétrico de 100 mL. Dessa solução, foram recolhidos cerca de 5 mL em uma seringa de plástico acoplada a um filtro millipore de 0.22 µm. As primeiras 5 gotas foram descartadas e o restante do filtrado foi transferido para um béquer de 5 mL, para proceder à derivatização.

#### **3.4.4 Preparação da derivatização dos padrões e amostras**

Foram medidos 40 µL para cada nível dos padrões e das amostras e transferidos para os tubos de vidro de 8x50 mm. A solução foi secada na estação de vácuo até 70 militorr, sendo o tubo removido do vial de secagem, adicionando-se aproximadamente 20 µL da solução de re-secagem (acetato de sódio trihidratado 0.2 N, metanol a 99.7-100%, trietilamina a 99-100%) e homogeneizando por 30 segundos.

A solução foi novamente seca, e após o processo de secagem, foi removido o tubo do vial de secagem, adicionando-se aproximadamente 20 µL da solução derivatizante com PITC (fenilisotilcianato). O procedimento de agitação no vortex foi repetido, e logo após, foi deixado em repouso por 20 minutos. Após o repouso, procedeu novamente à secagem.

Foram medidos 5 µL do diluente (hidrogeno fosfato de sódio) e transferidos para o tubo contendo a solução seca e derivatizada. Os tubos foram vedados com três camadas de teflon e colocados no ultrassom por 10 minutos. O conteúdo foi homogeneizado em um vortex por 15 segundos e transferido para um ependorfe de 0,5 ml e centrifugado por 2 minutos a 13.000 rpm e transferido para o vial de injeção. As soluções padrões derivatizadas foram injetadas no cromatógrafo previamente condicionado. A temperatura na coluna deve estar em 50°C.

### **3.4.5 Determinação dos aminoácidos livres**

Foram pesadas 0,5 g da amostra de café e colocadas em um balão volumétrico de 10 mL, adicionando 1 mL do padrão para a amostra completando com uma solução 80% v/v de metanol/HCl 0,1M. Adicionaram-se 250 µL de metanol 99% e agitou-se em vortex por 10 segundos.

Com as amostras devidamente dissolvidas e diluídas, centrifugou-se a 13.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi filtrado em membrana de 0,22 µm, sendo retirada uma alíquota de 40 µL e transferida para um tubo de vidro de 8x50 mm, para proceder à derivatização, conforme descrito anteriormente.

As amostras foram colocadas no vial de injeção e injetadas no cromatógrafo previamente condicionado. A temperatura na coluna deve estar em 50°C e o fluxo das soluções para a bomba pode ser analisada na Tabela 1.

TABELA 1 Gradiente de eluição das soluções A e B para o fluxo da bomba

Fluxo da bomba = 1,00 mL/min. - Gradiente de eluição		
<b>Tempo</b>	<b>%A</b>	<b>%B</b>
0,00	100,00	0,00
5,00	95,00	5,00
10,00	77,50	22,50
11,80	68,00	32,00
20,00	40,00	60,00
23,00	0,00	100,00
28,00	0,00	100,00
28,10	100,00	0,00
36,00	100,00	0,00

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização do ambiente de secagem

Durante o processo de secagem no terreiro, modificações na constituição dos grãos podem ocorrer em resposta à ação de vários fatores, como a temperatura, tempo de exposição, variações do clima e a variedade, contribuindo para determinar a qualidade final do café. Nesse sentido, a secagem dos frutos imaturos, realizada nesse trabalho, foi conduzida em condições adequadas de temperatura e umidade relativa (Figura 3); e durante esse período, não houve variações climáticas que pudessem interferir negativamente na qualidade do café, obtendo-se grãos de café de aspecto uniforme.

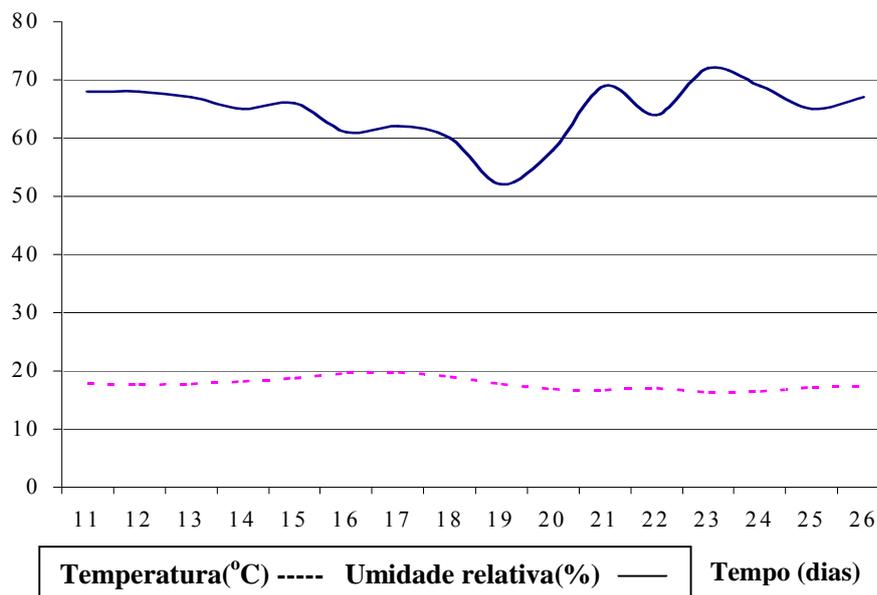


FIGURA 3 Dados meteorológicos referentes ao período de 11 a 26 de junho de 2007.

#### **4.2 Perfil dos aminoácidos presentes no grão imaturo**

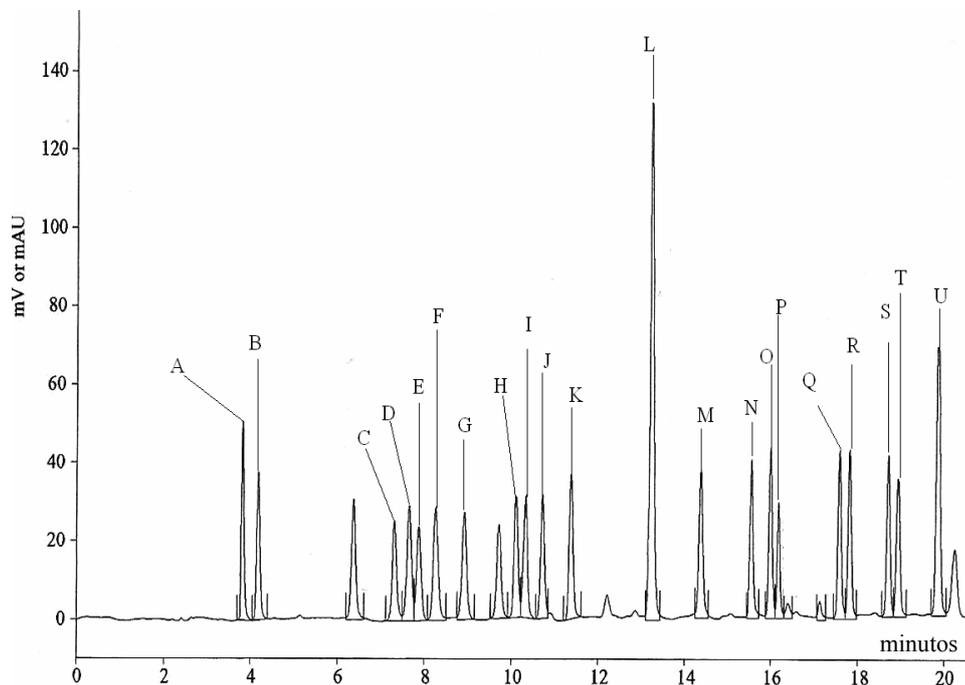
Entre os compostos presentes nos grãos crus do café, os aminoácidos estão presentes em pequenas quantidades, que variam entre 0,15% a 0,25%, formando o grupo de substâncias individuais mais importantes para a formação do sabor e do aroma característico no café torrado.

O aminograma-padrão (Figura 4) para as amostras de grãos crus dos frutos imaturos do cafeeiro processados por via úmida e via seca é apresentado em comparação com o aminograma característico (Figura 5). Nas amostras estudadas, foram analisados os seguintes aminoácidos: alanina (ALA), aspartato (ASP), asparagina (ASN), arginina (ARG), glicina (GLI), glutamina (GLN), glutamato (GLU), serina (SER), tirosina (TIR), treonina (TRE), histidina (HIS), fenilalanina (FEN), isoleucina (ILEU), leucina (LEU), lisina (LIS), valina (VAL), prolina (PRO), cistina (CIS), triptofano (TRP), apresentados na Figura 6.

Mazzafera (1998) verificou um alto conteúdo de aminoácidos nos grãos verdes imaturos, comparando-os com os grãos de café maduros e pretos verdes. O maior conteúdo de aminoácidos que apresentava nas amostras dos grãos verdes poderia ser explicado pela variação observada principalmente para asparagina, serina, arginina, metionina e fenilalanina.

A maior quantidade de aminoácidos ocorreu nos grãos crus dos frutos imaturos processados por via seca, correspondendo 24% a mais do que no processamento via úmida, e os aminoácidos que contribuíram principalmente para esse aumento foram a asparagina, o glutamato, arginina e tirosina.

Os aminoácidos que apresentam a menor concentração nos grãos de café arábica são a glutamina, histidina, prolina, tirosina, metionina e lisina (Murkovic, 2006). No perfil de aminoácidos dos frutos verdes imaturos, foram verificadas as menores quantidades dos aminoácidos lisina, treonina, leucina, valina, isoleucina, histidina e glutamina, glicina.



A - ASP = 3,809	F - GLI = 8,258	K - PRO = 11,376	Q-ILEU = 17,581
B - GLU = 4,174	G - HIS = 8,920	L-AAAB = 13,233	R - LEU = 17,815
C - ASN = 7,308	H - ARG = 10,111	M - TIR = 14,370	S - FEN = 18,706
D - SER = 7,649	I - TRE = 10,324	N-VAL = 15,544	T - TRP = 18,951
E - GLN = 7,870	J - ALA = 10,720	P-CIS = 16,173	U - LIS = 19,848

Tipo - Calibração

Fluxo = 1 mL/ minuto

Temperatura = 50°C

Fase móvel = acetonitrila

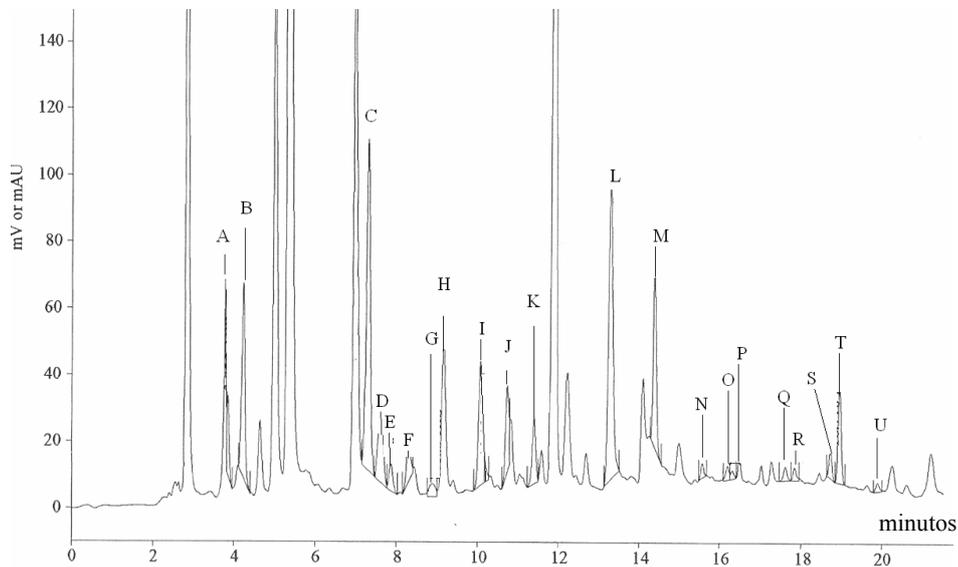
Fase estacionária = C18

Coluna = LUNA 100Å 5µ 250x 4,6mm 00G-4252-EQ

Pressão coluna = 849 PSI

STD N2, INJ1, UV2000 a 254 nm

FIGURA 4 Aminograma-padrão dos aminoácidos analisados



A - ASP = 3,835	F - GLI = 8,292	K - PRO = 11,397	Q-ILEU = 17,599
B - GLU = 4,212	G - HIS = 8,885	L-AAAB = 13,264	R - LEU = 17,833
C - ASN = 7283	H - ARG = 10,071	M - TIR = 14,369	S - FEN = 18,706
D - SER = 7,624	I - TRE = 10,184	N-VAL = 15,563	T - TRP = 18,951
E - GLN = 7,860	J - ALA = 10,704	P-CIS = 16,182	U - LIS = 19,848

Tipo - Amostra 16  
 Fluxo = 1 mL/ minuto  
 Temperatura = 50°C  
 Fase móvel = acetonitrila  
 Fase estacionária = C18  
 Coluna = LUNA 100Å 5µ 250x 4,6mm 00G-4252-EQ  
 Pressão coluna = 849 PSI  
 ATT 0141-5, INJ1, UV2000 a 254 nm

FIGURA 5 Aminograma característico dos aminoácidos analisados

Na determinação do perfil dos aminoácidos para os diferentes tipos e formas dos processamentos realizados nos frutos verdes imaturo do cafeeiro, verificou-se que os aminoácidos arginina e a treonina apresentaram as maiores quantidades quando os grãos foram processados por via seca, comparando com as médias do processamento via úmida; e a asparagina, glutamina, triptofano, valina, isoleucina e histidina apresentaram variações significativas para o mesmo procedimento. Os aminoácidos aspartato, glutamato e fenilalanina variaram em função do tipo de processamento, ocorrendo maiores teores no café descascado.

Durante a interação entre a primeira e segunda etapa dos procedimentos realizados, determinou-se que apenas as concentrações dos aminoácidos glutamina e histidina foram aumentadas nas médias (GLN = 0,0077 g/100g) e (HIS = 0,0050 g/100g) em comparação com as médias da testemunha (GLN = 0,0056 g/100g) e (HIS = 0,0046 g/100g).

Os níveis do aminoácido valina foram modificados em função dos procedimentos realizados (P1) e (P2), verificados na Figura 2. Foi realizado o teste de média Tukey (5%), para determinar qual o tratamento significativo para alteração na concentração de valina durante a segunda etapa do procedimento realizado. Observou-se que o tratamento repouso com água apresentou a menor quantidade do aminoácido valina (0,0026 g/100g), em comparação a testemunha (0,0033 g/100g).

De um modo geral, acredita-se que a variação observada no perfil de aminoácidos para os diferentes tipos e formas dos procedimentos realizados no processamento dos grãos crus do café imaturo ocorre principalmente em razão do estresse metabólico apresentado nos grãos durante o período da pós-colheita.

De acordo com Hanson & Hitz (1982), o ajuste metabólico nas plantas para um déficit hídrico pode ser observado em duas formas distintas: a primeira seria um desarranjo da condição estabilizada da planta, induzido por uma ação da tensão, em um ponto susceptível do metabolismo; na segunda forma, as alterações podem ocorrer em um senso adaptável,

envolvendo a regulação dos processos metabólicos, em que o período de sobrevivência é aumentado durante ou após a tensão osmótica.

Durante o ajuste no metabolismo do nitrogênio na planta, em decorrência do déficit hídrico, Stewart & Larher (1980) encontraram um maior acúmulo de aminoácidos. Na condição do estresse hídrico, ocorre um decréscimo na síntese de proteínas, que deverá refletir com o aumento dos níveis de aminoácidos livres. Uma vez que o déficit de água foi determinado, os níveis de aminoácidos livres em plantas de sorgo, por exemplo, foram aumentados de 32 para 39 mM sob tensão moderada e de 29 a 45 mM sob tensão severa (Jones et al., 1980). Os aminoácidos que contribuíram para esse aumento foram o aspartato, glutamato, prolina, alanina e valina. Esse aumento de aminoácidos livres poderá contribuir para a tolerância da planta durante o déficit hídrico, principalmente para a síntese de algumas enzimas específicas (Navarri-Izzo, 1990).

Observou-se, no presente trabalho, que as condições específicas de cada procedimento realizado na pós-colheita influenciaram diferentemente no metabolismo dos frutos do cafeeiro, resultando em alterações químicas e bioquímicas que determinaram as diferenças na composição química dos grãos de café. Essas diferenças na constituição dos grãos de café podem estar relacionadas, entre outros fatores, à indução ou inibição dos processos de germinação, dependendo da presença ou não da casca dos frutos, conforme relatado por Bytof (2003).

As diferenças verificadas nos níveis dos aminoácidos presentes nos frutos imaturos do cafeeiro para os procedimentos realizados durante o processamento do café são apresentadas a seguir.

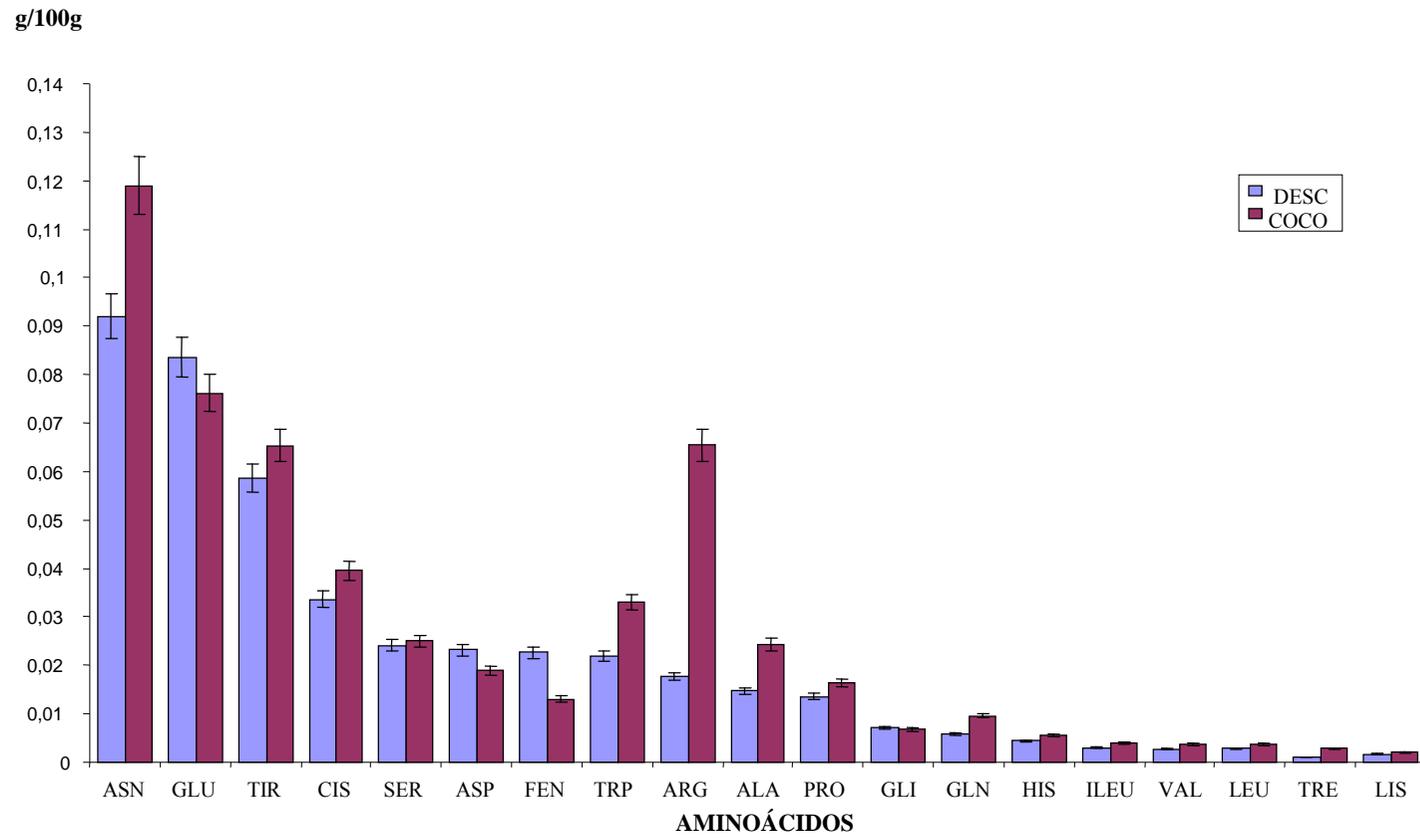


FIGURA 6 Perfil de aminoácidos nos frutos imaturos do cafeeiro processados por via seca (coco) e via úmida (descascado).

### 4.3 Determinação dos níveis de asparagina nos grãos imaturos de café

Observa-se que os valores médios da asparagina variaram significativamente ( $P < 0,05$ ) para o primeiro procedimento (P1), ou seja, para o descascamento do café. A concentração de asparagina nos grãos imaturos de café durante o processamento via seca e via úmida são apresentados na Figura 7.

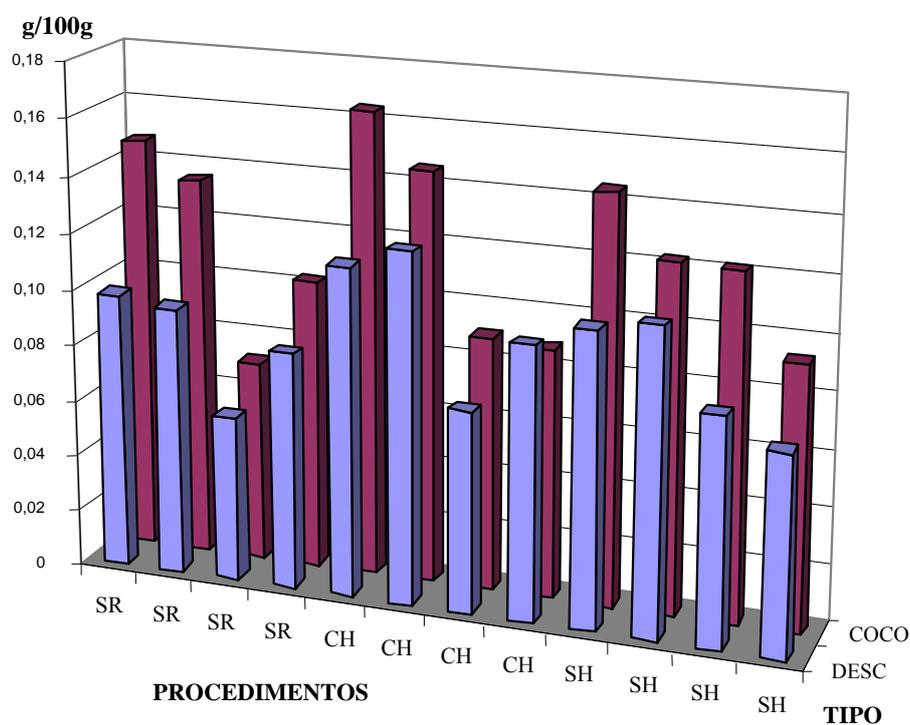


FIGURA 7 Níveis de asparagina nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

O processamento dos frutos imaturos de café por via úmida contribuiu para a diminuição dos níveis de asparagina nos grãos imaturos de café.

#### 4.4 Níveis dos aminoácidos nos grãos processados por via seca e via úmida

Verificam-se a seguir os aminoácidos que apresentaram níveis significativos para os procedimentos realizados.

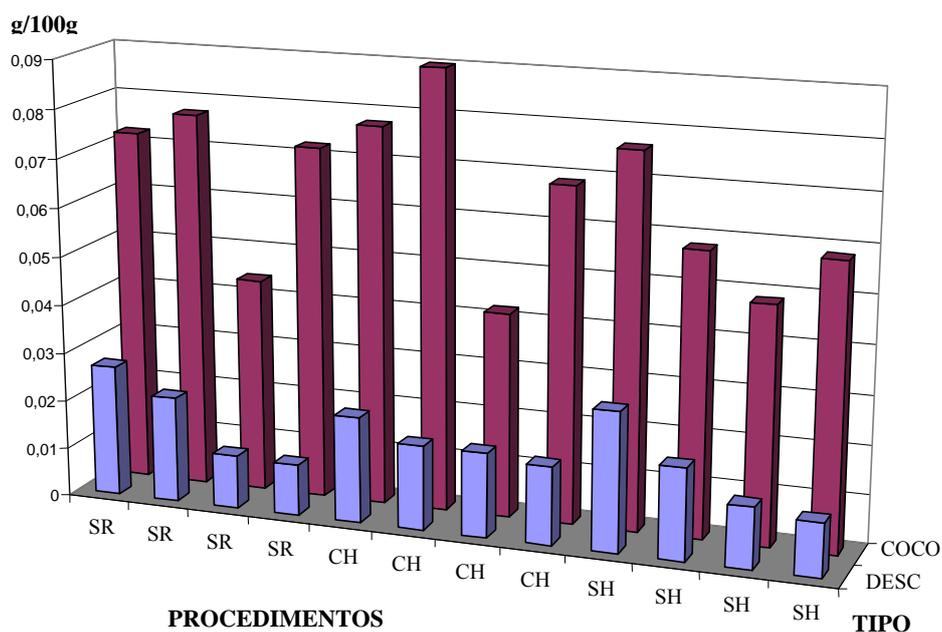


FIGURA 8 Níveis de arginina nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

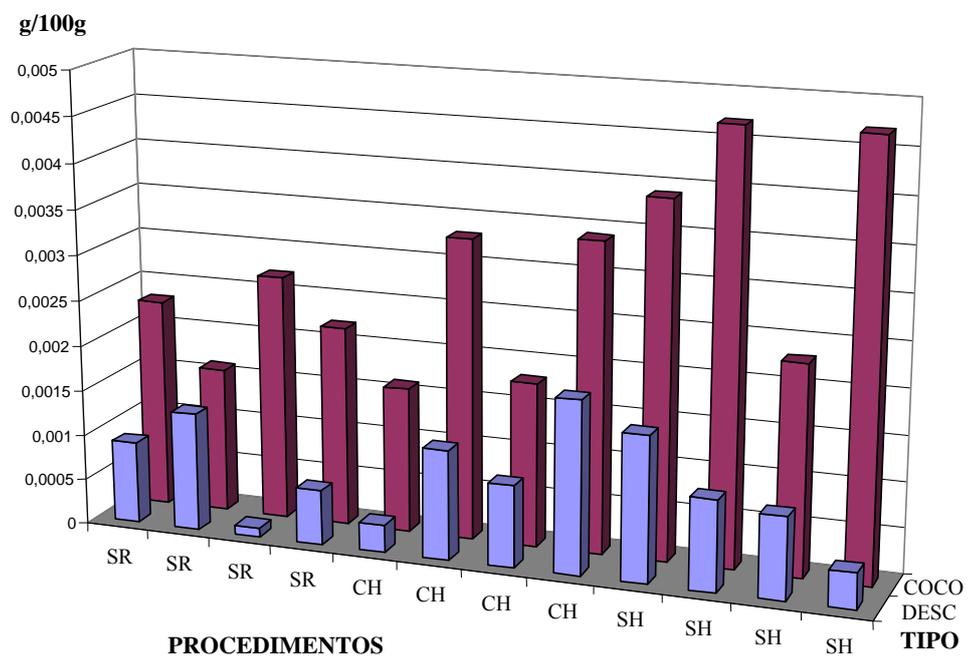


FIGURA 9 Níveis de treonina nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

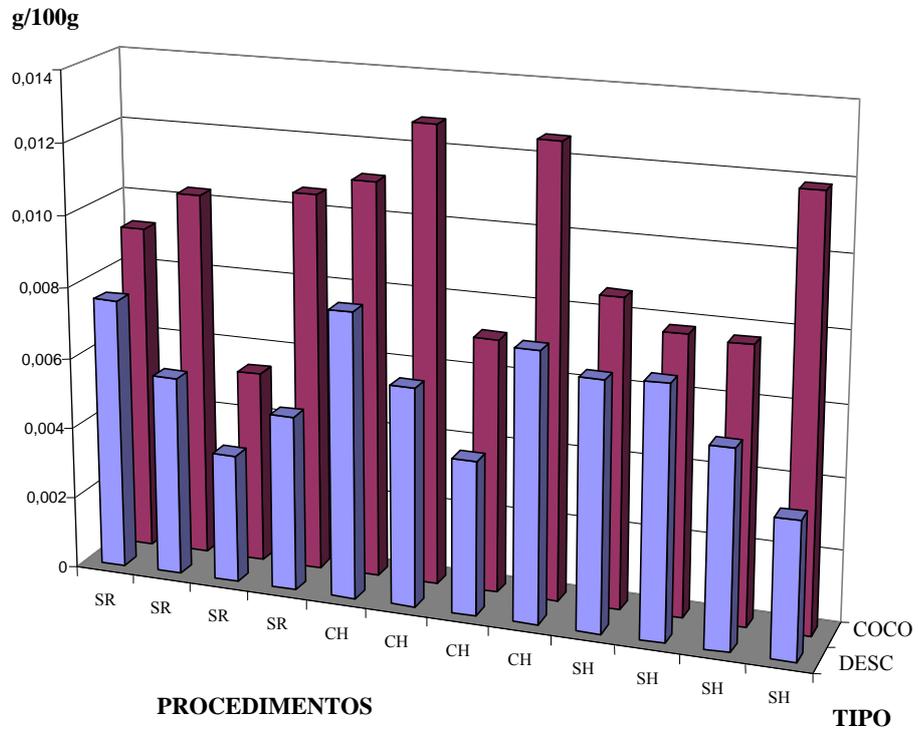


FIGURA 10 Níveis de glutamina nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

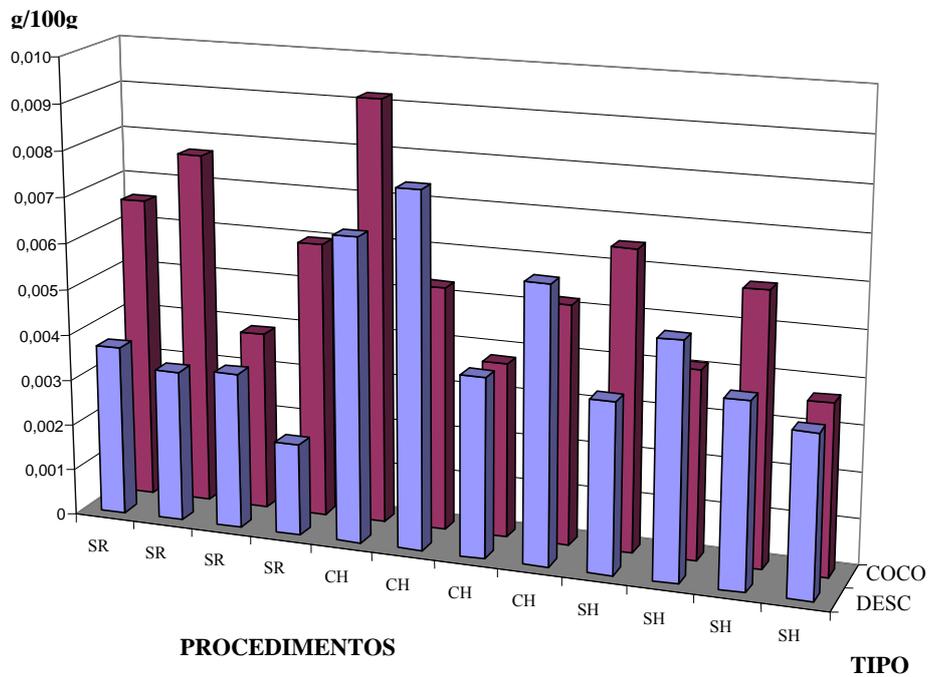


FIGURA 11 Níveis de histidina nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

Com a interação da primeira e da segunda etapa dos procedimentos realizados durante o processamento do café, verificou-se que as concentrações dos aminoácidos glutamina e histidina aumentaram nas médias durante os processamentos (P1 e P2), em comparação com as médias da testemunha (Tabela 22A).

Os níveis do aminoácido valina foram modificados em função do procedimento realizado (P1) e do procedimento (P2) verificados na Figura 1. Foi realizado o teste de média Tukey (5%), para determinar qual tratamento foi significativo para a alteração da concentração de valina durante a segunda etapa no processamento dos grãos de café.

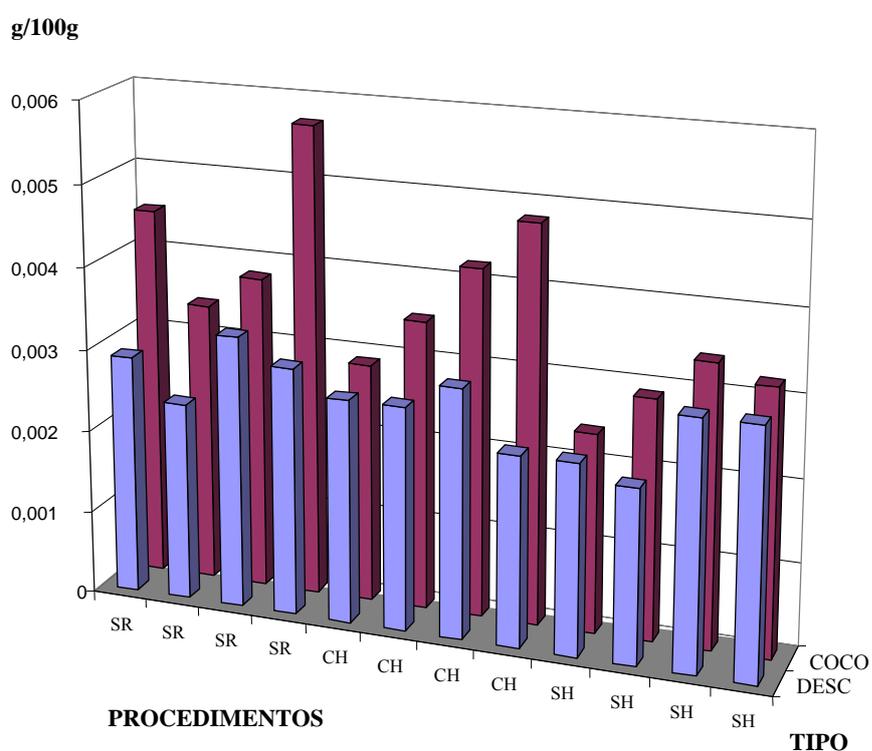


FIGURA 12 Níveis de valina nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

TABELA 2 Resultado do teste de média Tukey (5%) para o aminoácido valina nos diferentes tratamentos utilizados durante o segundo procedimento realizado no processamento do café

Tratamentos	Médias
Repouso com água	0,0027 a1
Repouso sem água	0,0032 a1 a2
Testemunha	0,0036 a2

Observou-se que o tratamento (repouso com água) durante a segunda etapa do procedimento realizado apresentou a menor quantidade do aminoácido valina em comparação com a testemunha.

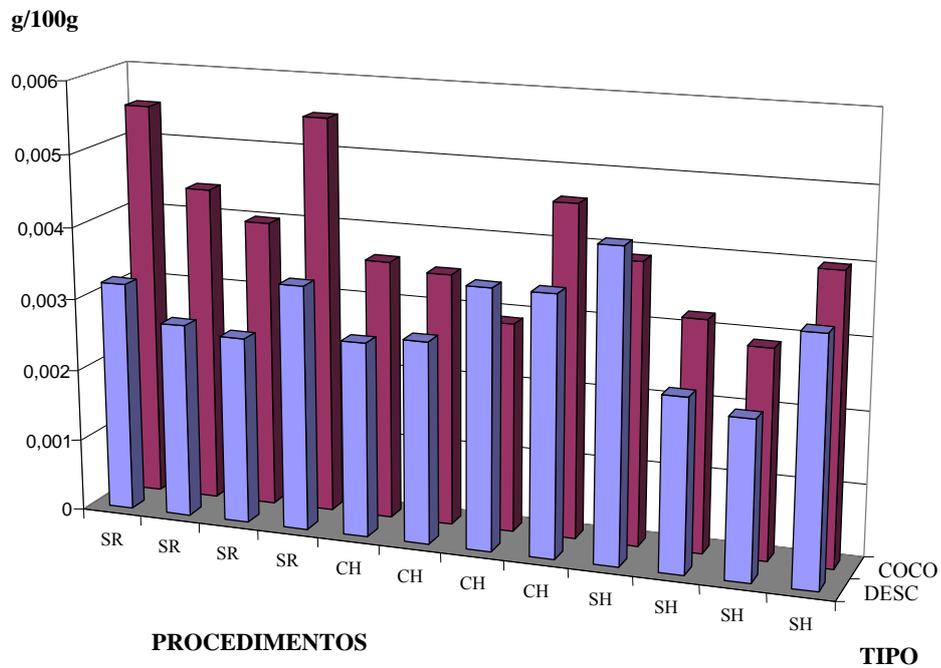


FIGURA 13 Níveis de isoleucina nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

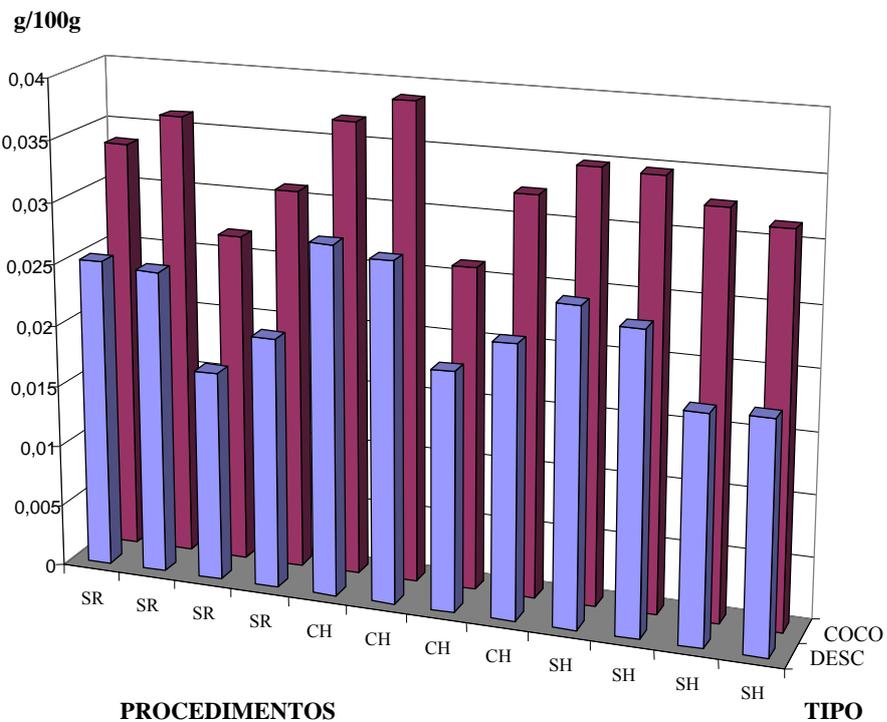


FIGURA 14 Níveis de triptofano nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

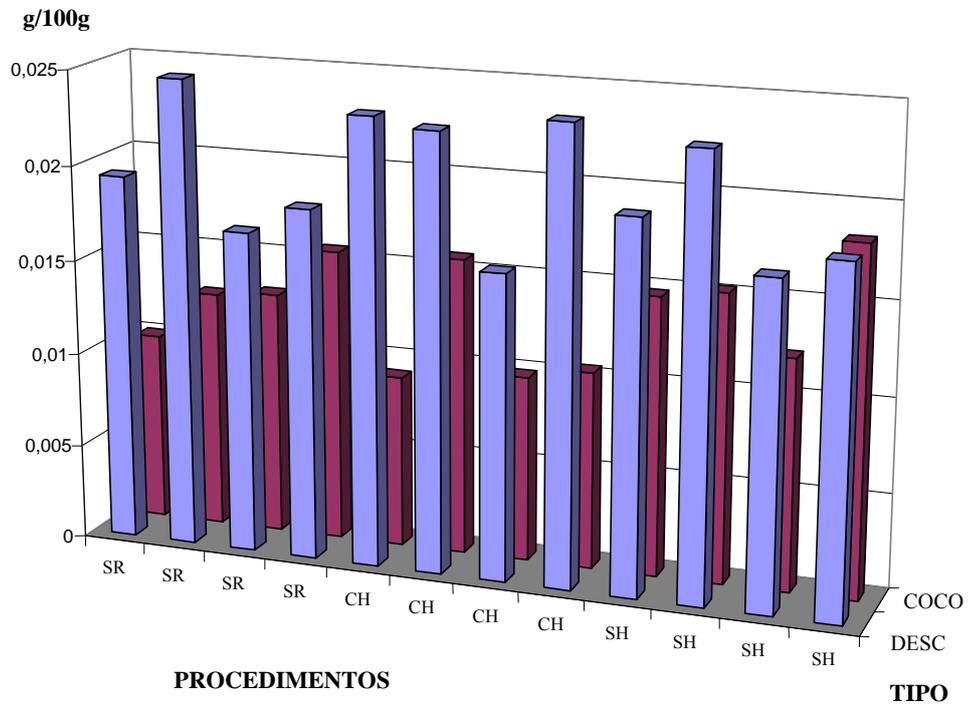


FIGURA 15 Níveis de fenilalanina nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

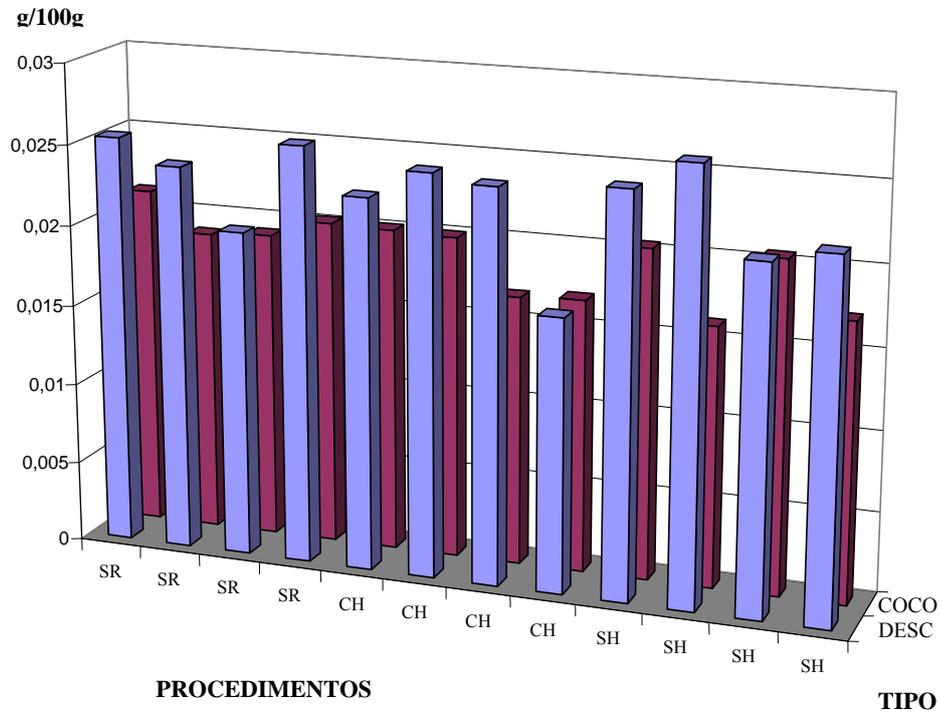


FIGURA 16 Níveis de aspartato nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

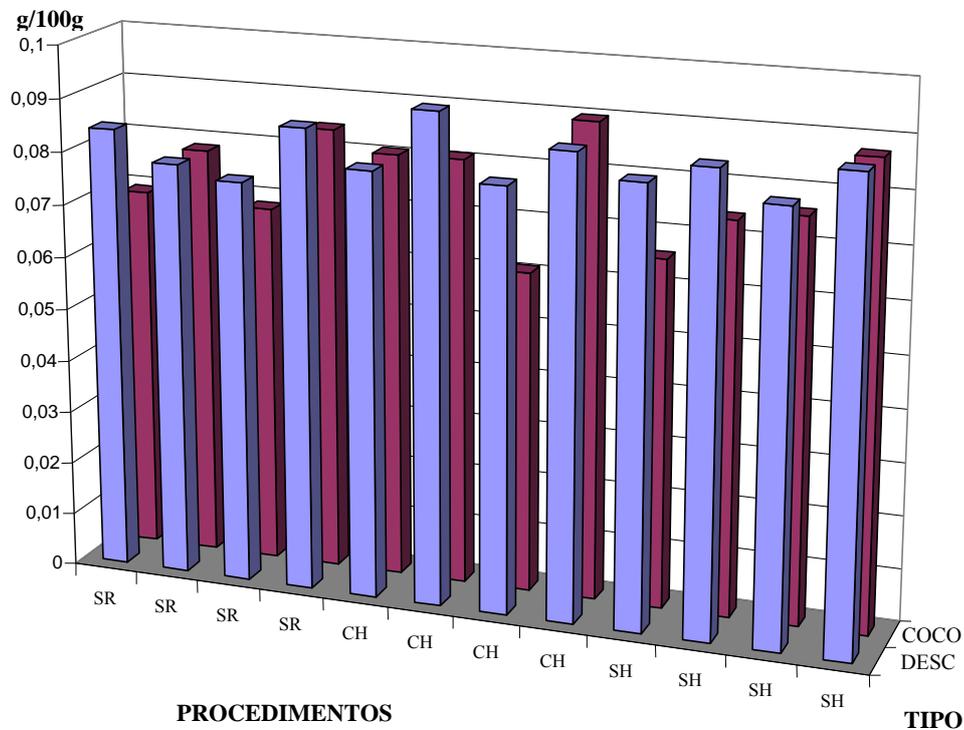


FIGURA 17 Níveis de glutamato nos diferentes tipos (via seca e via úmida) e formas dos procedimentos SR (sem repouso), CH (repouso com água), SH (repouso sem água), realizados no processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.

## 5 CONCLUSÕES

- O descascamento dos frutos imaturos do cafeeiro reduz significativamente a concentração de asparagina nos grãos crus.
- Entre os aminoácidos analisados nas amostras dos frutos imaturos do cafeeiro, a asparagina, arginina, treonina, glutamina, histidina, valina, isoleucina e o triptofano apresentaram conteúdos superiores para o processamento via seca, em comparação com o processamento via úmida, e a fenilalanina, aspartato e glutamato apresentaram quantidades mais elevadas, quando os frutos foram processados por via úmida, em relação ao processamento via seca.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. Áreas protegidas no Brasil. Disponível em: <[http://www.abic.com.br/jcafe/jcafe\\_ed159\\_p12a15.pdf](http://www.abic.com.br/jcafe/jcafe_ed159_p12a15.pdf)>. Acesso em: 15 dez. 2007.
- ALPIZAR, E.; BERTRAND, B. Incidence of elevation on chemical composition and beverage quality of coffee in Central America. In: ASIC COLLOQUIUM, 20., 2004, Bangalore. **Proceeding...** Bangalore, Índia: ASIC, 2004. CD-ROM.
- AMORIM, H. V.; CRUZ, A. R. M.; DIAS, R. M.; GUTIERREZ, L. E.; OLIVEIRA, G. D.; MELO, M.; TEIXEIRA, A. A. Transformações químicas e estruturais durante a deterioração da qualidade do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 5., 1977, Guarapari, ES. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1977. p. 15-18.
- BECALSKI, A.; LAU, B. P. Y.; LEWIS, D.; SEAMAN, S. W. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modelling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n.3, p. 602-608, 2003.
- BEGAZO, J. C. E. O. **Alguns aspectos da cafeicultura mundial e do Brasil**. Viçosa, MG: UFV, 1979. 8p.
- BICUDO, L. P. Para fazer café fino não é indispensável gastar muito. **Lavoura e Criação**, São Paulo, n.155, p.17-20, 1962.
- BYTOF, G. **Einfluss der Nacherntebehandlung auf die Qualität tsauspr\_gung bei Arabica-Kaffee (*Coffea arabica L.*)**. 2003. PhD Thesis. TU Brau.
- 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**, v.220, p.245-250, 2005.
- BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. (Especialização Latu Sensu. Cafeicultura Empresarial: Produtividade e Qualidade).

BORÉM, F. M.; REINATO, REINATO, C. H. R.; SILVA, P.; FARIA, L. F. Processamento e Secagem dos Frutos Verdes do Cafeeiro. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 5, n. 9, p. 19-24, 2005.

BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008. v.1. 631 p.

BRANDO, C.H.J. Cereja descascado, desmucilado, fermentado, despolpado ou lavado? In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 25., 1999, Franca. **Trabalhos apresentados...** Rio de Janeiro: MAA/PROCAFÉ, 1999. p.342-346.

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

CODEX COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS. Proposal for a new work on a code of practice for the reduction of acrylamide in food. In: SESSION OF THE CODEX COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS, 38., 2006, The Hague. **Proceeding...** The Hague, The Netherlands: CCFAC, 2006. p. 233.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. Coffee. In: \_\_\_\_\_. **Chemistry**. Londres: Elsevier Applied Science, 1990. v.1, p. 223-265.

COELHO, K. F. **Avaliação química e sensorial da qualidade do café de bebida estritamente mole após a inclusão de grãos defeituosos**. 2000. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Áreas protegidas no Brasil**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/Boletim.pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2007.

DELAVILLE, M. Sur les seves d'asperges et de choux. **Annales de Chimie**. Paris, v.41, p. 298, 1802.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. World Health Organization. **Acrylamide**. Summary and conclusions of the sixtyfourth meeting, Joint Fao/Who Expert Committee On Food Additives (Jecfa). Rome, 2005. p. 7-17. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/jecfa64\_summary.pdf>. Acesso em: 12 maio 2007.

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

GARRUTI, R. S.; GOMES, A. G. Influência do estágio de maturação sobre a qualidade da bebida do café do Vale do Paraíba. **Bragantia**. Campinas, v. 20, p.989-995, 1961.

GIALLULY, M. Factors affecting the inherent quality of green coffee. In: B. SACHS; P. G. SYLVAIN. **Advances in coffee production technology**. New York: The Spice Mill, 1959. p. 88–92.

HANSON, A.D.; HITZ, W.D. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. **Annual Review of Plant Physiology**, v.33, p.163-303, 1982.

ILLY, A.; VIANNI, R. **Espresso coffee**: the chemistry of quality. San Diego: Academic, 1995. p.235.

JIA, M.; KEUTGEN, N.; MATSUHASHI, S.; MITZUNIWA, C.; ITO, T.; FUJIMURA, T.; HASHIMOTO, S. Ion chromatographic analysis of selected free amino acids and cations to investigate the change of nitrogen metabolism by herbicide stress in soybean (*Glycine max*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, 276-280, 2001.

JONES, C.A.; PENA, D.; CARABALY, A. Effects of plant water potential, leaf diffusive resistance, rooting density and water use on the dry matter production of several tropical grasses during short periods of drought stress. **Tropical Agriculture**, v.57, n.3, p.122-126, 1980.

YAYLAYAN, V. A.; LOCAS, C.P.; WHOROWSKI, A. Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n.6, p.1753-1757, 2003.

LEA, P. J. ; SODEK, L. ; PARRY, M. A. J. ; SHEWRY, P. R. ; HALFORD, N. G. Asparagine in plants. **Annals of Applied Biology**, v.150, p.1-26, 2007.

MALTA, M. R.; PEREIRA, R.G.F.A.; CHAGAS, S.J. de R. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio do exsudato de grãos de café: alguns fatores que podem influenciar essas avaliações. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1015-1020, 2005.

MARTIN, M. J. Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffea varieties differentiation. **Talanta**, v. 54, p. 291-297, Nov. 2000.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, v. 64, p. 547-554, June 1998.

MAZZAFERA, P.; PURCINO R.P. Post-harvest processing methods and physiological alterations in the coffee fruit. In: ASIC COLLOQUIUM, 20., 2004, Bangalore. **Proceeding...** Bangalore, Índia: ASIC, 2004. CD-ROM.

MENEZES, H. C. **Variação dos monoisômeros e di isômeros do ácido cafeoilquínico com maturação de café.** 1994. 171 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Campinas, Campinas.

MYIA, E. E.; GARRUTI, R. S.; CHAIB, M.A.; ANGELUCCI, E.; FIGUEIREDO, I.; SHIROSE, I. Defeitos do café e a qualidade da bebida. **Coletânea de Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.5, p. 417-432, 1973/1974.

MOTTRAM, D. S.; WEDZICHA, B.L.; DODSON, A.T. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. **Nature**, London, v. 419, p. 448-449, 2002.

MURKOVIC, M. Analysis of amino acids and carbohydrates in green coffee. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, n.69, p. 25-32, 2006.

NAVARI-IZZO, F. QUARTACCI, M.F.; IZZO, R. Water stress induced changes in protein and free amino acids in field-grown maize and sunflower. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.28, p.531-537, 1990.

OHIOKPEHAI, O.; BRUMEN, G.; CLIFFORD, M. N. The chlorogenic acids content of some peculiar green beans and the implications for beverage quality. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LA CHIMIE DU CAFE, 10., 1987, Salvador. **Anais...** Salvador, Embrapa, 1987. p.177-185.

PEREIRA, R. G. F. A. **Efeito da inclusão de grãos defeituosos na composição química e qualidade do café (*Coffea arabica L.*) “estritamente mole”**. 1997. 96p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PIMENTA, C.J. **Qualidade do café (*Coffea arabica L.*) originado de diferentes frutos colhidos em quatro estádios de maturação**. 1995. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PRETE, C.E.C.; ABRAHÃO, J.T.M.; BARCA, A. A.L. Efeito da temperatura de secagem de frutos de café colhidos nos estádios de maturação cereja e verde, sobre a condutividade elétrica dos grãos. In: CONGRESSO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 21., 1995, Caxambu. **Anais...** Rio de Janeiro: MA/PROCAFÉ, 1995. p.119-121.

PUERTA QUINTERO, G.I., Calidad en taza de mezclas de variedades de café de la espécie *Coffea arabica L.* **Cenicafe**, Chinchiná, v.65, n.4, p.265-278, 2000.

REINATO, C. H. R.; BORÉM, F. M.; FERREIRA, R. G. F. Comparação da qualidade do café em coco secado em lenha e GLP. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2003, Porto Seguro. **Anais...** Brasília: Embrapa, 2003. p.163-164.

RICE, J. M. The carcinogenicity of acrylamide. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 580, n.1-2, p.3-20, 2005.

ROBERT, F.; VUATAZ, G.; POLLIEN, P.H.; SAUCY, F.; ALONSO, M.I.; BAUWENS, I.; BLANK, I. Acrylamide formation from asparagine under low moisture Maillard reaction conditions. 1. Physical and chemical aspects in crystalline model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, n.22, p.6837-6842, 2004.

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

SELMAR, D.; BYTOF G.; KNOPP S.E. New aspects of coffee processing: the relation between seed germination and coffee quality. In: **Dix-neuvième Colloque Scientifique International sur le Cafe**. Paris, Trieste: ASIC, 2002.

SILVA, J.S.; MACHADO, M.C.; DONZELES, S.M.L.; DHINGRA, O.D.; NOGUEIRA, R.M.; ROBERTO, C.D. Avaliação da armazenagem temporária do café tipo cereja por imersão em água limpa. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2007, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, Embrapa, 2007.

SILVA, J.S. **Secagem e armazenagem do café: tecnologias e custos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 162 p.

SILVA, R. F.; PEREIRA, R.G. F. A.; BORÉM, F. M.; MUNIZ, J. A. Qualidade do café-cereja descascado produzido na região Sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.6, p.1367-1375, 2004.

SIVETZ, M; FOOTE, H.E. **Coffee Processing Technology**. The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, 1963. 70 p.

STADLER, R. H.; BLANK, I.; VARGA, N.; ROBERT, F.; HAU, J.; GUY, P. A.; ROBERT, M.C. Acrylamide from Maillard reaction products. **Nature**, London, v.419, p.449-450, 2002.

STADLER, R. H.; BLANK, I.; VARGA, N.; ROBERT, F.; HAU, J.; GUY, P. A.; ROBERT, M.C. In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and others vinylogous compounds by the Maillard reaction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, n.17, p. 5550-5558, 2004.

STEWART, C. R.; LARHER, F. Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In: MIFFIN, B.J. **The biochemistry of plants**, New York: Academic, 1980. p.609-655.

TEXEIRA, A. A.; PIMENTEL, GOMES, F. A influência de grãos verdes em ligas com cafés bebida mole. **Boletim Técnico do Instituto Brasileiro do Café**, Rio de Janeiro, n.3, p.15, 1970.

TEIXEIRA, A. A. Observações sobre várias características do café colhido verde e maduro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 1984, Londrina. **Anais...** Londrina, PR, MAA/PROCAFÉ, 1984.

TRUGO, L. C. Analysis of coffee products. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L.C.; FINGLAS, P. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**, Academic Press, London, 2003, v.10, p.1498-1506.

VAUQUELIN L.N., ROBIQUET P.J. The discovery of a new plant principle in *Asparagus sativus*, Paris. **Annales de Chimie** , v.57, p.88-93, 1806.

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

WHITE, J. A. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry**, v.8, n.4, p.170-177, 1986.

ZYZAK, D. V.; SANDERS, R.A.; STOJANOVIC, M.; TALLMADGE, D.H.; EBERHART, L.; GRUBER, D.K. Acrylamide formation mechanism in heated foods **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.51, n.16, p. 4782-4787, 2003.

## ANEXOS

	<b>Página</b>
TABELA 1A Resumo da análise de variância do aminoácido asparagina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	55
TABELA 2A Resumo da análise de variância do aminoácido arginina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	55
TABELA 3A Resumo da análise de variância do aminoácido treonina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	56
TABELA 4A Resumo da análise de variância do aminoácido glutamina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	56
TABELA 5A Resumo da análise de variância do aminoácido histidina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	57
TABELA 6A Resumo da análise de variância do aminoácido valina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	57
TABELA 7A Resumo da análise de variância do aminoácido isoleucina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	58

TABELA 8A	Resumo da análise de variância do aminoácido triptofano e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	58
TABELA 9A	Resumo da análise de variância do aminoácido fenilalanina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	59
TABELA 10A	Resumo da análise de variância do aminoácido aspartato e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	59
TABELA 11A	Resumo da análise de variância do aminoácido glutamato e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	60
TABELA 12A	Resumo da análise de variância do aminoácido alanina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	60
TABELA 13A	Resumo da análise de variância do aminoácido prolina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	61
TABELA 14A	Resumo da análise de variância do aminoácido tirosina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	61
TABELA 15A	Resumo da análise de variância do aminoácido cistina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	62

TABELA 16A	Resumo da análise de variância do aminoácido leucina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	62
TABELA 17A	Resumo da análise de variância do aminoácido lisina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	63
TABELA 18A	Resumo da análise de variância do aminoácido serina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	63
TABELA 19A	Resumo da análise de variância do aminoácido glicina e o resultado do teste F para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro.....	64
TABELA 20A	Valores médios estimados dos aminoácidos em função dos tratamentos realizados no segundo procedimento.....	65
TABELA 21A	Valores médios estimados dos aminoácidos em função dos tratamentos realizados no segundo procedimento.....	66
TABELA 22A	Valores médios estimados dos aminoácidos em função do primeiro procedimento (processamento via seca e via úmida).....	67

## ANEXOS

TABELA 1A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de asparagina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento	01	5,52 *	4,32
2º Procedimento	02	0,04	3,47
P 1 x P 2	02	0,07	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,38	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 28,86%	

TABELA 2A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de arginina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento	01	76,39 *	4,32
2º Procedimento	02	2,47	3,47
P 1 x P 2	02	0,22	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	2,59	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 30,91	

TABELA 3A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de treonina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabela</sub>
1º Procedimento	01	21,11 *	4,32
2º Procedimento	02	1,66	3,47
P 1 x P 2	02	2,22	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	3,33	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 30,46	

TABELA 4A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de glutamina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabela</sub>
1º Procedimento	01	22,16 *	4,32
2º Procedimento	02	1,48	3,47
P 1 x P 2	02	0,27	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	4,33 *	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 25,84	

TABELA 5A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de histidina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabela</sub>
1º Procedimento	01	4,73 *	4,32
2º Procedimento	02	2,89	3,47
P 1 x P 2	02	2,63	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	5,26 *	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 28,08	

TABELA 6A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de valina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabela</sub>
1º Procedimento	01	13,78 *	4,32
2º Procedimento	02	3,94 *	3,47
P 1 x P 2	02	2,63	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	2,63	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 19,47	

TABELA 7A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de isoleucina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabela</sub>
1º Procedimento	01	12,12 *	4,32
2º Procedimento	02	1,51	3,47
P 1 x P 2	02	3,03	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	3,03	4,32
Erro	21		
<b>TOTAL</b>	<b>27</b>	<b>CV (%) = 18,65</b>	

TABELA 8A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de triptofano para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabela</sub>
1º Procedimento	01	22,30 *	4,32
2º Procedimento	02	3,04	3,47
P 1 x P 2	02	1,08	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,43	4,32
Erro	21		
<b>TOTAL</b>	<b>27</b>	<b>CV (%) = 17,60</b>	

TABELA 9A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de fenilalanina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento 4,32	01	34,04 *	
2º Procedimento	02	0,26	3,47
P 1 x P 2	02	1,91	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,10	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 18,49	

TABELA 10A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de aspartato para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento	01	16,23 *	4,32
2º Procedimento	02	0,58	3,47
P 1 x P 2	02	0,14	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,29	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 12,40	

TABELA 11A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de glutamato para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento	01	5,80 *	4,32
2º Procedimento	02	0,36	3,47
P 1 x P 2	02	0,04	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	2,57	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 9,45	

TABELA 12A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de alanina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento	01	0,11	4,32
2º Procedimento	02	0,12	3,47
P 1 x P 2	02	0,51	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,08	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 30,75	

TABELA 13A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de prolina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabela</sub>
1º Procedimento	01	1,20	4,32
2º Procedimento	02	0,48	3,47
P 1 x P 2	02	0,88	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,55	4,32
Erro	21		
<b>TOTAL</b>	<b>27</b>	<b>CV (%) = 92,88</b>	

TABELA 14A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de tirosina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabela</sub>
1º Procedimento	01	1,93	4,32
2º Procedimento	02	2,03	3,47
P 1 x P 2	02	0,42	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	1,04	4,32
Erro	21		
<b>TOTAL</b>	<b>27</b>	<b>CV (%) = 19,36</b>	

TABELA 15A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de cistina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento	01	0,65	4,32
2º Procedimento	02	0,07	3,47
P 1 x P 2	02	0,10	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,50	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 51,02	

TABELA 16A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de leucina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento	01	2,46	4,32
2º Procedimento	02	0,61	3,47
P 1 x P 2	02	0,62	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,62	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 38,60	

TABELA 17A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de lisina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento	01	3,40	4,32
2º Procedimento	02	3,40	3,47
P 1 x P 2	02	3,40	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	3,40	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 28,45	

TABELA 18A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de serina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F calculado	F tabela
1º Procedimento	01	3,88	4,32
2º Procedimento	02	0,20	3,47
P 1 x P 2	02	0,79	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,11	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 29,19	

TABELA 19A Resumo da análise de variância e resultados do teste F (5%) dos níveis de glicina para as diferentes formas dos procedimentos realizados para o processamento dos frutos imaturos do cafeeiro

Processamento	GL	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabela</sub>
1º Procedimento	01	0,10	4,32
2º Procedimento	02	0,05	3,47
P 1 x P 2	02	0,05	3,47
Testemunha vs P1 x P2	01	0,40	4,32
Erro	21		
TOTAL	27	CV (%) = 46,49	



TABELA 20A Valores médios estimados dos aminoácidos em função dos tratamentos realizados durante o segundo procedimento no processamento do café

PROCESSAMENTO	AMINOÁCIDOS g/100g								
	PRO	TIR	VAL	CIS	ILEU	LEU	FEN	TRP	LIS
DESC S/ REP	0,0130	0,0569	0,0029	0,0362	0,0029	0,0030	0,0199	0,0218	0,0016
DESC C/ RCA	0,0142	0,0632	0,0026	0,0294	0,0031	0,0029	0,0216	0,0243	0,0017
DESC C/ RSA	0,0136	0,0556	0,0026	0,0351	0,0030	0,0026	0,0194	0,0217	0,0018
COCO S/ REP	0,0171	0,0633	0,0043	0,0382	0,0048	0,0041	0,0127	0,0319	0,0021
COCO C/ RCA	0,0155	0,0646	0,0038	0,0398	0,0036	0,0037	0,0112	0,0336	0,0022
COCO C/ RSA	0,0166	0,0679	0,0029	0,0408	0,0035	0,0031	0,0151	0,0334	0,0017
TESTEMUNHA	0,0145	0,0554	0,0033	0,0296	0,0039	0,0032	0,0162	0,0259	0,0020

DESC S/ REP: Café descascado sem repouso  
DESC C/ RCA: Café descascado c/ repouso c/ água  
DESC C/ RSA: Café descascado c/ repouso s/ água

COCO S/ REP: Café em coco sem repouso  
COCO C/ RCA: Café em coco c/ repouso c/ água  
COCO C/ RSA: Café em coco c/ repouso s/ água

TABELA 21A Valores médios estimados dos aminoácidos em função dos tratamentos realizados durante o segundo procedimento no processamento do café

PROCESSAMENTO	AMINO ÁCIDOS (g/100g)										
	ASP	GLU	ASN	SER	GLN	GLI	HIS	ARG	TRE	ALA	TOTAL
DESC S/ REP	0,0238	0,0815	0,0838	0,0232	0,0054	0,0069	0,0031	0,0175	0,0005	0,0147	0,4194
DESC C/ RCA	0,0222	0,0849	0,1019	0,0255	0,0064	0,0072	0,0060	0,0181	0,0010	0,0135	0,4497
DESC C/ RSA	0,0237	0,0843	0,0905	0,0235	0,0058	0,0071	0,0040	0,0177	0,0009	0,0158	0,4287
COCO S/ REP	0,0198	0,075	0,1141	0,0272	0,0088	0,0070	0,0060	0,0665	0,0022	0,0255	0,5306
COCO C/ RCA	0,0184	0,0779	0,1223	0,0221	0,0109	0,0061	0,0058	0,0692	0,0025	0,0232	0,5364
COCO C/ RSA	0,0185	0,0757	0,1203	0,0286	0,0090	0,0073	0,0050	0,0603	0,0039	0,0248	0,5384
TESTEMUNHA	0,0218	0,0734	0,0961	0,0252	0,0056	0,0058	0,0046	0,0532	0,0011	0,0213	0,4621

DESC S/ REP: Café descascado sem repouso  
DESC C/ RCA: Café descascado c/ repouso c/ água  
DESC C/ RSA: Café descascado c/ repouso s/ água

COCO S/ REP: Café em coco sem repouso  
COCO C/ RCA: Café em coco c/ repouso c/ água  
COCO C/ RSA: Café em coco c/ repouso s/ água

TABELA 22A Valores médios dos aminoácidos em função do primeiro procedimento (processamento via seca e via úmida)

PROCESSO V.SECA/ÚMIDA	AMINOÁCIDOS (g/100g)								
	PRO	TIR	VAL	CIS	ILEU	LEU	FEN	TRP	LIS
DESCASCADO	0,0136	0,0585	0,0027	0,0335	0,0013	0,0028	0,0203	0,0226	0,0017
COCO	0,0164	0,0652	0,0036	0,0396	0,0039	0,0036	0,0130	0,0329	0,0020
MÉDIA GERAL	0,0150	0,0618	0,0031	0,0365	0,0026	0,0032	0,0166	0,0277	0,0018
TESTEMUNHA	0,0145	0,0554	0,0033	0,0296	0,0039	0,0032	0,0162	0,0259	0,0020

PROCESSO V.SECA/ÚMIDA	AMINOÁCIDOS (g/100g)										
	ASP	GLU	ASN	SER	GLN	GLI	HIS	ARG	TRE	ALA	MÉDIA
DESCASCADO	0,0232	0,0835	0,0920	0,0240	0,0058	0,0070	0,0043	0,0177	0,0008	0,0146	0,4301
COCO	0,0189	0,0762	0,1189	0,0259	0,0095	0,0068	0,0056	0,0653	0,0028	0,0245	0,5346
MÉDIA GERAL	0,0211	0,0798	0,1055	0,0249	0,0077	0,0069	0,0050	0,0415	0,0018	0,0195	
TESTEMUNHA	0,0218	0,0734	0,0961	0,0252	0,0056	0,0058	0,0046	0,0532	0,0011	0,0213	