



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
INFRAESTRUTURA E TERRITÓRIO (ILATIT)**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INTERDISCIPLINAR EM ENERGIA E
SUSTENTABILIDADE**

**EFEITO DA POLINIZAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO DO CAFÉ ARÁBICA
(*Coffea arabica* L.) CRU: COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, COMPOSTOS
BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

Francisco Antonio Canzi

Foz do Iguaçu – PR
2022

Francisco Antonio Canzi

EFEITO DA POLINIZAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO DO CAFÉ ARÁBICA

(*Coffea arabica* L.) CRU: COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, COMPOSTOS

BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Energia e Sustentabilidade.

Orientadora

Prof^a. Dra. Marcela Boroski

Coorientadoras

Prof^a. Dra. Aline Theodoro Toci

Prof^a. Dra. Priscila Ferri Coldebella

Foz do Iguaçu – PR
2022

EFEITO DA POLINIZAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO DO CAFÉ ARÁBICA

(*Coffea arabica* L.) CRU: COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, COMPOSTOS

BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Energia e Sustentabilidade.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marcela Boroski
UNILA

Prof. D.Sc., M.Sc. André Luis Rüdiger
(UNILA)

Prof^ª. Dra. Solange Cristina Augusto
(UFU)

Foz do Iguaçu, 23 de Fevereiro de 2022.

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - PTI

C235

Canzi, Francisco Antonio.

Efeito da polinização sobre a composição do café Arábica (*Coffea arabica* L.) cru: composição centesimal, compostos bioativos e atividade antioxidante / Francisco Antonio Canzi. - Foz do Iguaçu-PR, 2022.

69 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana. Instituto Latino-Americano de Infraestrutura e Território. Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade. Foz do Iguaçu-PR, 2022.

Orientador: Marcela Boroski.

Coorientador: Aline Theodoro Toci.

Coorientador: Priscila Ferri Coldebella.

Polinização. 2. Atividade Antioxidante. 3. Sustentabilidade. 4. Compostos Bioativos. 5. Composição Centesimal. 6. Qualidade do Café. I. Boroski, Marcela. II. Toci, Aline Theodoro. III. Coldebella, Priscila Ferri. IV. Título.

CDU 581.162.3

AGRADECIMENTOS

À minha família, que é meu pilar e de onde eu tiro todas as minhas forças, minha esposa Marcia que sempre esteve ao meu lado me apoiando e torcendo muito e as minhas filhas Izadora e Luiza que são minhas estrelas que me guiam na vida.

A Dra. Marcela Boroski (Orientadora) e Dra. Aline Theodoro Toci (Coorientadora), pela dedicação e suporte, que, por muitas vezes, deixaram de lado seus momentos de descanso para me ajudar e me orientar com excelência. E, principalmente, obrigado por sempre ter acreditado e depositado confiança em mim ao longo do período da pesquisa e a Dra. Priscila Ferri Coldebella (Coorientadora), que foi minha professora de metodologia de pesquisa e me auxiliou na escrita do documento.

A Desirée Ayume Lopes Meireles que fez o manejo e coleta das amostras de café de maneira muito profissional, orientada pela Dra. Solange Cristina Augusto e Dra. Aline Theodoro Toci que se dedicaram no apoio ao seu trabalho.

A Dra. Patrícia Valderrama que me auxiliou na parte estatística do trabalho, deixando-os com resultados precisos e pertinentes a pesquisa.

A Aldo Barboza, Emilene Lourenço e Lídia S. Abrantes que me deram auxílio quando precisei fazer o manuseio das amostras no laboratório de química. A Priscila Ramos, que me deu suporte na parte de leitura das amostras no aparelho de cromatografia.

A UNILA e ao PPGIES – Programa de Pós-graduação Interdisciplinar em Energia & Sustentabilidade onde pude desenvolver a pesquisa e ao Laboratório de Estudos Interdisciplinares do Meio Ambiente e Alimentos (LEIMAA), local da realização das análises.

E, por fim, agradeço todos os professores e professoras que sempre foram muito dedicados e extremamente profissionais, que de alguma forma, foram essenciais para que alcançasse os objetivos.

RESUMO

A importância da polinização biótica é reconhecida em diversas culturas, entre elas destaca-se o café. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi verificar a influência da polinização biótica na composição química do café (*Coffea arabica* L.) cultivado nas cidades de Araguari e Monte Carmelo, localizadas no sul do estado de Minas Gerais. Foram analisadas 20 amostras, sendo 10 com polinização (P) realizado por abelhas e outros polinizadores e 10 sem polinização (NP) (somente autopolinização e pelo vento). Foram avaliados os compostos bioativos, a capacidade antioxidante e a composição centesimal dos grãos de cafés crus. Os resultados revelaram a distinção química entre as amostras P e NP. Na composição centesimal, as amostras NP foram superiores referente a umidade, lipídios, carboidratos totais e proteínas. Os teores de cafeína e trigonelina variam de 0,85 a 1,16 g 100 g⁻¹ e 0,76 a 0,96 g 100 g⁻¹, respectivamente, sendo ambos superior nos grãos P ($p\text{-valor} \leq 0,05$). Os grãos de cafés provenientes das amostras P apresentaram um teor médio de ácidos clorogênicos (ACG) totais significativamente superior, 4,96 g 100 g⁻¹, às amostras NP, 4,66 g 100 g⁻¹ ($p\text{-valor} \leq 0,05$), equivalendo a um incremento de 6,05 %. O teor de compostos fenólicos totais foi superior em NP e a capacidade antioxidante frente ao radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH•) e o potencial de redução foram superiores em P conforme o teste Tukey. Na análise do PCA, os parâmetros que influenciam em P são cafeína, trigonelina, 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 5-FQA, e redução para ambas as cidades, enquanto que em NP são umidade, carboidratos, proteínas, 3,4-diCQA, 4,5-diCQA, fenólicos, e resultados de DPPH• para ambas as cidades. Com relação a composição centesimal, as amostras em NP apresentaram os maiores teores na umidade, proteínas e carboidratos, com exceção dos lipídeos que ficou superior em P na cidade de Monte Carmelo. A abordagem quimiométrica empregando-se a Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada para avaliar as diferenças entre amostras na mesma cidade, submetidas ao procedimento em P e NP, e entre as duas cidades, Araguari e Monte Carmelo. Para Araguari, a distinção das amostras no PC6 (7,24% da variância explicada), enquanto para Monte Carmelo, uma tendência de separação mostrada no PC5 (9,01% da variância explicada).

Observou-se que as amostras em P estão separadas no lado negativo do PC, e as amostras em NP estão no positivo. Os resultados evidenciam que a polinização realizada por abelhas em plantas de café (*Coffea arabica* L.) torna os grãos com maior concentração dos compostos bioativos, e considerando que também são precursores de compostos voláteis no café, isto afeta diretamente a qualidade dos grãos. Os serviços de polinização realizado pelas abelhas e outros polinizadores são os principais mecanismos para a manutenção da vida do planeta, sendo que as plantas dependem delas para se reproduzirem através do transporte de pólen que é um processo altamente sustentável.

Palavras-chave: Polinização, Compostos Bioativos, Atividade Antioxidante, Composição Centesimal, Sustentabilidade, Qualidade do Café.

ABSTRACT

The importance of biotic pollination is recognized in several cultures, among them the coffee. In this sense, the objective of this study was to verify the influence of biotic pollination on the chemical composition of coffee (*Coffea arabica* L.) grown in the cities of Araguari and Monte Carmelo, located in southern Minas Gerais state. Twenty samples were analyzed, 10 with pollination (P) performed by bees and other pollinators and 10 without pollination (NP) (only self-pollination and wind pollination). The bioactive compounds, antioxidant capacity and the centesimal composition of the raw coffee beans were evaluated. The results revealed the chemical distinction between the P and NP samples. In the centesimal composition, the NP samples were superior regarding moisture, lipids, total carbohydrates and proteins. The caffeine and trigonelline contents ranged from 0.85 to 1.16 g 100 g⁻¹ and 0.76 to 0.96 g 100 g⁻¹, respectively, both being higher in P beans (p-value≤0.05). Coffee beans from the P samples had a significantly higher average total chlorogenic acids (GCA) content, 4.96 g 100 g⁻¹, than the NP samples, 4.66 g 100 g⁻¹ (p-value≤ 0.05), equating to an increment of 6.05 %. The content of total phenolic compounds was higher in NP and the antioxidant capacity against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH-) and the reduction potential were higher in P according to the Tukey test. In the PCA analysis, the parameters influencing in P are caffeine, trigonelline, 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 5-FQA, and reduction for both cities, while in NP are moisture, carbohydrates, protein, 3,4-diCQA, 4,5-diCQA, phenolics, and DPPH- results for both cities. In relation to the centesimal composition, the samples in NP presented the highest contents in moisture, proteins and carbohydrates, with the exception of lipids that were higher in P in the city of Monte Carmelo. The chemometric approach using Principal Component Analysis (PCA) was performed to evaluate the differences between samples in the same city, submitted to the procedure in P and NP, and between the two cities, Araguari and Monte Carmelo. For Araguari, the distinction of samples in PC6 (7.24% of the explained variance), while for Monte Carmelo, a tendency of separation shown in PC5 (9.01% of the explained variance). It was observed that the samples in P are separated on the negative side of the PC, and the samples in NP are on the positive. The results show that pollination performed

by bees in coffee plants (*Coffea arabica* L.) makes the beans with higher concentration of bioactive compounds, and considering that they are also precursors of volatile compounds in coffee, this directly affects the quality of the beans. The pollination services performed by bees and other pollinators are the main mechanisms for the maintenance of life on the planet, and plants depend on them to reproduce through pollen transport, which is a highly sustainable process.

Keywords: Pollination, Bioactive Compounds, Antioxidant Activity, Centesimal Composition, Sustainability, Coffee Quality.

RESUMEN

La importancia de la polinización biótica es reconocida en varios cultivos, entre los que destaca el café. En este sentido, el objetivo de este estudio fue verificar la influencia de la polinización biótica en la composición química del café (*Coffea arabica* L.) cultivado en las ciudades de Araguari y Monte Carmelo, ubicadas en el sur del estado de Minas Gerais. Se analizaron 20 muestras, 10 con polinización (P) realizada por abejas y otros polinizadores y 10 sin polinización (NP) (sólo autopolinización y polinización por el viento). Se evaluaron los compuestos bioactivos, la capacidad antioxidante y la composición centesimal de los granos de café crudo. Los resultados revelaron la distinción química entre las muestras P y NP. En la composición centesimal, las muestras NP fueron superiores en cuanto a humedad, lípidos, carbohidratos totales y proteínas. Los contenidos de cafeína y trigonelina oscilaron entre 0,85 y 1,16 g 100 g⁻¹ y entre 0,76 y 0,96 g 100 g⁻¹, respectivamente, siendo ambos mayores en las judías P (valor $p \leq 0,05$). Los granos de café de las muestras P tenían un contenido medio de ácidos clorogénicos totales (CCA) significativamente mayor, 4,96 g 100 g⁻¹, que las muestras NP, 4,66 g 100 g⁻¹ (valor $p \leq 0,05$), lo que equivale a un incremento del 6,05 %. El contenido de compuestos fenólicos totales fue mayor en NP y la capacidad antioxidante frente al radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH-) y el potencial de reducción fueron mayores en P según la prueba de Tukey. En el análisis PCA, los parámetros que influyen en P son la cafeína, la trigonelina, el 3-CQA, el 4-CQA, el 5-CQA, el 5-FQA y la reducción para ambas ciudades, mientras que en NP son la humedad, los carbohidratos, las proteínas, el 3,4-diCQA, el 4,5-diCQA, los fenólicos y los resultados del DPPH para ambas ciudades. En cuanto a la composición centesimal, las muestras en NP presentaron los mayores contenidos en humedad, proteínas y carbohidratos, con la excepción de los lípidos que fue mayor en P en la ciudad de Monte Carmelo. El enfoque quimiométrico utilizando el Análisis de Componentes Principales (ACP) fue realizado para evaluar las diferencias entre las muestras de la misma ciudad, sometidas al procedimiento en P y NP, y entre las dos ciudades, Araguari y Monte Carmelo. Para Araguari, la distinción de muestras en PC6 (7,24% de la varianza explicada), mientras que para Monte Carmelo, una tendencia de separación

mostrada en PC5 (9,01% de la varianza explicada). Se observó que las muestras en P están separadas en el lado negativo de PC, y las muestras en NP están en el lado positivo. Los resultados muestran que la polinización realizada por las abejas en las plantas de café (*Coffea arabica* L.) hace que los granos tengan una mayor concentración de compuestos bioactivos, y teniendo en cuenta que también son precursores de los compuestos volátiles del café, esto afecta directamente a la calidad de los granos. Los servicios de polinización que realizan las abejas y otros polinizadores son los principales mecanismos para el mantenimiento de la vida en el planeta, y las plantas dependen de ellos para reproducirse mediante el transporte de polen, que es un proceso altamente sostenible.

Palabras clave: Polinización, Compuestos Bioactivos, Actividad Antioxidante, Composición Centesimal, Sustentabilidad, Calidad del Café.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Morfologia do fruto do café.....	18
Figura 2 – Fórmulas estruturais dos ácidos clorogênicos. Isômeros: ácidos: 3-CQA, 4-CQA e 5-CQA; isômeros: ácidos: 3,4-diCQA, 3,5-diCQA e 4,5-diCQA; ácido 5-FQA	20
Figura 3 – Fórmula estrutural da cafeína	21
Figura 4 – Fórmula estrutural da trigonelina	21
Figura 5 – Estrutura do radical livre estável DPPH•	23
Figura 6 – Inflorescência de <i>Coffea arabica</i> L. sendo visitada por <i>Apis mellifera</i> .	25
Figura 7 – Localização das Cidades de Araguari e Monte Carmelo	27
Figura 8 – Localização das paisagens onde foram realizados os experimentos na região do Triângulo Mineiro, Brasil	28
Figura 9 – Polinização biótica e autopolinização (P)	30
Figura 10 – Sem polinização biótica e com autopolinização (NP)	30
Figura 11 – Sem polinização biótica e com autopolinização (NP)	31
Figura 12 – Fruto do café verde	32
Figura 13 – Fruto do café maduro	32
Figura 14 – Secagem dos frutos do café	33
Figura 15 – Resultados do PCA em Araguari. (A) Scores (B) Loadings	50
Figura 16 – Resultados do PCA em Monte Carmelo. (A) Scores (B) Loadings	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Coordenadas geográficas das amostras	29
Tabela 2 – Composição centesimal (g 100 g ⁻¹ em base seca) de grãos crus de <i>Coffea arabica</i> L.	42
Tabela 3 – Teores de cafeína e trigonelina (g 100 g ⁻¹ em base seca) de grãos crus de <i>Coffea arabica</i> L.	44
Tabela 4 – Teores de ácidos clorogênicos (g 100 g ⁻¹ em base seca) de grãos crus de <i>Coffea arabica</i> L.	47

Tabela 5 – Capacidade antioxidante e compostos fenólicos em grão de café (base seca) cru de <i>Coffea arabica</i> L.	49
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIC	Associação Brasileira da Indústria de café
ACG	Ácidos clorogênicos
AOAC	Association of Official Analytical Chemists - Associação de Químicos Analíticos Oficiais
CCCMG	Centro do Comércio de Café do Estado de Minas Gerais
CECAFE	Conselho dos exportadores de café do Brasil
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
ComDim	Método Quimiométrico Multibloco
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DPPH•	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
HPLC	High Performance Liquid Chromatography - Cromatografia Líquida de Alto Desempenho
ILATI	Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território
ISO	International Organization for Standardization - Organização Internacional de Normalização
LEAM	Laboratório Multiusuário Engenheira Enedina Alves Marques
NP	Sem polinização – without pollinators
OIC	Organização Internacional do Café
P	Com polinização – with pollinators
PCA	Principal Component Analysis
UNILA	Universidade Federal da Integração Latino-Americana
3-CQA	Ácido 3-O-cafeoilquínico
4-CQA	Ácido 4-O-cafeoilquínico
5-CQA	Ácido 5-O-cafeoilquínico
5-FQA	Ácido 5-O-feruloilquínico
3,4-diCQA	Ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico
3,5-diCQA	Ácido 3,5-di-O-cafeoilquínico
4,5-diCQA	Ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 POLINIZAÇÃO DO CAFÉ	17
2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS DO CAFÉ	18
2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO CAFÉ.....	23
2.4 EFEITO SUSTENTÁVEL DA POLINIZAÇÃO	24
3 OBJETIVO GERAL	26
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4 METODOLOGIA	26
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO DE ESTUDO	26
4.2 PROCESSAMENTOS DOS FRUTOS	31
4.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	33
4.4 ANÁLISE DA CAFEÍNA E TRIGONELINA POR HPLC	35
4.5 ANÁLISE DOS ÁCIDOS CLOROGÊNICOS POR HPLC.....	36
4.6 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	37
5 PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO	39
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
6.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	40
6.2 COMPOSTOS BIOTIVOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	43
6.2.1 Cafeína e Trigonelina.....	43
6.2.2 Ácidos Clorogênicos	44
6.2.3 Compostos Fenólicos e Capacidade Antioxidante.....	48
7 AVALIAÇÃO QUIMIOMÉTRICA E ESTATÍSTICA	49
8 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS.....	54
APÊNDICE.....	67
APÊNDICE A – CANVAS DO PROJETO DO FRANCISCO ANTONIO CANZI	67
APÊNDICE B - TABELA DE REAGENTES	69

1 INTRODUÇÃO

A polinização é um serviço ecossistêmico, responsável por cerca de 70% da produção das maiores culturas mundiais e as abelhas são seus principais polinizadores (NOVAIS *et al.*, 2016). Tem-se como exemplos os cultivos de algodão, café, laranja, maçã e soja, sendo verificado o aumento da produção em presença da polinização por abelhas (WITTER *et al.*, 2014). A polinização é um processo bastante crítico do ecossistema, com quase 90 % das plantas com floração exigindo insetos ou outros animais (WILLMER, 2011).

O café é a bebida mais consumida no mundo e muitos estudos vem sendo realizados porque muitos de seus componentes apresentam um grande potencial benéfico para a saúde humana (MARTINI *et al.*, 2016). O Brasil continua sendo o maior produtor/exportador e o segundo maior consumidor mundial de café (ABIC, 2020). Em 2020, de acordo com a ABIC (Associação Brasileira da Indústria de Café), o consumo *per capita* de café torrado/moído ($5,99 \text{ kg}^{-1}$ de café cru em grãos) foi de $4,79 \text{ kg}^{-1} \text{ hab}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. Os números de consumo revelam que, apesar da crise econômica gerada pela pandemia e que afetou diversos setores em 2020, a procura por café seguiu seu ritmo de crescimento: registrou 1,34% de alta em relação ao mesmo período analisado no ano anterior (ABIC, 2020).

A bebida preparada com o *Coffea arabica* L. é a mais consumida no mundo devido a sua superioridade aromática em relação aos outros tipos de café, principalmente na União Europeia e América do Norte segundo a *International Coffee Organization* (ICO, 2020), o que o torna esta matéria-prima comercialmente de grande relevância para o Brasil e a nível internacional. No Brasil, nos últimos 10 anos, as safras superaram 407 milhões de sacas de *Coffea arabica* L., decorrente da demanda em *blends* de alta qualidade (CECAFE e CONAB, 2020). O estado de Minas Gerais é o principal produtor de *Coffea arabica* L. no Brasil, e as cidades de Araguari e Monte Carmelo destacam-se como cidades que compõem a cafeicultura da região do Cerrado Mineiro, caracterizada por fatores geográficos, naturais, critérios relativos tanto ao manejo (incluindo os processos de plantio, colheita, processamento — secagem, moagem e armazenagem do café) quanto ao cumprimento da legislação e ética ambiental. Embora seja reconhecida a importância da polinização biótica, realizada majoritariamente por abelhas, na

produtividade do *Coffea arabica* L., ainda há uma escassez de informações sobre o efeito da polinização na composição química dos grãos de café, relativa tanto aos compostos bioativos majoritários como a cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos, quanto a composição centesimal.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 POLINIZAÇÃO DO CAFÉ

Nos últimos anos têm crescido o interesse de produtores rurais para o uso de abelhas visando o aumento da produtividade (PERUZZOLO *et al.*, 2019). A redução da diversidade biológica, portanto, compromete a sustentabilidade do meio ambiente e a disponibilidade permanente dos recursos ambientais. Dessa forma, a biodiversidade pode ser vista como um fator com o potencial para influenciar direta ou indiretamente a taxa, a magnitude e direção dos processos e serviços do ecossistema.

Os compostos químicos florais são muito importantes para atração e visitação de polinizadores (WRIGHT *et al.*, 2013). Após a hibridização natural entre *Coffea canephora* e *Coffea eugenioides* que ocorreu há quase 50.000 anos, originou-se o *Coffea arabica* L. (CENICAFÉ, 2013). As folhas de *Coffea canephora* geralmente têm um tamanho maior do que as de *Coffea arabica* L., medindo de 3 a 6,5 metros de altura, enquanto *Coffea arabica* L. geralmente mede apenas 5 metros (LIM, 2013). Algumas características podem fazer com que polinizadores como abelhas alterem a taxa de visitação (DYER *et al.*, 2012). Estudos indicam que o *Coffea arabica* L. apresenta maior concentração de açúcar comparado com outras espécies e que as concentrações de açúcar no néctar são influenciadas principalmente pela temperatura e umidade e por sua vez aumentam o tempo de manipulação das abelhas (PRADO *et al.*, 2019).

O cafeeiro é uma planta perene do gênero botânico *Coffea* da família Rubiaceae, que contém cerca de 500 gêneros e mais de 6000 espécies (ICO, 2021), no qual destacam-se o *Coffea arabica* L. (arábica) e *Coffea Canephora* (robusta), sendo que a primeira somou em 2020, 1,76 milhão de hectares, o que corresponde a 80% da área existente com lavouras de café no Brasil (QUEIROGA *et al.*, 2021). Na área de Minas Gerais, a maior área com *Coffea arabica* L do Brasil, os

números são de 1,031 milhão de hectares, o que equivale a 68% da área ocupada com *Coffea arabica* L em âmbito nacional, e os resultados do terceiro levantamento (setembro) para a safra cafeeira 2020, indicou uma produção de 47,4 milhões de sacas, com crescimento de 38,1% de *Coffea arabica* L. (CONAB, 2020).

2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS DO CAFÉ

O fruto do café (Figura 1) é formado por uma camada periférica (exocarpo) onde encontra-se células epidérmicas, com várias camadas subjacentes (mesocarpo e endocarpo) que é constituído de células de estocagem parenquimatosas e o grão do café (endosperma) (DURÁN *et al.*, 2017) que apresenta como classes de compostos majoritários, em ordem de abundância, os polissacarídeos, lipídios, proteínas, ácidos clorogênicos, minerais e aminoácidos.

Figura 1 - Morfologia do fruto maduro de café



Fonte: Emater-MG – Almanaque do cafeicultor (2021)

O teor destas classes de compostos pode variar dependendo de inúmeros fatores, como a polinização biótica, tipo de plantio, irrigação, altitude, clima e beneficiamento (TOLETO *et al.*, 2017; FERNANDES, 2012; SANTOS, 2015). Estes compostos são responsáveis pela formação da composição volátil do café após o

processo de torração, e desta forma são a principal causa de características organolépticas distintas que influenciam a qualidade final da bebida (TOCI, 2018, MICHISHITA, 2010).

Como compostos bioativos nos grãos de café cru, destacam-se os compostos polifenólicos como os ácidos clorogênicos (ACGs) (Figura 2), e alcaloides como a cafeína (Figura 3) e a trigonelina (Figura 4). No *Coffea arabica* L a concentração dos ACGs varia de 5,5 a 8,0 g 100 g⁻¹ (STELMACK, 2015; TOCI *et al.*, 2006). A cafeína (3,7-diidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6-diona), é o composto mais em evidência no café com concentrações variando de 1,28 a 1,52 g 100 g⁻¹ (KITZBERGER *et al.*, 2013) no *Coffea arabica* L. A trigonelina (1-metilpiridinium-3-carboxilato), outro alcalóide presente nos grãos de *Coffea arabica* L. com concentrações variando de 0,96 a 1,19 g 100 g⁻¹ (KITZBERGER *et al.*, 2013). Os compostos bioativos, tem gerado bastante importância industrial, principalmente nas classes de alimentos, fármacos, produtos de uso medicinal e cosméticos (MELO *et al.*, 2011).

Figura 2 – Fórmulas estruturais dos ácidos clorogênicos. Isômeros: 3-CQA, 4-CQA e 5-CQA; isômeros: 3,4-diCQA, 3,5-diCQA e 4,5-diCQA; 5-FQA.

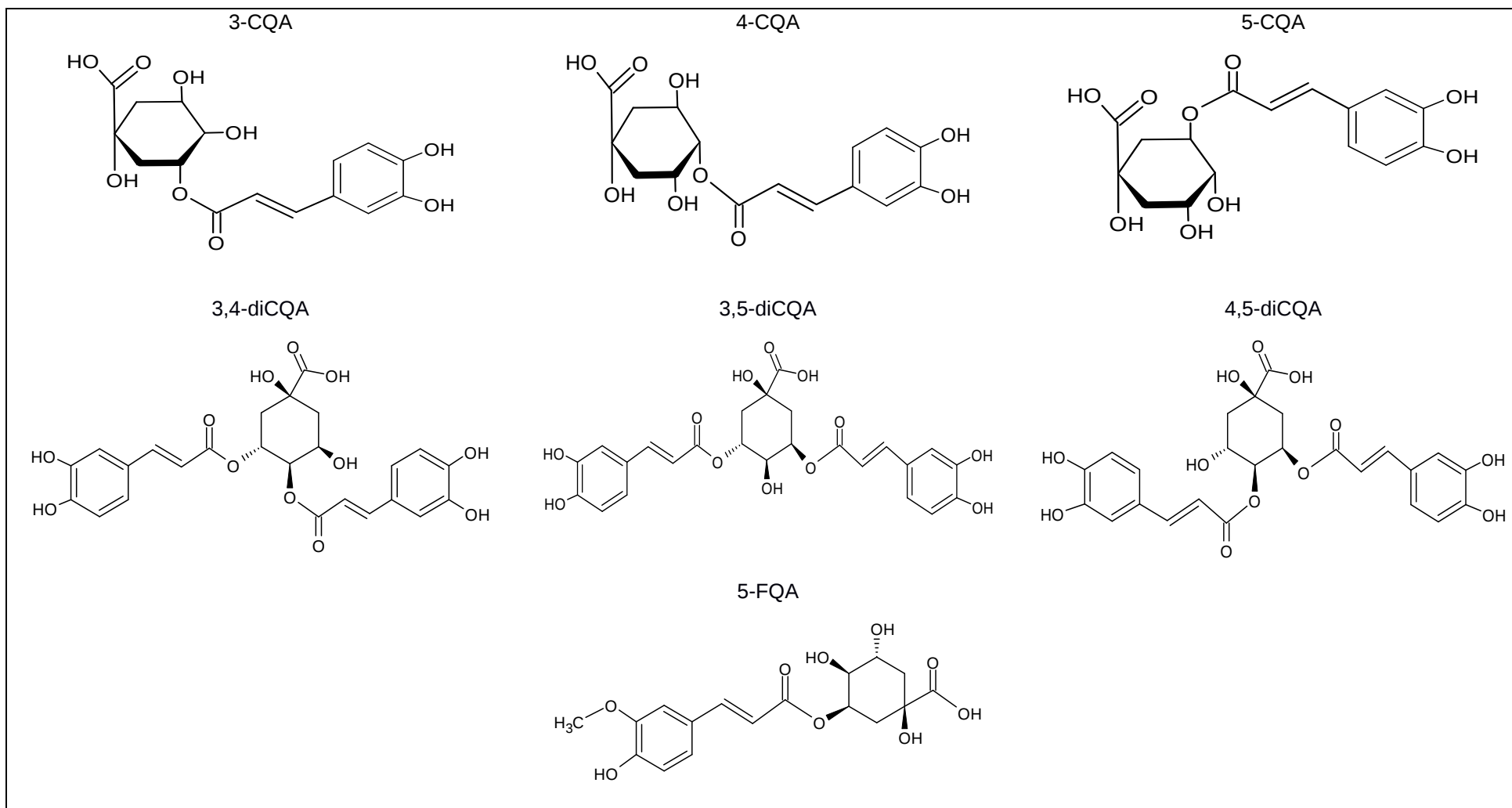
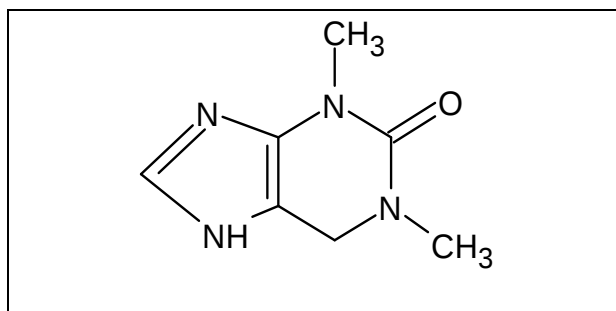
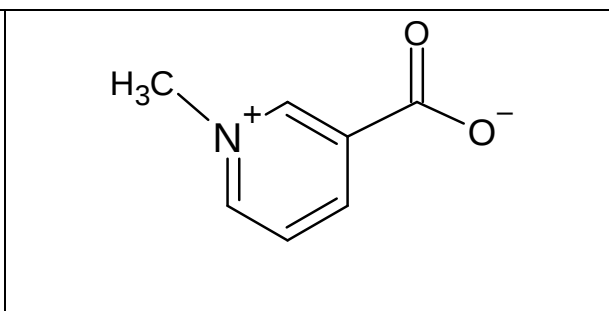


Figura 3 – Fórmula estrutural da Cafeína**Figura 4** – Fórmula estrutural da Trigonelina

Fonte: ACD/ChemSketch – 10/01/2022

Estudos indicam que o consumo de café diminui o risco de desenvolvimento de doenças crônicas devido à diminuição do estresse oxidativo que os ácidos clorogênicos proporcionam, decorrente de sua ação antioxidante e antiinflamatória (NAVEED *et al.*, 2018; LIANG e KITTTS, 2015; HOELZL *et al.*, 2010; MURTHY e NAIDU, 2012, FARAH e LIMA, 2019). Propriedades anti-obesidade e antidiabética também têm sido descritas, e estas estão associadas ao metabolismo da glicose (MENG *et al.*, 2013). Os ACGs derivados do extrato de café cru têm demonstrado eficácia na redução da pressão sanguínea e hipertensão moderada (WAN *et al.*, 2013; FARAH e LIMA, 2019), e estão associados a um conjunto de atividades biológicas como: antibacteriano, antiviral, anti-inflamatório e supressor da metalloproteinase (CHIANG *et al.*, 2011). Seus efeitos antimicrobianos, os tornam adequados como um conservante e aditivo alimentar (FIAMEGOS *et al.*, 2011). Na última década, os compostos polifenólicos têm sido propostos como um dos principais ingredientes funcionais, com propriedades antienvhecimento e capaz de neutralizar os efeitos dos danos causados através da oxidação na pele (RATZ-YKO *et al.*, 2015).

O consumo de café rico em ACG foi associado a um menor risco de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (ONG *et al.*, 2013). Os ácidos clorogênicos constituem os principais e mais abundantes compostos fenólicos que apresentam propriedades antioxidantes no café e consequentemente possuem grande interesse econômico devido à sua degradação que durante a torração, origina pigmentos e compostos voláteis do aroma, como fenol e vinilgualacol (MONTEIRO e TRUGO, 2005).

Os compostos fenólicos, incluindo os ácidos clorogênicos, são geralmente produtos secundários das plantas, sendo assim, são produtos naturais que não possuem função direta nas atividades bioquímicas primárias que promovem o crescimento, desenvolvimento e reprodução no organismo. Os grãos de café crus possuem grande concentração de ácidos clorogênicos comparando com as demais plantas como maçã e erva mate. Isto leva a crer que estes ácidos possuem um papel adicional no controle dos níveis de ácido indol-acético (IAA). É geralmente aceito que o monoidroxifenol ativa a IAA-oxidase e previne o acúmulo de IAA (CLARKE e MACRAE, 1985).

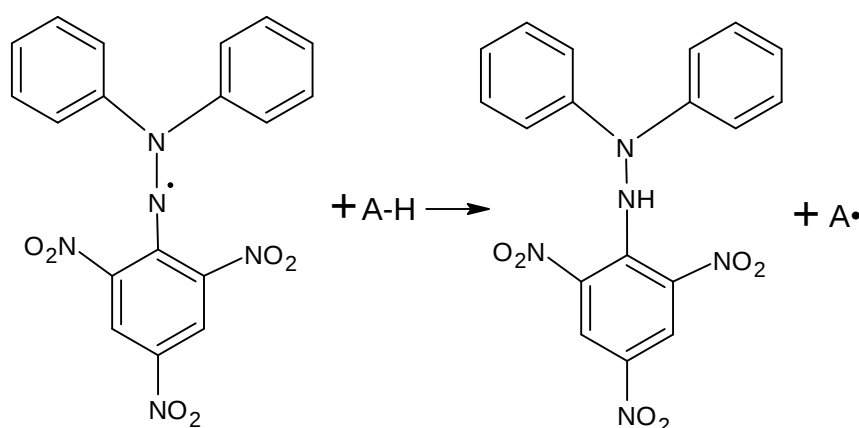
Os alcalóides são compostos que constituem um vasto grupo de metabólitos com grande diversidade estrutural e a cafeína se destaca por apresentar atividade antioxidante expressiva (VIGNOLI, 2011). A cafeína é um estimulante do sistema nervoso central (SNC), da função cardíaca e da circulação sanguínea, é também responsável pela liberação de adrenalina (SANTOS *et al.*, 2015). Possui também ação estimulante respiratória, sendo por isso usada no tratamento da apneia da prematuridade (BATISTUZZO *et al.*, 2011). Esse composto é um fármaco adjuvante quando combinada a analgésicos e anti-inflamatórios e no controle da dor tensional e enxaqueca (VICENTINI *et al.*, 2013).

A trigonelina, outro alcalóide, se degradada quase que completamente após o processo de torração, dependendo do grau de torração aplicado, produzindo uma série de compostos voláteis além da niacina (vitamina B3), fazendo do café um dos únicos alimentos que possui seu valor nutricional aumentado após o processamento térmico (MOREIRA *et al.*, 2000). Durante o processo de torração a trigonelina é degradada em ácido nicotínico e pode ser degradada em alguns compostos voláteis da classe das piridinas (TOCI e FARAH, 2014). A trigonelina possui principal ação na síntese do dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD), fornecendo energia para o desenvolvimento da semente (ASHIHARA, 2006).

2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO CAFÉ

A literatura tem evidenciado que a atividade antioxidante do café e seus subprodutos, potencializam benefícios para a saúde através do consumo diário, como parte da ingestão de alimentos funcionais (FARAH, 2012). Uma das vantagens dos compostos fenólicos é a sua capacidade antioxidante e a sua propriedade redox, propriedades que possibilitam exercer a função de neutralizar radicais livres. Existem métodos que quantificam os polifenóis presentes em determinadas amostras, empregando os ensaios de compostos fenólicos totais, radical DPPH• (Figura 5) e poder de redução (LIMA *et al.*, 2013). O método DPPH• é considerado fácil, altamente sensível, preciso, rápido, simples, econômico e o radical DPPH• não precisa ser gerado e o sistema de reação envolve somente o radical e o antioxidante (KEDARE e SINGH, 2011). É importante determinar o poder de redução de substâncias antioxidantes, ou seja, a capacidade que o composto químico tem de doar elétrons e ser oxidado, pois uma força redutora elevada pode indicar uma elevada atividade antioxidante (BERKER, 2007). O poder redutor está relacionado à capacidade de reduzir Fe^{3+} para Fe^{2+} , antioxidantes que atuam por transferência de hidrogênio (ROGINSKY e LISSI, 2005). Dessa forma, vários segmentos da indústria (cosmética, fármacos, alimentos e bioenergéticas) têm apresentado interesse em explorar este potencial antioxidante no café.

Figura 5 - Estrutura do radical livre estável DPPH•



Fonte: ACD/ChemSketch – 12/01/2022

Além dos ácidos clorogênicos, outros compostos presentes nos grãos de café cru contribuem para formação de compostos voláteis responsáveis pelo *flavor* característico da bebida, além de compostos com atividade biológica variada, como por exemplo a vitamina niacina produzida pela degradação térmica da trigonelina (NOGUEIRA e TRUGO, 2003).

Os compostos fenólicos atuam na formação do sabor e do aroma característicos do café, estando mais concentrados quando seus grãos estão crus. Além disso, possuem vários benefícios à saúde, no combate e na prevenção de doenças crônicas e degenerativas (ABRAHÃO *et al.*, 2010). A bebida do café independente da qualidade sensorial apresentou alto poder redutor e importante atividade sequestrante de radicais livres. A atividade sequestrante de radicais livres foi significativamente superior nas amostras obtidas a partir dos grãos torrados, quando comparados aos extratos dos grãos verdes. Apesar de alguns compostos fenólicos serem destruídos com a torração, participam da reação de Maillard, originando vários produtos e esses produtos também podem apresentar propriedades antioxidantes, com mecanismos de ação que envolvem a quelatação de metais, interrupção de reações em cadeia pela doação de um átomo de hidrogênio, reduzindo hidroperóxidos a produtos não radicalares e captura do radical hidroxil (DAGLIA *et al.*, 2000)

Os compostos mais investigados quanto a atividade antioxidante, entretanto, são a cafeína, que tem comprovados efeitos sobre o humor, desempenho cognitivo e atividade motora; diterpenóides, como o cafestol e o kahweol, presentes principalmente em cafés preparados por decocção e não filtrados, e que podem estar relacionados com o aumento de concentrações séricas de LDL-colesterol 7 e polifenóis, em especial isômeros do ácido clorogênico, com comprovada ação antioxidante (SOUZA e BENASSI, 2012; ALVES *et al.*, 2009)

2.4 EFEITO SUSTENTÁVEL DA POLINIZAÇÃO

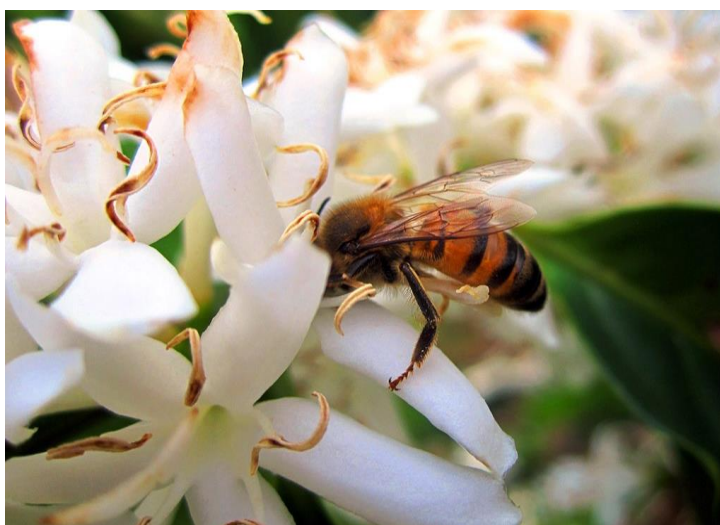
É muito importante e interessante observar que ao mesmo tempo em que as abelhas desempenham um papel importantíssimo para a agricultura, principalmente no sentido de proporcionar avanços significativos na produtividade

das culturas, essa mesma agricultura apresenta muitas ameaças para os insetos polinizadores tais como pelas mudanças no uso da terra, a perda e a fragmentação de habitats, a introdução de organismos exóticos, as práticas agrícolas modernas e uso de pesticidas. Além disso, a remoção de ervas daninhas que fornecem alimento para os polinizadores é outro fator importante no declínio dos polinizadores nativos em agro ecossistemas (STEFFAN-DEWENTER *et al.*, 2005).

A polinização é um dos mecanismos mais importantes para a manutenção da vida no planeta; beneficia a sociedade aumentando a segurança alimentar e promovendo meios de subsistência. Manter polinizadores requer recursos como refúgios de vegetação natural, sendo também necessárias ações concretas para impedir ou mitigar os efeitos do seu declínio.

Quando pensamos em polinizadores (Figura 6) para o café (HIPÓLITO, *et al.*, 2020; MOREAUX, *et al.*, 2022), são as abelhas eussociais que surgem em primeiro lugar (KLEIN *et al.*, 2007), pois são manejáveis, isto é, pode ser feita a colocação de colmeias próximas do plantio. A mais conhecida entre elas é a *Apis mellifera*, atualmente distribuída em todos os continentes, mas existem muitos outros polinizadores silvestres (GIANNINI *et al.*, 2015; KLATT *et al.*, 2014). As abelhas dependem de suas visitas às flores para alimentarem a sua cria (com pólen e néctar coletado nas flores) e obter energia para o voo. Deste modo, abelhas e plantas com flores estão intimamente ligadas.

Figura 6 – Inflorescência de *Coffea arabica* L. sendo visitada por *Apis mellifera*



Fonte: A.B.E.L.H.A (2020)

O café também é uma cultura que se beneficia da polinização (THOMAS e KEVAN, 2012). Há muitas causas do desaparecimento das abelhas do mundo, entre elas são: ameaças as mudanças no uso da terra, a agricultura intensiva, os defensivos agrícolas, as plantas geneticamente ameaçadas, os patógenos, as mudanças globais do clima, as espécies invasoras e uma interação entre todos estes fatores. Os agentes polinizadores são altamente sustentáveis e podem ser afetados por esses fatores (KENNEDY *et al.*, 2013).

3 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da polinização biótica na qualidade do café (*Coffea arabica* L.), por meio do estudo da composição dos compostos bioativos, capacidade antioxidante e composição centesimal.

3.1 OBJETIVO ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da polinização sobre os grãos de cafés com inflorescência sujeita a polinização biótica (P) comparadas com as que ficaram sem polinização biótica (NP) (somente autopolinização) sobre a composição dos compostos bioativos (ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina) e composição centesimal (umidade, proteínas, lipídios e carboidratos).

Avaliar igualmente sobre a composição dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, empregando os métodos de DPPH• e do poder de redução.

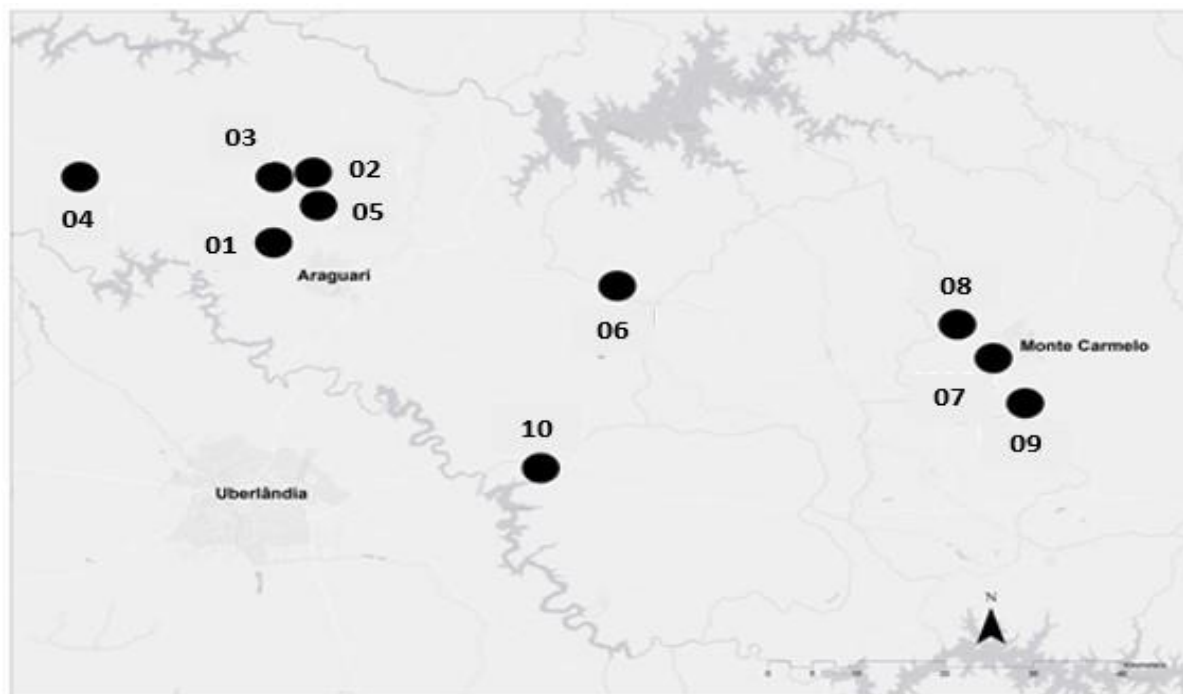
4 METODOLOGIA

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO DE ESTUDO

O estudo foi realizado em dois municípios (Figura 7) na região do Triângulo Mineiro, no estado de Minas Gerais, em 10 áreas de cultivo de café que se destacam pelo tamanho e pela produtividade. A cidade de Monte Carmelo (18° 43' 29" S 47° 29' 55" W) com 890 m de altitude, apresenta temperatura média anual de

metros entre os indivíduos. Os experimentos foram realizados na mesma posição em relação ao Sol a fim de evitar diferenças no grau de insolação (POLTRONIERI e ROSSI, 2016). Cada indivíduo selecionado foi marcado e as coordenadas registradas (Tabela 1). Entre um e cinco dias antes da floração, dois ramos vizinhos em cada arbusto experimental foram selecionados, em torno de 1,5 metros do chão (REIS e ARRUDA, 1956). As localizações denominadas 01, 02, 03, 04 e 05 referem-se à cidade de Araguari e as localizações 06, 07, 08, 09 e 10 referem-se à cidade de Monte Carmelo (Tabela 1).

Figura 8 – Localização das paisagens onde foram realizados os experimentos na região do triângulo mineiro, estado de Minas Gerais, Brasil.



Fonte da imagem: MEIRELES (2019)

Tabela 1 – Coordenadas geográficas das amostras

Código	Cidade	Latitude	Longitude
01	Araguari	-18,6086	-48,2546
02	Araguari	-18,5242	-48,2143
03	Araguari	-18,5295	-48,2537
04	Araguari	-18,5294	-48,4514
05	Araguari	-18,5639	-48,2089
06	Monte Carmelo	-18,6606	-47,9053
07	Monte Carmelo	-18,7477	-47,5230
08	Monte Carmelo	-18,7071	-47,5597
09	Monte Carmelo	-18,8020	-47,4907
10	Monte Carmelo	-18,8802	-47,9831

O total de botões florais em cada ramo foi contado. Cada um dos ramos recebeu aleatoriamente um tratamento diferente: (1º) Em P, onde o ramo permaneceu sem manipulação (neste ramo, todos os visitantes florais tiveram acesso às flores, mas também era possível autopolinização (*Coffea arabica* L. as flores são hermafroditas ou monoicas e a espécie auto compatível e autógama) (KEARNS e INOUE, 1993) (Figura 9); (2º) Em NP, em que o ramo foi ensacado com malha de trama média, e permaneceu fechado até o final do período de floração, excluindo visitantes florais, porém permitindo a autopolinização (Figuras 10 e 11)

Figura 9 – Polinização biótica e autopolinização (P)



Fonte da imagem: MEIRELES (2019)

Figura 10 – Sem polinização biótica e com autopolinização (NP)



Fonte da imagem: MEIRELES (2019)

Figura 11 – Sem polinização biótica e com autopolinização (NP)

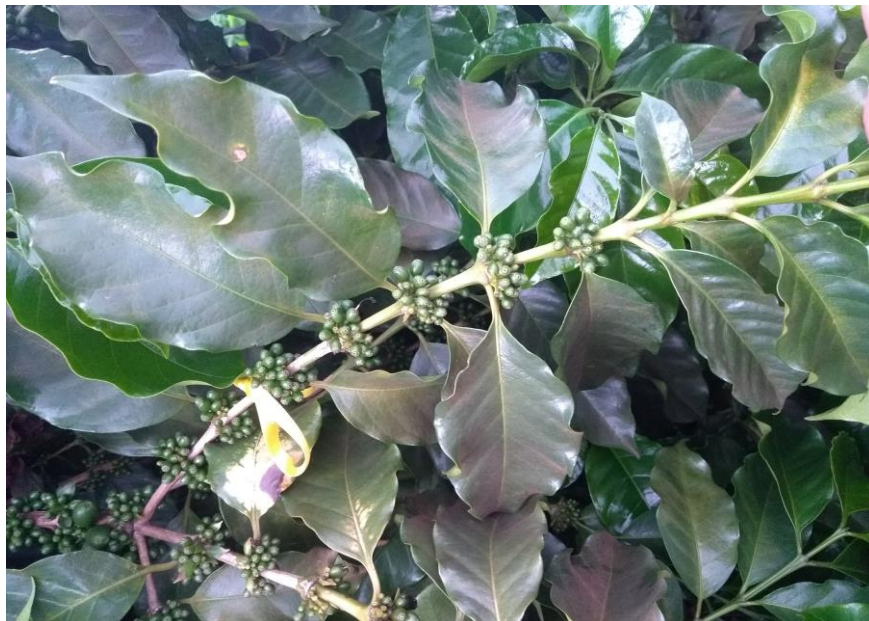


Fonte da imagem: MEIRELES (2019)

4.2 PROCESSAMENTO DOS FRUTOS

Ao fim do ciclo de maturação, o qual é caracterizado pela mudança total da cor verde para vermelho (Figuras 12 e 13), dependendo da variedade (DUBOIS et al., 1956), todos os frutos foram coletados e descascados manualmente. Todas as sementes foram lavadas para remover o integumento e secados em estufa, em camada única de grãos, à 40°C por 72h, virando as amostras em intervalos de aproximadamente 8h a fim de evitar fermentação indevida (Figura 14). Devido a quantidade de amostras produzidas em cada tratamento, foram realizadas amostras compostas de cada fazenda de ambos os tratamentos.

Figura 12 – Fruto do café verde



Fonte da imagem: MEIRELES (2019)

Figura 13 – Fruto do café maduro



Fonte da imagem: MEIRELES (2019)

Figura 14 – Secagem dos grãos de café despulpados



Fonte da imagem: MEIRELES (2019)

Desta forma, obteve-se 20 amostras de grãos crus de *Coffea arabica* L com aproximadamente 100 gramas cada, sendo 10 em P e 10 em NP. As amostras ficaram conservadas em temperatura de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ no Laboratório de Cromatografia da UNILA, localizado no Laboratório Multiusuário Engenheira Enedina Alves Marques (LEAM), sendo submetidas a trituração em nitrogênio líquido (ponto de ebulição $196,15\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 60 segundos para que atingissem granulometria de $500\text{ }\mu\text{m}$, e posteriormente utilizadas nas análises.

4.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

As amostras de café foram caracterizadas quanto à umidade conforme descrito nas normas analíticas da AOAC, nº 15031 (1984), por meio de secagem em estufa (LT 100 CR, Limatec, Brasil) a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ até massa constante, sendo o ensaio realizado em duplicata. Todos os resultados obtidos nos ensaios descritos a seguir, foram expressos em base seca.

O teor de lipídios foi determinado por método gravimétrico (TOCI *et al.*, 2013) com as adaptações descritas a seguir. Uma massa de 2,0 g de amostra

foi pesada em tubo cônico de centrífuga tipo Falcon, seguido da adição de 20 mL de solução diclorometano (CH_2Cl_2 , Reatec, pureza 99,5%): hexano (C_6H_{14} , Labsynth LTDA, pureza 98,5%) a 1:1 (v/v). A mistura foi submetida ao homogeneizador tipo Ultraturrax® (IKA, T25 digital, Darmstadt, Germany) por 3 minutos a 14.000 RPM. O extrato foi filtrado com papel qualitativo e transferido para balão de fundo chato de 250 mL previamente seco e pesado. O solvente foi evaporado a pressão reduzida em rota evaporador a 60 °C. Após secagem em estufa a 105 °C por cerca de 1 hora (até peso constante) o balão foi resfriado a temperatura ambiente e pesado. O teor de lipídeos foi calculado baseado na diferença de massa do balão contendo o extrato e do balão vazio, e expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ (base seca).

O teor de carboidratos totais foi obtido utilizando-se o método descrito por Dubois (1956) e colaboradores. Uma massa de 0,050 g de amostra foi transferida para um erlenmeyer de 125 mL. Adicionou-se 2,0 mL de água destilada para umedecer a amostra. Na sequência transferiu-se 20 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4 , Biotec, pureza 95-98%) 74% (v/v) sob banho de gelo. Após cobrir com papel alumínio, o conteúdo foi aquecido em banho de água a 50 °C durante 30 minutos sob agitação. Após resfriar, transferiu-se a mistura quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL, sendo acrescentado 1,0 mL de cada uma das soluções de Carrez I (21,0 g de acetato de zinco ($(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Labsynth LTDA, pureza 99,5%) cristaliado dissolvido em 3 mL de ácido acético glacial ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$, Dinâmica, pureza 99,7%), completando o volume com para 100 mL de água ultrapura tipo I, com resistividade de 18,2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ obtida do Ultrapurificador (Options-Q, Purelab®) e Carrez II (10,6 g de ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Dinâmica, pureza 99,0%) dissolvido em 100 mL de água ultrapura tipo I). A leitura das amostras foram realizadas em espectrofotômetro (Evolution 201, Thermo Scientific, EUA) com comprimento de onda de 490 nm. A quantificação foi realizada empregando-se curva analítica preparada com soluções de 0,00 mg mL^{-1} ; 0,020 mg mL^{-1} ; 0,040 mg mL^{-1} ; 0,060 mg mL^{-1} ; 0,080 mg mL^{-1} e 0,10 mg mL^{-1} de solução estoque de glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, Reagen, pureza 99,0%) 0,10 mg mL^{-1} . O cálculo do teor de glicídios totais da amostra em base seca, foi expresso em g % (m/m) de glicose.

O teor de proteínas totais foi determinado de acordo com a metodologia estabelecida pela AOAC, nº 15057 (1884), baseado no método de

Kjeldahl. Cerca de 0,20 g de amostra foi pesada diretamente em tubo de digestor, e foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. A mistura foi digerida por cerca de 2 horas a 370°C (digestor modelo, marca). À mistura foi adicionado 15 mL de hidróxido de sódio (NaOH, Neon Comercial LTDA, pureza 98,6%) a 60 % (m/v), e em destilador do tipo Kjeldahl (SL-74, Solab, São Paulo) o nitrogênio mineralizado foi destilado para 30 mL da solução de ácido bórico (H_3BO_3 , Vetec, pureza 99,5%) a 2 % (m/v). O borato de amônio ($(\text{NH}_4)_3\text{BO}_3$) formado foi titulado com solução de ácido clorídrico (HCl, CRQ Produtos Químicos Eireli, pureza 37%) $0,0400 \text{ mol L}^{-1}$. A quantidade de nitrogênio (m/m) na amostra foi calculada e depois convertido para proteína (%), usando o fator 6,25, utilizado para grãos.

4.4. ANÁLISE DA CAFEÍNA E TRIGONELINA

A cafeína (3,7-diidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6-diona) e a trigonelina (1-metilpiridinium-3-carboxilato) foram extraídas segundo Trugo e Macrae (1984), com algumas adaptações. Cerca de 0,20 g da amostra foi pesada utilizando uma balança analítica (ATY 224, Marte Shimadzu, BRASIL), e transferida para um erlenmeyer de 250 mL, juntamente com 50 mL de água ultrapura tipo I à 90°C , sendo a mistura agitada manualmente e deixada em repouso por 5 minutos. O extrato foi filtrado em papel qualitativo e transferido para balão volumétrico de 100 mL. A 5,0 mL desta solução adicionou-se 2,0 mL de solução aquosa saturada de acetato de chumbo básico $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$, Dinâmica, pureza 98,0%) seguido da etapa de centrifugação por 5 minutos a 3.000 RPM. Um volume de 0,50 mL do sobrenadante foi adicionado a um balão volumétrico de 5 mL, e o volume completado com água ultrapura tipo I. Os extratos foram filtrados utilizando um filtro de seringa de (PTFE) $0,22 \mu\text{m}$ (Millipore, São Paulo, Brasil). As extrações foram realizadas em triplicata.

A cafeína e trigonelina foram quantificadas simultaneamente por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), (Dionex Ultimate 3000, Thermo Scientific, EUA), equipado com uma bomba quaternária (LGP-3400SD), um amostrador automático, e um detector de arranjo de diodos (DAD 3000). Foi utilizado um sistema de gradiente com um fluxo constante de 1 mL min^{-1} . Um volume de 100

μL foi injetado a 25 °C. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna ACE 5 C18 (250 mm x 4,6 mm, tamanho da partícula 5 μm , porosidade da partícula 110 Å). O fluxo de eluição foi de 1 mL por minuto de metanol (A) e água ultrapura tipo I (B), conforme descrito por Trugo e Macrae (1984) com adaptações. O gradiente de eluição foi: 5% A (0-3 min), 15% A (3 min), 25% A (3 min), 35% A (3 min) e finalizando com 40% A (3 min). O solvente é continuamente alterado do mais fraco para o mais forte em termos de força eluente, através da adição de mais solvente forte ao solvente mais fraco durante a cromatografia. O DAD registrou os espectros ajustados a 272 nm para cafeína e 265 nm para trigonelina. Adicionalmente avaliou-se a pureza dos picos por meio dos espectros de absorbância. Foram quantificados os teores de cafeína e trigonelina por curva analítica utilizando os padrões analíticos de cafeína ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$, Sigma-Aldrich, pureza 99,50%) e trigonelina ($\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_2$, Sigma-Aldrich, pureza 98,50%). A curva analítica para a quantificação da cafeína variou de 0,50 a 20 mg L^{-1} e para trigonelina de 0,10 a 4 mg L^{-1} . Os resultados foram expressos em mg 100 g^{-1} em base seca.

4.5 ANÁLISE DOS ÁCIDOS CLOROGÊNICOS

Os ácidos clorogênicos (ACG) foram extraídos conforme descrito por Trugo e Macrae (1984) com algumas modificações. Cerca de 0,125 g de amostra foi pesada utilizando uma balança analítica em um erlenmeyer de 100 mL. Adicionou-se 15 mL de solução aquosa de metanol (CH_3OH , Dinâmica, pureza: 99,8%) a 40% (v/v) para extração. A amostra foi deixada sob agitação por 15 min em agitador magnético em rotação. O extrato foi filtrado em papel qualitativo e transferido para balão volumétrico de 25 mL, onde adicionou-se 0,25 mL de solução de Carrez I e II. Os extratos foram filtrados através de um filtro de seringa de (PTFE) 0,22 μm (Millipore, São Paulo, Brazil). As extrações foram realizadas em triplicata.

Os ácidos clorogênicos foram quantificados no mesmo equipamento cromatográfico (CLAE-DAD) utilizado para a determinação de cafeína e trigonelina. Foi utilizado um sistema de gradiente com um fluxo constante foi de 1 mL min^{-1} . Um volume de 100 μL foi injetado a 25 °C. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna ACE 5 C18 (250 mm x 4,6 mm, tamanho da partícula 5 μm ,

porosidade da partícula 110 Å). A fase móvel foi composta de solução de tampão de citrato trissódico 0,010 mol L⁻¹ com pH ajustado em 2,5 (fase móvel A) e metanol (fase móvel B). As condições de eluição foram as seguintes: 100 % B (0-19 min); de 100% a 80% B (10 min); de 80% a 40% (10 min). O DAD registrou os espectros de 200 a 400 nm e a quantificação foi realizada utilizando o comprimento de onda de 325 nm. A quantificação foi realizada empregando-se o ácido cafeoilquínico ou 5-CQA (C₁₆H₁₈O₉, Sigma-Aldrich, pureza 99,0%) e os respectivos coeficientes de extinção molar (ε), obtidos na literatura, de acordo com a equação 1 (Trugo e Macrae, 1984).

$$C = \frac{RF \times \varepsilon_1 \times m_{R2} \times A}{\varepsilon_2 \times m_{R1}} \quad (1)$$

Em que:

RF – Fator de resposta estabelecido para o 5-CQA

ε₁ - Absortividade molar do 5-CQA

ε₂ - Absortividade molar do isômero avaliado

Mr₁ – Massa molecular relativa do 5-CQA

Mr₂ – Massa molecular relativa do isômero avaliado

A – Área do isômero avaliado

Os isômeros identificados foram os ácidos cafeoilquínicos: 3-CQA ou ácido 3-O-cafeoilquínico, 4-CQA ou ácido 4-O-cafeoilquínico e 5-CQA ou ácido 5-O-cafeoilquínico; ácido feruloilquínico: 5-FQA ou ácido 5-O-feruloilquínico e ácidos dicafeoilquínicos: 3,4-diCQA ou ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico, 3,5-diCQA ou ácido 3,5-di-O-cafeoilquínico e 4,5-diCQA ou ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico) (TRUGO e MACRAE, 1984; FARAH e LIMA, 2018).

4.6 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Para a análise de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante empregou-se os extratos preparados a partir de 1,0 g de cada amostra de café cru em 20 mL de água como solvente a 80 °C em um tubo de vidro sob agitação magnética por 30 minutos (GIGLIOBIANCO et al., 2020). O extrato foi

filtrado em um funil de Buchner em um kitassato sob vácuo, utilizando papel de filtro quantitativo.

Os fenólicos totais no extrato de café foram determinados de acordo com Singleton e Rossi (1965) com as modificações descritas em Boroski et al., (2015). Em um tubo de centrífuga tipo falcon foram adicionados 250 µL da amostra, 250 µL de reagente de Folin-Ciocalteu (Imbralab – Química e Farmacêutica LTDA) (1:1 v/v) em água destilada, 500 µL de solução saturada de carbonato de sódio (Na₂CO₃, Dinâmica, pureza 99,5%) e 4,0 mL de água destilada, os quais foram misturados e deixados ao abrigo da luz, a temperatura ambiente (25 °C) por 25 minutos. Após centrifugação por 10 minutos, a absorbância foi lida a 725 nm em espectrofotômetro. As análises foram realizadas em triplicata. A curva padrão foi preparada usando ácido gálico (C₇H₆O₅.H₂O, Neon LTDA, pureza: 99,4%) nas concentrações de 25 a 125 mg L⁻¹, e os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de café em base seca (mg 100 g⁻¹).

A atividade antioxidante foi estudada através da avaliação de seu efeito de desoxidação livre sobre o radical DPPH• (C₁₈H₁₇N₅O₄, Sigma–Aldrich, pureza 99,0%) baseado no método proposto por El-Massry, El-Ghorab e Farouk (2002) com as modificações descritas em Boroski et al. (2015). Nesse procedimento, foram pipetados volumes iniciais da solução do extrato da amostra (2,0 mg mL⁻¹) de 25, 50, 75 e 100 µL nas cubetas, em triplicata. Ao abrigo da luz, adicionou-se 2,0 mL da solução metanólica do radical DPPH• a 0,1192 mmol L⁻¹ foi preparada em metanol, homogeneizado manualmente e aguardado 30 minutos para a leitura da absorbância com comprimento de onda de 517 nm contra o branco (metanol). Foi realizado a leitura da absorbância da solução metanólica do radical DPPH•. Os resultados foram expressos como µg mL⁻¹ de café base seca que fornece 50% de inibição (IC₅₀) inibição de DPPH•. Para a determinação dos resultados de IC₅₀, inicialmente calculou-se a inibição do DPPH (% inibição DPPH) empregando a equação 2.

$$\% \text{ Inibição DPPH}^{\bullet} = \frac{(\text{Abs}_{\text{DPPH}^{\bullet}} - \text{Abs}_{\text{amostra}})}{\text{Abs}_{\text{DPPH}^{\bullet}}} \times 100 \quad (2)$$

onde:

Abs_{DPPH•} = absorbância da solução metanólica do radical DPPH•;

$Abs_{amostra}$ = absorvância da amostra após 30 minutos de reação com solução de DPPH•.

Na sequência, uma curva dos valores da % de inibição do DPPH• em função do volume do extrato foi construída. O valor de IC_{50} foi obtido por meio de regressão linear.

A avaliação do poder de redução foi realizada de acordo com Oyaizu (1986) com adaptações por Boroski *et al.* (2015). O preparo da curva analítica foi realizado em tubos de ensaio. Iniciando com o branco, foi pipetado 1,0 mL de água destilada, 2,5 mL de tampão de fosfato de potássio (KH_2PO_4 ; Neon Comercial LTDA, pureza: 98,8%) a 50 mmol L^{-1} , que teve o pH previamente ajustado com pHmetro para 7,00 utilizando uma solução tampão (pHmetro mPA210, MS TECNOPON). A esta mistura adicionou-se 2,50 mL de ferricianeto de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$, Vetec Química Fina, pureza: 99,00%) a 1% (m/v). O tubo de ensaio foi colocado em banho de aquecimento a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 minutos. Adicionou-se 2,50 mL de solução de ácido de tricloroacético (CCl_3COOH , Neon Comercial LTDA, pureza: 99,00%) a 10,0% (m/v). A mistura foi centrifugada a 3.000 RPM por 10 minutos. Transferiu-se 2,50 mL do sobrenadante e adicionou-se 2,50 mL de água destilada e 0,50 mL de solução de cloreto de ferro hexahidratado ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$, Vetec Química Fina, pureza: 97,0%) a 0,10% (m/v).

Para construção da curva analítica, adicionou-se 1,0 mL da solução de ácido gálico ($C_7H_6O_5 \cdot H_2O$, Neon Comercial LTDA pureza: 99,40%;) nas concentrações de 25,0 a 60,0 mg L^{-1} . A leitura foi feita imediatamente no espectrofotômetro UV-Vis a 700 nm.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com a finalidade de realizar a comparação de médias obtidas das análises, entre as amostras em P e NP na cidade de Araguari (amostras 01, 02, 03, 04 e 05) e Monte Carmelo (amostras 06, 07, 08, 09 e 10), foi utilizado o teste Tukey, com 95% de confiança, sendo considerado diferenças significativas um $p\text{-valor} \leq 0,05$.

Adicionalmente, os resultados obtidos para P e NP foram avaliados por meio de abordagem quimiométrica empregando-se a Análise de

Componentes Principais (PCA) para identificar qual parâmetro (variável) que promoveu uma diferenciação entre P e NP, considerando todo o conjunto dos resultados. O procedimento iniciou-se com a organização dos dados em matrizes. Assim, os resultados químicos para P e NP foram concatenados em duas matrizes, considerando (em cada matriz) a composição centesimal: umidade, lipídios, carboidratos totais e proteínas; cafeína e trigonelina; ácidos clorogênicos; fenólicos totais e capacidade antioxidante. De cada matriz foi aplicado um PCA, com pré-processamento em escala automática, usando Matlab R2007b e PLS-Toolbox 5.2. A partir do PCA, uma matriz é decomposta em um produto de duas matrizes, uma matriz de pontuação (relacionada às diferenças ou semelhanças das amostras) e uma matriz de carga (relacionada às variáveis responsáveis pelo padrão de pontuação). O algoritmo utilizado neste estudo foi desenvolvido e codificado para Matlab por Dominique Bertrand e apresentado passo a passo por Jouan-Rimbaud Bouveresse *et al.* (2011).

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Os teores de umidade das amostras ficaram compreendidos entre 7,60 e 9,93 g 100 g⁻¹ (Tabela 2), valores estes de acordo com outros autores (KOBLOITZ, 2011; MULLER *et al.*, 2013) e dentro da faixa recomendada pela Instrução Normativa nº 8 do Ministério da Agricultura (Brasil, 2003), que estabelece que o teor de umidade do café beneficiado cru com um máximo de 12,5 % (BEE *et al.*, 2005; Brasil, 2003). Valores de umidade acima de 12,5 % impedem a germinação e evitam a proliferação de microrganismos, fazendo com que os grãos não conservem suas características por mais tempo.

Analisando os perfis de lipídeos (Tabela 2), os teores variam de 7,49 a 14,5 g 100 g⁻¹. As amostras em NP apresentaram teores médios superior de 12,25 g 100 g⁻¹ em relação a P que foi de 10,9 g 100 g⁻¹ em base seca (*p*-valor ≤ 0,05). Os teores obtidos estão dentro das faixas encontradas em outros estudos: 7,7 a 17,7 g 100 g⁻¹ e 12,0 a 14,4 g 100 g⁻¹ de lipídeos, respectivamente (TSUKUI *et al.*, 2014; KITZBERGER *et al.*, 2013).

Com relação ao teor de carboidratos (Tabela 2), estes variaram de 40,5 e 61,5 g 100 g⁻¹. As amostras em NP apresentaram uma média superior de 57,5 g 100 g⁻¹ em comparação as amostras em P que apresentaram uma média de 48,9 g 100 g⁻¹ em café base seca ($p\text{-valor} \leq 0,05$). Os teores estão próximos das faixas encontradas em outros estudos, de 46,0 a 53,0 g 100 g⁻¹ e 47,8 g 100 g⁻¹ de carboidratos, respectivamente. (TSUKUI *et al.*, 2014; KITZBERGER *et al.*, 2013).

Com relação as proteínas totais (Tabela 2), os teores variaram de 14,8 a 18,2 g 100 g⁻¹ ($p\text{-valor} \leq 0,05$). Os teores estão dentro das faixas encontradas em outras literaturas, de 8,5 a 12,0 g 100 g⁻¹ e 16,1 a 18,0 g 100 g⁻¹ de proteínas, respectivamente. (TSUKUI *et al.*, 2014; KITZBERGER *et al.*, 2013). Seguindo a mesma tendência observada para lipídeos e carboidratos, as amostras em NP apresentaram média superior de 16,2 g 100 g⁻¹ em relação as amostras em P que foram de 15,8 g 100 g⁻¹ em café base seca ($p\text{-valor} \leq 0,05$).

Tabela 2 – Composição centesimal (g 100 g⁻¹ em base seca) de grãos crus de *Coffea arabica* L

Amostra	Umidade		Lipídeos		Carboidratos totais		Proteínas	
	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP
01	8,88 ± 0,17	9,45 ± 0,79	9,53 ± 0,12	8,46 ± 0,75	51,90 ± 0,45	59,60 ± 0,41	17,00 ± 0,29	15,50 ± 0,10
02	9,02 ± 0,04	9,33 ± 0,07	7,49 ± 0,17	12,70 ± 1,29	51,10 ± 1,52	52,00 ± 3,48	14,80 ± 0,16	16,00 ± 0,48
03	9,93 ± 1,02	9,73 ± 0,03	13,50 ± 0,66	14,20 ± 0,29	40,50 ± 3,40	54,30 ± 2,43	15,40 ± 0,24	16,20 ± 0,32
04	9,00 ± 0,15	8,77 ± 0,01	8,51 ± 0,55	13,50 ± 1,58	49,90 ± 5,58	49,20 ± 1,35	15,60 ± 0,38	15,80 ± 0,07
05	8,12 ± 1,43	8,76 ± 0,11	9,73 ± 0,38	10,90 ± 0,77	54,40 ± 1,42	45,70 ± 1,38	15,50 ± 0,64	15,30 ± 0,24
06	8,74 ± 0,01	9,05 ± 0,03	12,00 ± 1,00	10,90 ± 0,53	53,20 ± 2,99	53,00 ± 3,59	16,40 ± 0,27	16,40 ± 0,32
07	8,64 ± 0,15	9,73 ± 0,03	10,90 ± 1,13	9,99 ± 1,03	46,00 ± 3,29	52,10 ± 1,76	15,70 ± 0,66	16,40 ± 0,23
08	7,60 ± 0,01	9,73 ± 0,03	12,20 ± 0,31	9,83 ± 0,67	49,10 ± 2,63	51,70 ± 2,73	16,70 ± 0,36	17,00 ± 0,57
09	8,12 ± 0,01	9,16 ± 0,04	10,80 ± 0,80	12,60 ± 1,13	45,10 ± 3,44	61,50 ± 3,76	16,00 ± 0,09	18,20 ± 0,06
10	7,93 ± 1,15	7,45 ± 0,24	14,50 ± 0,96	9,13 ± 1,20	47,90 ± 0,96	46,70 ± 0,21	16,60 ± 0,22	16,20 ± 0,24
Média	8,69 ± 0,41	9,24 ± 0,13	10,90 ± 0,60	12,25 ± 1,70	48,90 ± 2,56	57,50 ± 2,73	15,80 ± 0,33	16,20 ± 0,76

P: com polinização. NP: sem polinização. Os valores são representados como média ± desvio padrão de três repetições, com exceção da análise de umidade, realizada em duplicata.

6.2 COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

6.2.1. Cafeína e Trigonelina

Nas amostras, os teores de cafeína variaram entre 0,85 e 1,16 g 100 g⁻¹ (Tabela 3), e foram superiores em P ($p\text{-valor} \leq 0,05$). Os teores estão em concordância com os valores relatados na literatura para grãos crus de café que variam de 1,00 a 1,54 g 100 g⁻¹ (CLEMENTE *et al.*, 2018; BEE *et al.*, 2005; DURÁN *et al.*, 2017). Observou-se que a concentração de cafeína nas amostras P, foram em média 2,97% superiores às amostras NP. Das amostras com P, 7 apresentaram teores que variam de 3,0% a 12,62%, acima dos valores obtidos em NP ($p\text{-valor} \leq 0,05$). Tais resultados indicam que grãos polinizados podem possuir maior proteção ao ataque de agentes externos.

Os níveis de trigonelina apresentaram teores que variaram de 0,76 a 0,96 g 100 g⁻¹ ($p\text{-valor} \leq 0,05$) (Tabela 3), e apresentam valores superiores em P. Esses valores apresentam proximidade com os encontrados em outros estudos que variam de 0,60 a 2,90 g 100 g⁻¹ para *Coffea arabica* L. (CLEMENTE *et al.*, 2018; KITZBERGER *et al.*, 2013; MAZZAFERA, 1991). Das 5 amostras com valores significativamente diferentes de trigonelina, 4 apresentaram teores que variam entre 4,0 a 12,0% ($p\text{-valor} \leq 0,05$) maiores nas amostras P sendo todas da cidade de Araguari, denominadas 01, 02, 03 e 04 (variando de 0,86 a 0,96 g 100 g⁻¹), o que pode indicar que estas sementes estão mais aptas para a germinação. Estas mesmas amostras também apresentaram valores de cafeína superiores nas amostras P, como mencionado. A cafeína (3,7-diidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6-diona) e a trigonelina (1-metilpiridin-1-ium-3-carboxilato), são os dois alcaloides de maior importância nos grãos de café. A cafeína também é termoestável e, por isso, é uma das principais responsáveis pelo amargor da bebida. Sabe-se que os alcalóides possuem duas atuações fisiológicas principais nas plantas, nos órgãos reprodutivos (flores e sementes) e em unidades de dispersão (os diásporos). A cafeína nas sementes do café apresenta a função de proteção contra fungos, insetos, bactérias, nematoides, e impede o crescimento de outras plantas ao lado das sementes em germinação, ou seja, a cafeína possui o papel protetivo, ajudando o indivíduo a sobreviver (BAUMANN, 2006).

Desta forma, tais resultados indicam que os grãos em P quando torrados poderão possuir maiores conteúdos de vitamina B3 e outros compostos voláteis. A trigonelina possui principal ação na síntese do dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD), fornecendo energia para o desenvolvimento da semente (TOCI e BOLDRIN, 2018).

Tabela 3 – Teores de cafeína e trigonelina ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ em base seca) de grãos crus de *Coffea arabica* L.

Amostras	Cafeína		Trigonelina	
	P	NP	P	NP
01	$1,08 \pm 0,01$	$1,01 \pm 0,03$	$0,86 \pm 0,01$	$0,76 \pm 0,03$
02	$0,96 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,02$	$0,89 \pm 0,01$	$0,84 \pm 0,01$
03	$1,16 \pm 0,01$	$1,12 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,01$	$0,88 \pm 0,01$
04	$0,99 \pm 0,01$	$0,91 \pm 0,01$	$0,90 \pm 0,01$	$0,86 \pm 0,01$
05	$1,00 \pm 0,01$	$0,97 \pm 0,03$	$0,87 \pm 0,01$	$0,88 \pm 0,01$
06	$1,03 \pm 0,01$	$0,90 \pm 0,03$	$0,86 \pm 0,01$	$0,81 \pm 0,06$
07	$1,06 \pm 0,01$	$0,98 \pm 0,01$	$0,86 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,01$
08	$1,05 \pm 0,02$	$1,05 \pm 0,01$	$0,89 \pm 0,01$	$0,89 \pm 0,02$
09	$0,95 \pm 0,01$	$1,11 \pm 0,02$	$0,87 \pm 0,02$	$0,89 \pm 0,02$
10	$0,97 \pm 0,01$	$1,03 \pm 0,05$	$0,83 \pm 0,02$	$0,88 \pm 0,02$
Média	$1,01 \pm 0,01$	$0,98 \pm 0,03$	$0,87 \pm 0,01$	$0,87 \pm 0,02$

P: com polinização. NP: Sem polinização. Os valores são representados como média $\pm$ desvio padrão de três repetições.

6.2.2 Ácidos clorogênicos

Os grãos de cafés P, apresentaram um teor de ACG total significativamente maior de $4,96 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, enquanto as amostras em NP um teor total de $4,66 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ($p\text{-valor} \leq 0,05$). Isso equivale a uma variação geral de 6,05 % a mais em P com relação a NP.

Foram analisados e quantificados, sete isômeros de ácidos clorogênicos (ACG) (Tabela 4). Os teores totais de ACG das amostras estão entre $4,35$ e $5,43 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ($p\text{-valor} \leq 0,05$), de acordo com outros estudos que relatam variações de $3,22$ a $7,24 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ (NARITA e INOUE, 2015; CRAIG, 2016). Os níveis médios de todas as 20 amostras divididos por grupos foram: isômeros 3, 4 e 5-CQAs totalizam $3,96 \pm 0,03 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, seguido por 3,4, 3,5 e 3,4-diCQAs com $0,50 \pm 0,01 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e 5-FQA com $0,33 \pm 0,02 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$.

Esses grupos representam 82,34%, 10,41% e 6,87% dos níveis totais médios de CGA $4,81 \pm 0,02 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente.

Na cidade de Araguari o teor de ACG foi de $5,06 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ enquanto na cidade de Monte Carmelo o teor foi de $4,85 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ($p\text{-valor} \leq 0,05$), apresentando uma variação superior entre as cidades de 4,11%. A cidade de Araguari apresenta maior pluviosidade anual média de 1566 mm e maior altitude de 1013 m acima do nível do mar, comparado com Monte Carmelo com precipitação média anual de 1444 mm e 890 m de altitude e ambas apresentam temperatura média de $21,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$. A produção de café em altitudes mais elevadas resulta em cafés de melhor qualidade (BARBOSA *et al.*, 2012). O *Coffea arabica* L. é colhido em maiores altitudes. Nas temperaturas mais baixas acabam provocando o adiamento do processo de amadurecimento dos frutos e isso faz com que ocorra mais transformações químicas nos grãos, produzindo mais açúcares, ácidos e aminoácidos, acarretando as características favoráveis e melhor qualidade da bebida (VAAST *et al.*, 2006).

Baseado nos resultados superiores das amostras em P de ácidos clorogênicos, evidencia-se sua aplicabilidade, pois possuem diversas atividades biológicas. Um estudo verificou que o 5-CQA suprimiu as espécies reativas de oxigênio e aumentou a expressão dos genes (*Forkhead box protein*), onde essas proteínas regulam os genes envolvidos no crescimento e na proliferação, diferenciação e longevidade celular (XU *et al.*, 2012). Tanto o ácido cafeico quanto o 5-CQA são conhecidos por terem atividades multivirais contra o vírus Herpes simplex (HSV) tipos 1 e 2 (KHAN *et al.*, 2005) e vírus HIV (TAMURA *et al.*, 2006). Foi verificada atividade antiviral do 3-CQA, 4-CQA e 5-CQA contra o vírus Ebola (ESPOSITO *et al.*, 2013; PLESKO *et al.*, 2015). No cólon, por exemplo, o 5-CQA pode inativar os radicais livres reativos da dieta e, como resultado, ajudar a prevenir o câncer de cólon (LUDWIG *et al.*, 2014).

Os ACGs exercem propriedades antioxidantes e antiinflamatórias, por isso são promissores para prevenir e ajudar a combater a síndrome metabólica (FARAH e LIMA, 2018; TAJIK *et al.*, 2017; MONTEIRO, 2010). Após o consumo, pequenas quantidades de ACG são absorvidas no intestino delgado, onde inibe a absorção de glicose dependente de Na^+ e

aumenta a liberação de polipeptídeo inibitório gástrico, um hormônio intestinal conhecido por potenciar a secreção de insulina, e existem efeitos observados também no fígado, onde o CGA reduz a produção de glicose hepática líquida através da inibição de glicose-6-fosfatase. O ACG que permanece no intestino pode ser metabolizado no cólon (TUNNICLIFFE *et al.*, 2015). Alguns estudos chegaram à conclusão de que o consumo diário de 3 a 4 xícaras de café por dia pode exercer efeitos na saúde, reduzindo o dano oxidativo, diminuindo a massa de gordura corporal e aumentando a absorção de nutrientes (BAKURADZE *et al.*, 2011; HUXLEY *et al.*, 2009).

Tabela 4 – Teores de ácidos clorogênicos (g 100 g⁻¹ em base seca) de grãos crus de *Coffea arabica* L.

Amostra	3-CQA		4-CQA		5-CQA		5-FQA		3,4-diCQA		3,5-diCQA		4,5-diCQA		Média	
	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP
01	0,71 ± 0,03	0,61 ± 0,02	0,45 ± 0,01	0,35 ± 0,01	3,25 ± 0,01	3,00 ± 0,06	0,44 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,10 ± 0,06	0,10 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01	5,27	4,81
02	0,63 ± 0,02	0,78 ± 0,02	0,47 ± 0,01	0,41 ± 0,02	2,77 ± 0,03	2,65 ± 0,11	0,30 ± 0,01	0,30 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,01	4,67	4,57
03	0,66 ± 0,01	0,62 ± 0,05	0,43 ± 0,02	0,45 ± 0,02	3,45 ± 0,14	3,04 ± 0,07	0,34 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01	5,43	5,04
04	0,70 ± 0,01	0,65 ± 0,01	0,41 ± 0,03	0,49 ± 0,03	2,96 ± 0,21	3,17 ± 0,16	0,31 ± 0,03	0,31 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,17 ± 0,01	4,85	5,21
05	0,70 ± 0,01	0,68 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,34 ± 0,01	3,11 ± 0,08	2,75 ± 0,08	0,35 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,12 ± 0,01	5,11	4,54
06	0,74 ± 0,02	0,73 ± 0,02	0,36 ± 0,01	0,37 ± 0,01	2,68 ± 0,07	2,83 ± 0,07	0,31 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,01	4,59	4,71
07	0,78 ± 0,02	0,79 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,42 ± 0,01	2,97 ± 0,11	2,69 ± 0,06	0,34 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,24 ± 0,04	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01	4,94	4,62
08	0,77 ± 0,01	0,78 ± 0,02	0,40 ± 0,01	0,34 ± 0,05	2,96 ± 0,02	2,66 ± 0,40	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,04	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,29 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,12 ± 0,02	4,99	4,60
09	0,69 ± 0,09	0,68 ± 0,04	0,34 ± 0,01	0,36 ± 0,05	3,11 ± 0,01	3,22 ± 0,13	0,32 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,24 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01	4,98	5,16
10	0,69 ± 0,01	0,65 ± 0,04	0,44 ± 0,01	0,34 ± 0,02	2,77 ± 0,03	2,56 ± 0,16	0,33 ± 0,01	0,29 ± 0,03	0,16 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,01	4,76	4,35
Média	0,70 ± 0,01	0,68 ± 0,02	0,41 ± 0,01	0,37 ± 0,02	2,97 ± 0,05	2,79 ± 0,10	0,33 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,01	4,96	4,66

P: com polinização. NP: sem polinização. Os valores são representados como média ± desvio padrão de três repetições.

6.2.3 Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante

Nas amostras analisadas houve uma variação entre 2,77 mg e 3,54 mg 100 g⁻¹ no conteúdo de compostos fenólicos totais (Tabela 5). Os valores encontrados nas amostras analisadas foram próximos aos obtidos por Kitzberger (2013) que foi entre 4,55 a 5,33 mg 100 g⁻¹. Outros trabalhos obtiveram valores médios menores, de 3,10 mg 100 g⁻¹ (CHEONG et al., 2013) e 2,84 mg 100 g⁻¹ (STELMACH, 2015). Alguns compostos fenólicos estão presentes entre os metabólitos secundários das plantas, adaptados a algumas condições ambientais (FARAH & DONANGELO, 2006).

Na análise de DPPH• a média do IC₅₀ foi de 25,22 ± 1,71 µL mL⁻¹ em P e de 27,68 ± 1,51 µL mL⁻¹ em NP, apresentando uma variação média de 8,80% (p-valor ≤ 0,05). Na análise de DPPH•, quanto menor o volume necessário para inibir 50% do DPPH•, maior a capacidade antioxidante da amostra. Analisando outras literaturas em relação ao DPPH•, foram encontrados resultados aproximados de 30,4 ± 0,40 µL mL⁻¹ (GARCIA E BIANCHI, 2015).

Com relação ao ensaio do poder de redução de ferricianeto, a média dos valores em P, 4,04 ± 2,02 mg 100 g⁻¹, foram superiores quando comparado com NP 3,97 ± 2,83 mg 100 g⁻¹ (p-valor ≤ 0,05). Neste caso é muito provável que essa diferença se deva ao maior teor de cafeína e ácidos clorogênicos (LIMA et al., 2010).

Os procedimentos experimentais, embora a maioria consista em seguir espectroscopicamente uma reação entre espécies de radicais livres geradas uma molécula alvo, também existem, por exemplo, aquelas baseadas em saídas de sinal eletroquímico. Evidentemente, diferentes mecanismos, dependendo das condições experimentais, determinam o resultado geral, e o bom correlação entre dados experimentais e teóricos depende, portanto, da natureza dos parâmetros tomados em consideração (GIACOMELLI et al., 2013).

A alta atividade antioxidante desses compostos é devida a presença de grupos di-ativos (OH ou NH₂) em sua estrutura molecular. Esta característica da estrutura tem a capacidade de formar uma ligação intramolecular de hidrogênio (iHB). O átomo H que não está envolvido nesta ligação será então

abstraído pelos radicais livres, resultando em um radical fenoxídico estável. (BENDARY *et al.*, 2013)

Os compostos fenólicos são conhecidos como poderosos quebras de cadeia antioxidantes. Os fenóis são constituintes muito importantes das plantas devido à sua capacidade de absorção devido aos seus grupos hidroxil e pode contribuir diretamente para a ação antioxidante. Sugere-se que os compostos polifenólicos têm efeitos inibitórios sobre mutagênese e carcinogênese em humanos (SAWANT *et al.*, 2009).

Tabela 5 – Capacidade antioxidante e compostos fenólicos em grão de café (base seca) cru de *Coffea arabica* L.

Amostras	Fenólicos Totais (mg 100 g ⁻¹)		DPPH IC ₅₀ (μg mL ⁻¹)		Poder de Redução (mg 100 g ⁻¹ FeSO ₄)	
	P	NP	P	NP	P	NP
01	3,54 ± 0,05	3,34 ± 0,03	23,88 ± 0,58	25,28 ± 1,52	3,95 ± 0,23	4,01 ± 0,85
02	2,77 ± 0,12	2,90 ± 0,07	23,09 ± 1,48	20,49 ± 0,77	4,67 ± 0,38	3,91 ± 0,22
03	3,29 ± 0,13	3,32 ± 0,03	21,46 ± 2,76	25,29 ± 0,88	4,46 ± 0,14	4,14 ± 0,64
04	3,12 ± 0,08	3,10 ± 0,04	24,60 ± 1,95	25,98 ± 0,98	4,03 ± 0,36	4,38 ± 0,21
05	3,24 ± 0,02	3,13 ± 0,01	29,88 ± 0,38	34,97 ± 0,91	3,89 ± 0,07	3,62 ± 0,11
06	3,04 ± 0,17	3,13 ± 0,01	27,99 ± 1,10	31,34 ± 3,45	3,84 ± 0,14	3,89 ± 0,11
07	3,03 ± 0,13	3,12 ± 0,02	28,56 ± 1,90	32,68 ± 1,65	4,00 ± 0,18	3,97 ± 0,13
08	2,98 ± 0,05	3,14 ± 0,02	27,49 ± 1,51	27,80 ± 1,64	3,80 ± 0,23	3,74 ± 0,15
09	3,07 ± 0,08	3,31 ± 0,02	17,97 ± 4,65	24,85 ± 2,60	3,99 ± 0,28	4,26 ± 0,24
10	3,19 ± 0,10	3,12 ± 0,06	27,31 ± 0,73	28,15 ± 0,69	3,76 ± 0,01	3,82 ± 0,17
Média	3,09 ± 0,09	3,13 ± 0,03	25,22 ± 1,71	27,68 ± 1,51	4,04 ± 2,02	3,97 ± 2,83

P: com polinização. NP: sem polinização. Os valores são representados como média ± desvio padrão de três repetições.

7 AVALIAÇÃO QUIMIOMÉTRICA E ESTATÍSTICAS

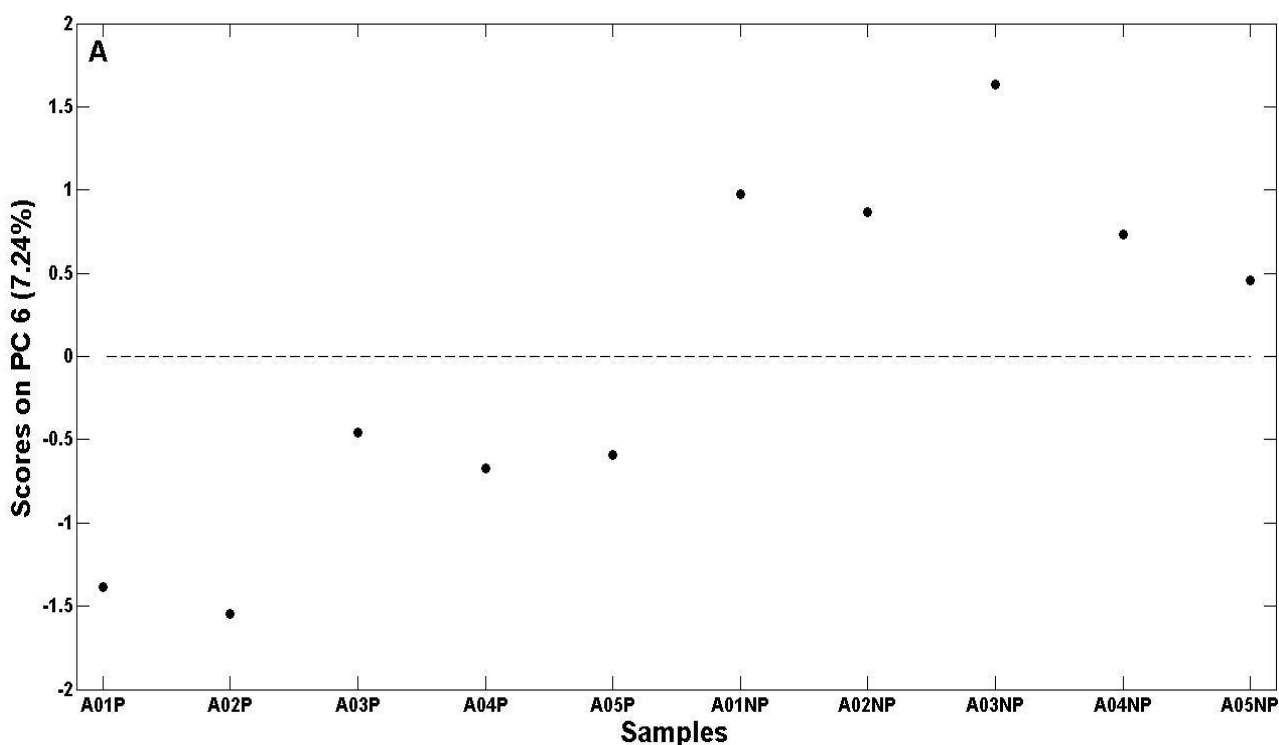
A análise PCA fornece gráficos informativos mostrando as semelhanças e diferenças entre as amostras através dos scores e loadings.

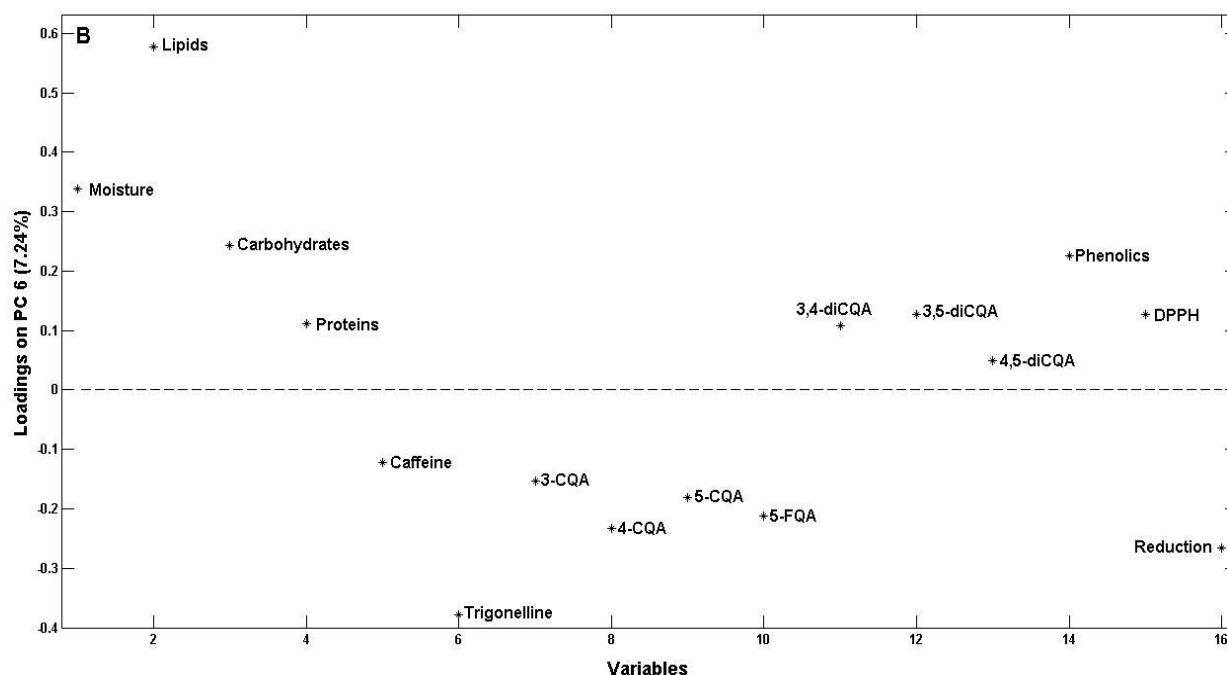
Com base nos resultados, foram obtidas diferenças entre amostras na mesma cidade, submetidas ao procedimento P e NP. Para Araguari, esta distinção foi alcançada no PC6 (7,24% da variância explicada) (Figura 15), enquanto para Monte Carmelo, uma tendência de separação foi mostrada no PC5 (9,01% da variância explicada) (Figura 16). Embora esses PCs não apresentem a

maior variância explicada, foi relatado em estudos anteriores que a informação principal de um conjunto de dados às vezes não está presente no PC que apresenta a maior variância explicada (MOREIRA e SCARMINIO 2013; ALMEIDA *et al.*, 2018). Assim, com base nas Figuras 15 e 16, foi observado que as amostras em P estão separadas no lado negativo do PC, e as amostras em NP estão no positivo. As Figuras 15 e 16 apresentam as variáveis cruciais (parâmetros) que explicam os padrões observados.

As amostras de Araguari, para procedimento P, cafeína, trigonelina, 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 5-FQA, e potencial de redução foram os principais parâmetros. De fato, a trigonelina é o parâmetro mais influente com maior concentração em P. Os outros parâmetros referidos mostraram uma concentração ligeiramente maior em P sobre NP para a cidade de Araguari. Por outro lado, em Araguari, para o procedimento em NP, o conteúdo de lipídios foi o que mais influenciou, seguido pela umidade, carboidratos, proteínas, 3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4,5-diCQA, fenólicos e resultados de DPPH.

Figura 15 – Resultados do PCA em Araguari. (A) Scores (B) Loadings



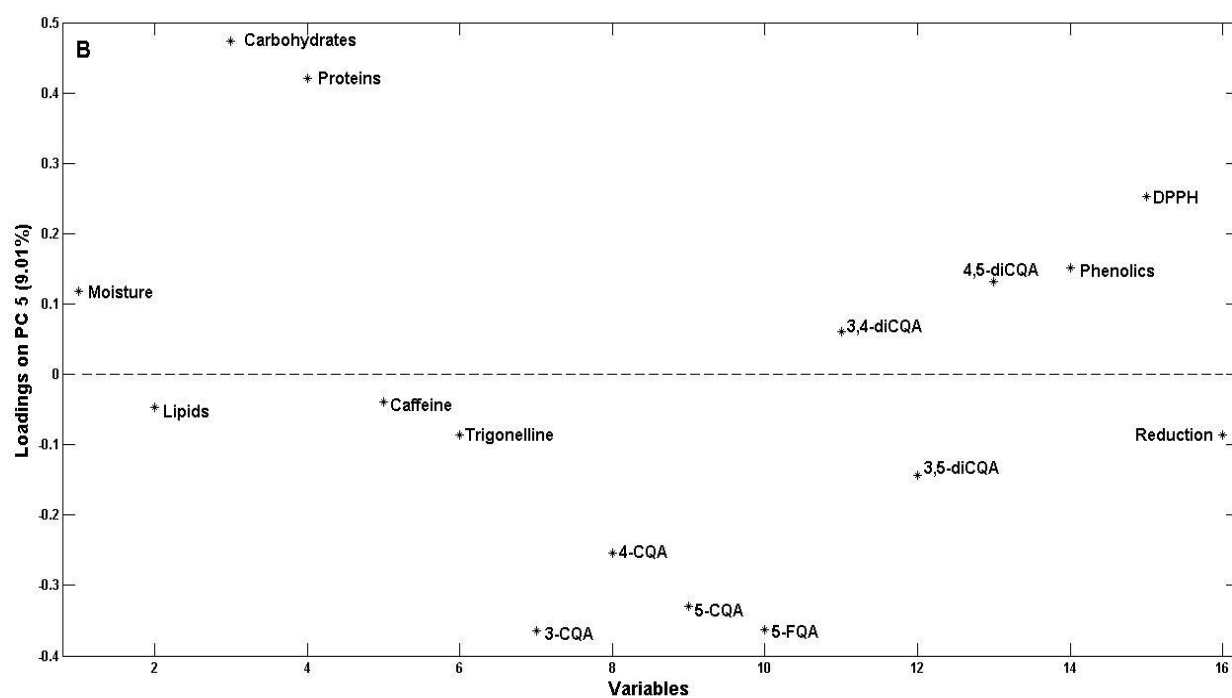
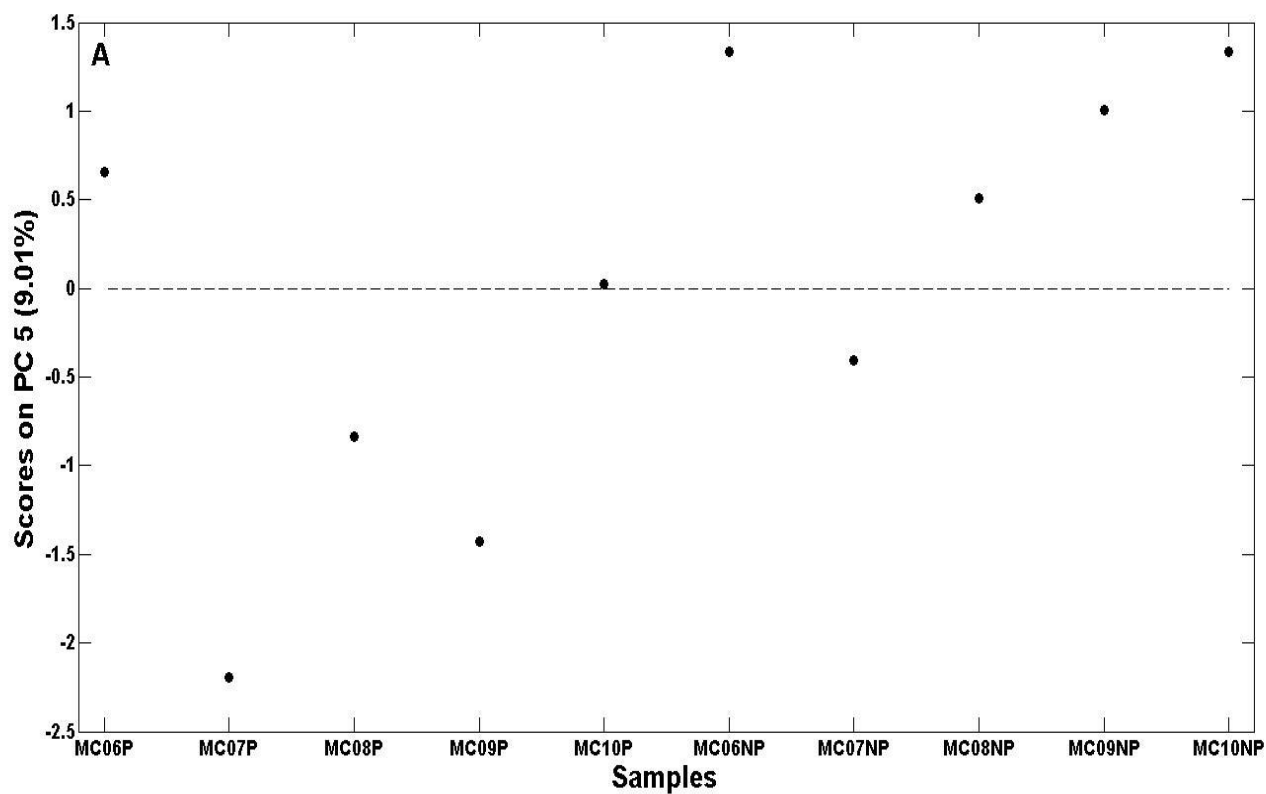


Em relação à cidade de Monte Carmelo, para o procedimento em P, 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA e 5-FQA foram os principais responsáveis, seguidos pelos lipídios, cafeína, trigonelina, 3,5-diCQA, e redução (Figura 16). Além disso, em Monte Carmelo, para o procedimento em NP, os carboidratos e proteínas foram os mais influentes, seguidos pela umidade, 3,4-diCQA, 4,5-diCQA, fenólicos e resultados de DPPH (Figura 16).

Além disso, conforme a análise quimiométrica é possível concluir que os parâmetros que influenciam em P são cafeína, trigonelina, 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 5-FQA, e redução para ambas as cidades, enquanto que em NP são umidade, carboidratos, proteínas, 3,4-diCQA, 4,5-diCQA, fenólicos, e resultados de DPPH para ambas as cidades.

A diferença observada pode ser atribuída a diferenças de altitudes e índice pluviométrico entre as cidades. A cidade de Araguari (18° 38' 50" S 48° 11' 14" W) está localizada a 1013 m acima do nível do mar, apresentando temperatura média similar à Monte Carmelo e índice médio anual de pluviosidade de 1566 mm com relevo predominantemente plano (50%). A cidade de Monte Carmelo (18° 43' 29" S 47° 29' 55" W) com 890 m de altitude, apresenta temperatura média anual de 21,2 °C, precipitação média anual de 1444 mm e relevo predominantemente ondulado (60%).

Figura 16 – Resultados do PCA em Monte Carmelo. (A) Scores (B) Loadings



8 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo revelaram a distinção química entre as amostras em P e NP. Com base nas informações fornecidas pela composição centesimal, as amostras em NP apresentaram maiores teores em relação a P, com exceção dos lipídeos em Monte Carmelo. Cafeína e trigonelina apresentaram valores superiores nas amostras em P. Os teores de ácidos clorogênicos (ACG) totais presentes nas amostras em P apresentaram um teor médio de 6,04% superior em relação aos teores encontrados nas amostras em NP. Isso evidencia que a polinização biótica em plantas de café (*Coffea arabica* L.) pode tornar os grãos mais aptos para a germinação e mais aptos para ataques de agentes externos. O teor de compostos fenólicos totais foi superior em NP e a capacidade antioxidante frente ao radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH•) e o potencial de redução foram superiores em P conforme o teste Tukey. Além disso, conforme a análise quimiométrica é possível concluir que os parâmetros que influenciam em P são cafeína, trigonelina, 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 5-FQA, e redução para ambas as cidades, enquanto que em NP são umidade, carboidratos, proteínas, 3,4-diCQA, 4,5-diCQA, fenólicos, e resultados de DPPH para ambas as cidades.

Os resultados evidenciam que os serviços de polinização são os principais mecanismos para a diversidade química dos grãos, e considerando que os compostos avaliados são precursores de compostos voláteis no café, isto afetará diretamente a qualidade dos grãos. Os serviços de polinização são os principais mecanismos para a manutenção da vida do planeta, pois beneficia a segurança alimentar e promove meios de subsistência, e as abelhas são importantes nesse processo, sendo que as plantas dependem delas para se reproduzirem através do transporte de pólen, garantindo a variação genética e o equilíbrio do ecossistema, sendo assim um processo altamente sustentável.

REFERÊNCIAS

A.B.E.L.H.A – **Associação Brasileira de Estudos das Abelhas** (2020). Disponível em: www.abelha.org.br/convivencia-com-agricultura/. Acesso em 10 de fevereiro de 2022.

ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café. **Indicadores da Indústria de café no Brasil 2018**. Disponível em: www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm=home. Acesso em: 13 de maio de 2021.

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; DUARTE, S. M. S.; LIMA, A. R.; ALVARENGA, D. J.; FERREIRA, E. B. (2010). **Compostos bioativos e atividade antioxidante**. *Ciência Agrotecnica*. V.34, n.2, Lavras-MG. p 414-420.

ALMEIDA, L. F. & TARABAL, J. (2020). **Cerrado Mineiro Region designation of origin: Internationalization strategy**. In *Coffee Consumption and Coffee Industry Strategies in Brazil*. doi: 10.1016/B978-0-12-814721-4.00008-1

ALVES, R. C.; CASAL, S.; OLIVEIRA, B. (2009). **Benefícios do café na saúde: mito ou realidade?** *Revisão Química Nova* 32 (8). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000800031>.

AOAC (1984). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 14^a ed. 1984, p 249.

ASHIHARA, H. (2006). **Metabolism of alkaloids in coffee plants**. Metabolic Biology Group, Department of Biology, Faculty of Science, Ochanomizu University, Tokyo, 112-8610, Japan.

BAKURADZE, T.; BOEHM, N.; JANZOWSKI, C.; LANG, R.; HHFMANN, T.; STOCKIS, J.-P.; ALBERT, F.W.; STIEBITZ, H.; BYTOF, G.; LANTZ, I.; et al. (2011). **Antioxidant-rich coffee reduces DNA damage, elevates glutathione status and contributes to weight control: Results from an intervention study**. *Mol. Nutr. Food Res.* 2011, 55, 793–797.

BALLESTEROS, L. F., TEIXEIRA, J. A., MUSSATTO, S. I. (2014). Chemical functional, and structural properties of spent coffea grounds and coffea silverskin. **Food and Bioprocess Technology**. New York, v. 7, n. 12, p. 3493-3503.

BARBOSA, J. N.; BORÉM, F. M.; CIRILLO, M. A.; MALTA, M. R.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, H. M. R. (2012). **Coffee Quality and Its Interactions with Environmental Factors in Minas Gerais, Brazil**. *Journal of Agricultural Science*. Lavras, v. 4, n. 5, p. 181-190.

BATISTUZZO J. A. O.; ITAYA, M.; ETO, Y. (2011). **Formulário Médico-Farmacêutico**. 4. ed. Pharmabooks. São Paulo.

BAUMANN, T. W. (2006). **Some thoughts on the physiology of caffeine in coffee - And a glimpse of metabolite profiling**. February 2006. Brazilian Journal of Plant Physiology 18(1) DOI: 10.1590/S1677-04202006000100017.

BEE, S.; BRANDO, C. H. J.; BRUMEN, G.; CARVALHAES, N.; KOLLING-SPEER, K.; LIVERANI, F. S.; TEIXEIRA, A. A.; TEIXEIRA, R.; THOMAZIELLO, R. A.; VIANI, R.; VITZTHUM, O. G. (2005). **The raw bean. In Espresso coffee, the science of quality**. Eds. A. Illy & R. Viani. Italy: Elsevier Academic Press, 87-178 p.

BENDARY, E.; FRANCIS, R. R.; ALI, H. M. G.; SARWAT, M. I.; EL HADY, S. (2013). **Antioxidant and structure–activity relationships (SARs) of some phenolic and anilines compounds** Agricultural Biochemistry Department, Faculty of Agriculture, Ain-Shams University, Cairo, Egypt.

BERKER, K.I.; GÜÇLÜ, K.; TOR, I.; APAK, R. (2007). **Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents**. Talanta, v. 72, n. 3, p. 1157-1165, 2007.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. (2013). **Seeds Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3. ed. New York, NY: Springer New York.

BLOIS, M.S. (1958). **Antioxidant determinations by the use of a Stable Free Radical**. Nature, v. 181, nº 4617, p. 1199 – 1200.

BORGES, L. L. et al. (2011). **Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais**. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer–Goiânia-GO, v. 7, n. 12, 2011.

BOROSKI, M; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. (2015). **Antioxidantes: Princípios e Métodos Analíticos**. Editora Appris, pag. 63-73 e 94-100.

Brasil. (2003, 13 de junho) Portaria SVS / MS nº. 8, de 11 de junho de 2003. Regulamento técnico de identidade e de qualidade para classificação do café beneficiado grão cru. Diário Oficial da União, Brasília, DF, seção 1.

CCCMG. (2021). **Centro do Comércio de Café do Estado de Minas Gerais**. <http://cccmg.com.br/federacao-dos-cafeicultores-do-cerrado>. Acesso em 15/04/2021.

CECAFE. **Conselho dos Exportadores de café do Brasil**. (2020). Exportações Brasileiras. Visto em 18/08/2020. <https://www.cecfe.com.br/dados-estatisticos/exportacoes-brasileiras/>

CENICAFÉ. (2013). **Manual do café colombiano: Investigação e tecnologia para a sustentabilidade da cafeicultura** (eds Gast, HF et al.) p. 117.

CHEN Z., BERTIN R. & FROLDI G. (2013). **EC50. Estimation of antioxidant activity in DPPH• assay using several statistical programs**. *Food Chem.*, 138: p. 414 – 420.

CHEONG, M. W., et al. (2012). **Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee**. *Food Research International*, 51(1), pp. 388-396.

CHIANG, H.M.; LIN, T.J.; CHIU, C.Y. (2011) **“Coffea arabica extract and its constituents prevent photoaging by suppressing MMPs expression and MAP kinase pathway**. *Food and Chemical Toxicology* , vol. 49, n. 1, pp. 309–318.

CLARKE, R. J.; MACRAE. R. (1985). **Coffee**. Edited by R. J. Clarke and R. Macrae. Volume 1. Chemistry (1985), pp. 306. Volume 2. Technology (1987), pp. 321. Barking (UK): Applied Science Publishers.

CLEMENTE, J. M.; MARTINEZ, H. E. P.; PEDROSA, A. W.; NEVES, Y. P.; CECON, P. R.; JIFON, J. L. (2018). **Boron, Copper, and Zinc Affect the Productivity, Cup Quality, and Chemical Compounds in Coffee Beans. (Research Article)**. *Journal of Food Quality*, 2018, Vol.2018.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento (2020). Observatório Agrícola. ISSN 2318-7913 Acomp. safra brasileira de café, v. 6– Safra 2020, n. 3 - Terceiro levantamento, Brasília, p. 1-54, setembro 2020. Monitoramento agrícola.

CORBET, S. A.; WILLIAMS, I. H., OSBORNE, J. L. (1991). **Bees and the Pollination of Crops and Wild Flowers in the European Community**. *Bee World* 72, 47–59. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1991.11099079>.

CRAIG, A. P.; FIELDS, C.; LIANG, N.; KITTS, D.; ERICKSON, A.; (2016). **Performance review of a fast HPLC-UV method for the quantification of chlorogenic acids in green coffee bean extracts**. *Talanta*. Volume 154, 1 July 2016, Pages 481-485.

DAGLIA, M.; PAPETTI, A.; GREGOTTI, C.; BERTÈ, F.; GAZZANI, G. (2000). In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.5, p.1449-1454, May 2000.

DAMATTA, F.M., RONCHI, C.P., MAESTRI, M., BARROS, R.S., (2007). **Ecophysiology of coffee growth and production**. *Brazilian J. Plant Physiol.* 19, 485–510. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202007000400014>.

MEIRELES, D. A. L.; (2019). **Serviços de polinização em diferentes escalas espaciais: efeitos quantitativos e qualitativos na produção do café (Coffea arabica L.)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. Instituto de Biologia, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. 61 páginas.

DUARTE, G. S.; PEREIRA, A. A.; FARAH, A. (2010). **Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods**. Food Chemistry Volume 118, Issue 3, 1 February 2010, Pages 851-855.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; & SMITH, F. (1956) "**Colorimetric method for determination of sugar and related substances**". *Anal. Chem* v. 28, n: 3, p. 350 – 356.

DURÁN, C. A. A.; TSUKUI, A.; SANTOS, F. K. F.; MARTINEZ, S. T.; BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. (2017). **Café: Aspectos Gerais e seu Aproveitamento para além da Bebida**. Rev. Virtual Quim., 2017, 9 (1), 107-134.

DYER, A. G *et al.* (2012) **Evolução paralela dos sinais de cores dos angiospermas: pressões evolutivas comuns ligadas à visão himenóptera**. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. **279**, 3606–3615.

EL-MASSRY, K. F; EL-GHORAB, A.H; FAROUK, A. (2002). **Antioxidant activity and volatile components of Egyptian *Artemisia Judaica***. L. Food Chem 79: 331-336.

EMATER-MG (2021). **Almanaque do cafeicultor. Guia das boas práticas agrícolas**. Secretaria de agricultura, pecuária e abastecimento. Minas Gerais, Brasil. Visto em 12/12/2021. <https://www.emater.mg.gov.br/doc/site/Almanaque-do-cafeicultor.pdf>.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Brazilian system of soil classification**. Rio de Janeiro, Brasil.

ESPOSITO, F.; SANNA, C.; DEL VECCHIO, C.; CANNAS, V.; VENDITTI, A.; CORONA, A.; BIANCO, A.; SERRILLI, A.M.; GUARCINI, L.; PAROLIN, C. (2013). **Hypericum hircinum L. components as new single-molecule inhibitors of both HIV-1 reverse transcriptase-associated DNA polymerase and ribonuclease H activities**. *Pathog. Dis.* 2013, 68, 116–124

EVERT, R. F. et al. (2014). **Raven: Biologia Vegetal**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 532.

FARAH, A., (2012). **Coffee constituents. Coffee: Emerging health effects and disease prevention**, Wiley-Blackwell, pp. 21-58. Illinois, USA.

FARAH, A.; DONANGELO, C.M. (2006) **Phenolic compounds in coffee**. Brazilian Journal of Plant Physiology, v.18, p.23-36, 2006. DOI: 10.1590/S1677-04202006000100003.

FARAH, A.; LIMA, J.P. (2018). **Chlorogenic acids: Daily consumption through coffee, metabolism and potential health effects**. In Coffee: Consumption and Health Implications; Royal Society of Chemistry: London, UK, 2018; in Press; ISBN 978-1782620044.

FARAH, A.; LIMA, J. P. (2019). **Consumption of Chlorogenic Acids through Coffee and Health Implications**. Laboratório de Química e Bioatividade de Alimentos e Núcleo de Pesquisa em Café (NUPECAFÉ), Instituto de Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Avenida Carlos Chagas Filho, 373, CCS, Bl. J, Rio de Janeiro 21941-902, Brazil.

FERNANDES, A. L. T.; PARTELI, F. L.; BONOMO, R.; GOLYNSKI, A. A. (2012). **The modern coffee planting in the Brazilian savannah [A moderna cafeicultura dos cerrados brasileiros]**[[Port.]. *Pesq. Agropec. Trop.* 42: 231-240.

FIAMEGOS, Y. C.; KASTRITIS, P. L.; EXARCHOU, V.; HAN, H.; BONVIN, A. M.; VERVOORT, J.; LEWIS, K.; HAMBLIN, M. R.; TEGOS, G. P. (2011). **Antimicrobial and efflux pump inhibitory activity of caffeoylquinic acids from *Artemisia absinthium* against gram-positive pathogenic bacteria**. *PLoS One*, 6 (4) (2011), p. e18127.

GARCIA, L. R. P., BIANCHI, V. L. del. (2015). **Antioxidant capacity in coffee industry residues**. *Campinas*, v. 18, n. 4, p. 307-313, out./dez. <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.5015>

GEROMEL, C.; FERREIRA, L.P.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; RIBEYRE, F.; SCHOLZ, M.B.S.; PEREIRA, L.F.P.; VAAST, P.; POT, D.; LEROY, T.; ANDROCIOLO FILHO, A.; VIEIRA, L.G.E.; MAZZAFERA, P.; MARRACCINI, P. (2008). **Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits**. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.46, p.569-579, 2008. DOI: 10.1016/j.plaphy.2008.02.006.

GIACOMELLI, C.; MIRANDA, F. S.; GONÇALVES, N. S.; SPINELLI, A. (2013). **Antioxidant activity of phenolic and related compounds: a density functional theory study on the O–H bond dissociation enthalpy** Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

GIANNINI, T. C. (2015). **Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions**. *Apidologie* n. 46, p.209- 223. 2015.

GIGLIOBIANCO, M.R.; CAMPISI, B.; PEREGRINA, D.V.; CENSI, R.; KHAMITOVA, G.; ANGELONI, S.; CAPRIOLI, G.; ZANNOTTI, M.; FERRARO, S.; GIOVANNETTI, R.; ANGELONI, C.; LUPIDI, G.; PRUCCOLI, L.; TAROZZI, A.; VOINOVICH, D.; MARTINO, P. Di. (2020). **Optimization of the Extraction from Spent Coffee Grounds Using the Desirability Approach**. *Antioxidants*, 9, 370; doi:10.3390/antiox9050370 www.mdpi.com/journal/antioxidants

HIPÓLITO, J.; NUNES, D. O.; COCA, C. A.; MAHLMANN, T.; GALETTO, L.; VIANA B. (2020). **Performance, Effectiveness, and Efficiency of Honeybees as Pollinators of *Coffea arabica* (Gentianales, Rubiaceae)**. *Neotropical Entomology*. 49. 10.1007/s13744-020-00785-8.

HOELZL, C.; KNASMULLER, S.; WAGNER, K. H.(2010). **“Instant coffee with high chlorogenic acid levels protects humans against oxidative damage of**

macromolecules`. *Molecular Nutrition and Food Research* , vol. 54, n. 12, pp. 1722–1733, 2010.

HUXLEY, R.; LEE, C.M.Y.; BARZI, F.; TIMMERMEISTER, L.; CZERNICHOW, S.; PERKOVIC, V.; GROBBEE, D.E.; BATTY, D.; WOODWARD, M. (2009). **Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: A systematic review with meta-analysis**. *Arch. Intern. Med.* 2009, 169, 2053–2063.

ICO. Organização Internacional do Café. 222 Gray's Inn Road, Londres WC1X 8HB. Visto em 18/11/2021.

http://www.ico.org/about_statistics.asp?section=Statistics

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. 6673: **Green Coffee – determination of loss in mass at 105 degrees C**. Geneva: ISO, 2003. 4p.

JOUAN-RIMBAUD, B. D; PINTO, R.C.; SCHMIDTKE, L.M.; LOCQUET, N, RUTLEDGE, D.N. (2011). **Identification of significant factors by an extension of ANOVA-PCA based on multi-block analysis**. *Chemom Intell Lab Syst* 106(2):173–182. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2010.05.005>

KEARNS, C. A. ; INOUE, D. W. (1993). **Techniques for pollination biologists**. Biology Department, West Virginia Wesleyan College, Buckhannon, WV 26201, USA. Book: Techniques for pollination biologists. 1993 pp.xviii + 583 pp.

KEDARE, S.; SINGH, R. (2011). **Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay**. *Journal of Food Science and Technology*, v. 48, n. 4, p. 412-422, 2011.

KENNEDY, C. M. (2013). **A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems**. *Ecol Lett* n. 16, p. 584-599. 2013.

KHAN, M.T.H.; ATHER, A.; THOMPSON, K.D.; GAMBARI, R. (2005). **Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses**. *Antivir. Res.* 2005, 67, 107–119

KITZBERGER, C. S. G.; SCHOLZ, M. B. S.; PEREIRA, L. F. P.; BENASSI, M. T. (2013). **Chemical composition of traditional and modern Arabica coffee cultivars**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Vol. 48 nº 11 Brasília Nov.

KLATT, B. K. (2014). **Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value**. *Proc. Biol. Sci.* n. 281, p. 20132440. 2014.

KLEIN, A. M.; VAISSIÈRE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. **Importance of pollinators in changing landscapes for world crops**. *Proceedings of the Royal Society B*, v.274, p.303-313. 2007.

KOBLITZ, M.G.B. (2011). **Matérias primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

LIM, T.K. (2013). **Plantas medicinais e não medicinais comestíveis**. Volume 5, Frutas 614–679. Springer Netherlands.

LIMA, A. R., PEREIRA, R. G. F. A., ABRAHÃO, S. A., DUARTE, S. M. S., PAULA, F. B. A. (2010). **Coffee bioactive compounds: *in vitro* antioxidant activity of green and roasted coffees before and after decaffeination**. Quím. Nova vol.33 no.1 São Paulo.

LIMA, A. R.; PEREIRA, R. G. F.; RESENDE, M. L. (2013). **Polifenóis Totais e Atividades Antioxidante de Resíduos e Subprodutos da Indústria Cafeeira**. VIII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil 25 a 28 de novembro de 2013, Salvador – BA.

LUDWIG, I.A.; CLIFFORD, M.N.; LEAN, M.E.J.; ASHIHARA, H.; CROZIER, A. (2014). **Coffee: Biochemistry and potential impact on health**. *Food Funct.* 2014, 5, 1695–1717.

MALERBO, S, D. T.; SILVA, F. A. S. (2011). **Comportamento forrageiro da abelha africanizada *Apis mellifera* L. no decorrer do ano**. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 33183-190.

MARTINI, D., C. DEL-BO, M. TASSOTTI, P. RISO, D. DEL-RIO, F. Brighenti, and PORRINI, M. (2016). **Coffee consumption and oxidative stress: a review of human intervention studies**. *Molecules* 21(8):E979. doi:10.3390/molecules21080979.

MAZZAFERA, P. **Trigonelline in coffee**. (1991) *Phytochemistry*. Volume 30, Issue 7, Pages 2309-2310.

MEIRELES, D. A. L. (2019) 61 f. **Serviços de polinização em diferentes escalas espaciais: efeitos quantitativos e qualitativos na produção do café (*Coffea arabica* L.)**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia. Instituto de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

MELO, P. S.; BERGAMASHI, K. B.; TIVERON, A. P.; MASSARIOLI, A. P.; OLDONI, T. L. C.; ZANUS, M. C.; PEREIRA, G. E.; ALENCAR, S.M. (2011). **Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais**. *Ciência Rural* 41: 1088-1093.

MENG, S.; CAO, J.; FENG, Q.; PENG, J.; HU, Y. (2013). **Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review**. *Evidence-Based Complement. Altern. Med.*

MICHISHITA, T., AKIYAMA, M., HIRANO, Y., IKEDA, M., SAGARA, Y., ARAKI, T., (2010). **Gas chromatography/olfactometry and electronic nose analyses of retronasal aroma of espresso and correlation with sensory evaluation by an artificial neural network.** J. Food Sci. 75 (9), S477–S489.

MONTEIRO, R.; AZEVEDO, I. (2010). **Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome.** *Mediat. Inflamm.* 2010, 289645.

MOREAUX, C.; MEIRELES, D. A. L.; SONNE, J.; BADANO, E. I.; CLASSEN, A.; CHAVES, A. G.; HIPOLITO, J.; KLEIN, A. M.; MARUYAMA, P. K.; METZGER, J. P.; PHILPOTTL, S. M.; RAHBK, C.; SATURNI, F. T.; SRITONGCHUAY, T.; TSCHARNTKE, T.; UNO, S.; VERGANA, C. H.; VIANA, B. V.; STANGE, N.; DALSGARRD, B. (2022). **The value of biotic pollination and dense forest for fruit set of Arabica coffee: A global assessment.** *Agriculture, Ecosystems and Environment.*

MOREIRA, M. C. TRUGO, L. C. (2005). **Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado.** *Química Nova*, São Paulo. V. 28, n.4, p. 637-641, dez.

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

MULLER, A. J.; HUEBNER, L.; SOUZA, C. F. V. (2013). **Avaliação da qualidade físico-química de diferentes marcas de café torrado solúvel e em pó comercializadas na região do vale do Taquari/RS.** Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Campus Ponta Grossa - Paraná – Brasil. ISSN: 1981-3686 / v. 07, n. 01: p. 1004-1012. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial.*

MURTHY, P. S. NAIDU, M. M. (2012) **Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products.** *Food Bioprocess Technol* **5**, 897–903. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0363-z>. Acesso em 22/04/2020.

NARITA, Y.; INOUE, K. (2015). **Chlorogenic Acids from Coffee.** In book: *Coffee in Health and Disease Prevention*. December 2015. DOI: 10.1016/B978-0-12-409517-5.00021-8

NAVEED, M.; HEJAZI, V.; ABBAS, M.; KAMBOH, A. A.; KHAN, G. J.; SHUMZAID, M.; AHMAD, F.; BABAZADEH, D.; FANG, X. F.; GHAZANI, F. M.; WENHUA, L.; ZIAOHUI, Z. (2018). **Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research.** *Biomedicine and Pharmacotherapy*. Volume 97, January, Pages 67-74.

NOGUEIRA, M.; TRUGO, L.C. (2003) **Distribuição de Isômeros de Ácido Clorogênicos e teores de cafeína e trigonelina em cafés solúveis Brasileiros.** *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, v.23, n.2, p.292-299.

Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Volume 1, 2 aed., 1976, p 20.

NOVAIS, S. M. A.; NUNES, C. A.; SANTOS, N. B.; D'AMICO, A. R.; FERNANDES, G. W.; QUESADA, M.; BRAGA, R. F.; NEVES, A. C. O. **Effects of a Possible Pollinator Crisis on Food Crop Production in Brazil.** Published online 2016 Nov 30. doi: [10.1371/journal.pone.0167292](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167292)

ONG, K. W.; HSU, A; TAN, B. A. H. (2013). **Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation.** Biochemical Pharmacology. Volume 85, Issue 9, 1 May 2013, Pages 1341-1351.

OYAIKU, M. (1986). **Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine.** Eiyogaku Zasshi, v. 44, n. 1, p. 307-315, 1986.

PERUZZOLO, M. C.; CRUZ, B. C. F. da.; RONQUI, L. (2019). **Polinização e produtividade do café no Brasil.** PUBVET – Medicina Veterinária e Zootecnia. v.13, n.4, a317, p.1-6, abril.

PLESKO, S.; VOLK, H.; LUKSIC, M.; PODLIPNIK, Č. (2015). **In silico study of plant polyphenols' interactions with VP24-Ebola virus membrane-associated protein.** *Acta Chim. Slov.* 2015, 62, 555–564

POLTRONIERI, P., ROSSI, F., (2016). **Challenges in Specialty Coffee Processing and Quality Assurance.** Challenges v. 7, p. 19. <https://doi.org/10.3390/challe7020019>.

PRADO, S. G.; COLLAZO, J. A.; STEVENSON, P. C.; IRWIN, R. E. (2019) **A comparison of coffee floral traits under two different agricultural practices.** Scientific Reports. v. 9, Article number: 7331.

QUEIROGA, V. P.; GOMES, J. P.; MELO, B. A.; ALBUQUERQUE, E. M. B. (2021). **Cultivo do café (*Coffea arabica* L.) orgânico sombreado para produção de grãos de alta qualidade.** 1ed. / Campina Grande: AREPB, 2021. 279 f.: il. color. ISBN 978-65-87070-05-6

RAPIDEL, B.; ALLINNE, C.; CERDAN, C.; MEYLAN, L.; VIRGINIO FILHO, E. D. M.; AVELINO, J. (2015). **Efectos ecológicos y productivos del asocio de árboles de sombra con café en sistemas agroforestales.** In: MONTAGNINI F.; SOMARRIBA E.; MURGUEITIO E.; FASSOLA H.; EIBL B. (Eds.). **Sistemas Agroforestales: Funciones Productivas, Socioeconómicas y Ambientales.** Colombia: CATIE, 2015. p.5-20. (Serie técnica. Informe técnico CATIE, 402).

RATZ-YKO, A.; ARCT, J.; MAJEWSKI, S. e PYTKOWSKA, K. (2015) **"Influência de polifenóis nos processos fisiológicos da pele", *Phytotherapy Research* , vol. 29, n. 4, pp. 509-517.**

RECH, A. R.; AGOSTINI, Kayna.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. (2014). **Biologia da Polinização**. Editora Ceres Belchior, Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 527 páginas. pág. 72; 142.

REIS, A.J., ARRUDA, H.V. de, (1956). **Frutificação no cafeeiro**. Bragantia, Campinas. v. 15, p. 93–98.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. (2005). **Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food**. Food Chemistry. Volume 92, Issue 2, September 2005, Pages 235-254.

ROSA, L. N.; FIGUEIREDO, L. C.; BONAFE, E. G.; COQUEIRO, A.; VISENTAINER, J. V.; MARÇO, P. H.; RUTLEDGE, D. N.; VALDERRAMA, P. (2017). **Multi-block data analysis using ComDim for the evaluation of complex samples: Characterization of edible oils**. Analytica Chimica Acta. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/ac

SANTOS, C. A. F., LEITÃO, A. E., PAIS, I. P., LIDON, F. C., RAMALHO, J. C. (2015). **Perspectives on the potential impacts of climate changes on coffee plant and bean quality**. Emirates J. Food Agric. 27: 152-163.

SANTOS, L. P., SANTOS, C. O., ROSA, N. R., SOUZA, P., MAZETO, T. K. (2015). **Efeito da Cafeína no Organismo**. III Ciclo Científico da Faculdade São Paulo – FSP, 2015 Rev. Saberes, Rolim de Moura, vol. 3, n. Esp. jul./dez., p. 45-52, 2015. ISSN: 2358-0909.

SAWANT, O., KADAM, J., GHOSH, R., (2009). **In vitro free radical scavenging and antioxidant activity of Adiantum lunulactum**. J. Herbal Med. Toxicol. 3, 39–44.

SILVA, G. R. (2019). **Produção, tecnologia e armazenamento de sementes**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2019. 192 p. ISBN 978-85-522-1432-8.

SILVA, P. A.; OLIVEIRA, M. G. de; COELHO, P. de O.; SILVA, J. A. C. da. (2016). **Quality of coffee cultivated in Campos Gerais, Minas Gerais**. *Acta Scientiarum. Technology*, 38(1), 1-5. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v38i1.26445>

SINGLETON VL, ROSSI J.A (1965). **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents**. Am J Enol Viticult 16: p. 144 – 158.

SOUZA, R. M. N.; BENASSI, M. T. (2012). **Discrimination of Commercial Roasted and Ground Coffees According to Chemical Composition**. Journal of Brazilian Chemical Society, vol. 23, n. 7, p. 1347-1354, 2012.

SOUZA, D. L.; RODRIGUES, A. E.; PINTO, M. S. C. (2007). **As Abelhas Como Agentes Polinizadores**. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. VIII, núm. 3, marzo, 2007, pp. 1-7 Veterinaria Organización Málaga, España.

SOUZA, M, D. T. & SILVA, F. A. S. (2011). **Comportamento forrageiro da abelha africanizada *Apis mellifera* L. no decorrer do ano**. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 33183-190.

STEFANELLO, N.; SPANEVELLO, R. M.; PASSAMONTI, S.; PORCIUNCULA, L.; BONAN, C. D.; OLABIYI, A. A.; ROCHA, J. B. T.; ASSMANN, C. E.; MORSCH, V. M.; SCHETINGER, M. R. C. (2019). **Coffee, caffeine, chlorogenic acid, and the purinergic system**. Food and Chemical Toxicology. Volume 123, January 2019, Pages 298-313.

STEFFAN-DEWENTER, I.; POTTS, S.G. & PACKER, L. (2005). **Pollinator diversity and crop pollination services are at risk**. Trends in Ecology & Evolution 20, 651–652.

STELMACH, E.; POHL, P. e MADEJA, S. A. (2015). **The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews**. Food Chemistry, 182, pp. 302- 308.

TAJIK, N.; TAJIK, M.; MACK, I.; ENK, P. (2017). **The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: A comprehensive review of the literature**. *Eur. J. Nutr.* 2017, 56, 2215–224

TAMURA, H.; AKIOKA, T.; UENO, K.; CHUIYO, T.; OKAZAKI, K.I.; KING, P.J.; ROBINSON, W.E. (2006). **Anti-human immunodeficiency virus activity of 3,4,5-tricaffeoylquinic acid in cultured cells of lettuce leaves**. *Mol. Nutr. Food Res.* 2006, 50, 396–400.

TEIXEIRA, A. A.; TEIXEIRA, R.; THOMAZIELLO, R. A.; VIANI, R.; VITZTHUM, O. G. (2005). **The raw bean**. In *Espresso coffee, the science of quality*. Eds. A. Illy & R.Viani. Italy: Elsevier Academic Press, 87-178 p.

THOMAS, V. G.; KEVAN, P. G. (2012). **Insect pollination: commodity values, trade and policy considerations**. *J. Pollination Ecology*, v. 7, n. 2, p. 5-15. 2012

TOCI, A. T., BOLDRIN, M. V.Z. (2018). **Coffee Beverages and Their Aroma Compounds**. Handbook of Food Bioengineering. Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes, Volume 7, Chapter 12.

TOCI, A. T., de MOURA RIBEIRO, M. V., de TOLEDO, P. R. A. B., BORALLE, N., PEZZA, H. R., & PEZZA, L. (2018). **Fingerprint and authenticity roasted coffees by 1H-NMR: the Brazilian coffee case**. *Food Science and Biotechnology*, 27(1), 19–26. doi: 10.1007/s10068-017-0243-7

TOCI, A. T.; FARAH, A. (2014). **Volatile compounds as potential defective coffee beans' markers**. Food Chemistry. Volume 108, Issue 3, 1 June 2008, Pages 1133-1141.

TOCI, A. T.; NETO, V. J. M. F.; TORRES, A. G.; FARAH, A. (2013). **Changes in triacylglycerols and free fatty acids composition during storage of roasted coffee**. LWT - Food Science and Technology. Volume 50, Issue 2, March 2013, Pages 581-590.

TOCI, A.; TRUGO, L. C.; FARAH, A. (2006). Efeitos do processo de descafeinação com Diclorometano sobre a composição química dos cafés arábica e robusta antes e após a torração. **Revista Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 965-971.

TOLEDO, P. R. A. B., Melo, M. M. R., PEZZA, H. R., TOCI, A. T., PEZZA, L., & SILVA, C. M. (2017). **Discriminant analysis for unveiling the origin of roasted coffee samples: A tool for quality control of coffee related products**. *Food Control*, 73, 164–174. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.08.001

TRUGO, L.C.; MACRAE, R. (1984). **CHLOROGENIC ACID COMPOSITION OF INSTANT COFFEES**. The Analyst. Journal Article. 109(3); p. 263 – 266.

TSUKUI, A.; OIGMAN, S. S.; REZENDE, C. M. (2014). **Oil Green Coffee Beans: Diterpenes Cafestol and Kahweol**. Rev. Virtual Quim., 2014, 6 (1), 16-33. <http://www.uff.br/rvq>.

TUNNICLIFFE, J. M.; COWAN, T.; SHEARER, J. (2015). **Chlorogenic Acid in Whole Body and Tissue-Specific Glucose Regulation**. Coffee in Health and Disease Prevention. Chapter 86. Academic Press, 2015, Pages 777-785.

VAAST, P; BERTRAND, B.; PERRIOT, J; J.; GUYOT, B.; GÉNARD, M. (2006). **Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (Coffea arabica L.) under optimal conditions**. Journal of the Science of Food and Agriculture, Malden, v. 86, n. 2, p.197-204.

VICENTINI, C. B. (2013). **Efeito comparativo entre a dipirona sódica e a dipirona sódica associada à cafeína no controle da dor pós-exodontia**. Rev. dor, v. 14, n. 3, p. 174-178.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D.G.; BENASSI, M, T. (2011). **“Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: the influence of processing conditions and raw material”**. *Food Chemistry*, vol. 124, n.3, pp. 863-868.

WAN, C.W.; WONG, C.N.Y.; PIN, W.K.; WONG, M.H.Y.; KWOK, C.Y.; CHAN, R.Y.K.; YU, P.H.F.; CHAN, S.W. (2013) **Chlorogenic acid exhibits cholesterol lowering and fatty liver attenuating properties by up-regulating the gene expression of PPAR- α in hypercholesterolemic rats induced with a high-cholesterol diet**. *Phytother. Res.*, 27 (4), pp. 545-551.

WILLMER, P. G. (2011). **Polinização e Ecologia Floral**. (Princeton University Press).

WITTER, S.; SILVA, P. N.; BLOCHTEIN, B.; LISBOA, B. B.; FONSECA, V. L. I. (2014). **As abelhas e à agricultura**. Dados Eletrônicos. Porto Alegre. EDIPUCRS, 2014. 143 p. Acesso em 01/10/2020: <http://www.pucrs.br/edipucrs>. ISBN 978-85-397-0658-7.

WRIGHT, G. A et al. (2013) **A cafeína no néctar floral melhora a memória de recompensa de um polinizador**. *Science* **339**, 1202–4.

XU, J. G.; HU, Q. P.; LIU, Y. J. (2012) **Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers**. *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 11625–11630.

YOKOZAWA, T.; CHEN, C. P.; DONG, E.; TANAKA, T.; NONAKA, G. I.; NISHIOKA, I. (1998). **Study on the Inhibitory Effect of Tannins and Flavonoids against the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical**. *Biochemical Pharmacology*. Volume 56, Issue 2, 15 July 1998, Pages 213-222.

APÊNDICE

APÊNDICE A – CANVAS do Projeto

RESEARCH PROJECT CANVAS Mestrando: Francisco Antonio Canzi Tema: EFEITO DA POLINIZAÇÃO SOBRE A COMPOSIÇÃO DO CAFÉ ARÁBICA (<i>Coffea arabica</i> L.) CRU: COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE		
JUSTIFICATIVA A relação da polinização biótica com o aumento de produtividade é descrita para muitos cultivos. Ainda, a magnitude em que a polinização pode incrementar a produção de cultivos agrícolas pode ir além de medidas quantitativas, podendo interferir nas propriedades físico-químicas destes cultivos, modificando assim, a qualidade destes produtos. Para o café, esta variação qualitativa é muito importante para o valor final do produto, visto que este tem variação de preço de acordo com a sua classificação de qualidade. Será identificado a produtividade em parâmetros quantitativos e qualitativos. Os parâmetros avaliados serão a polinização <i>in natura</i> das abelhas, ou seja, com polinização (P), sem espécies definidas e sem polinização (NP); e a composição dos ácidos clorogênicos em P e NP.	PROBLEMATIZAÇÃO Qual o efeito da polinização de abelhas na composição de ácidos clorogênicos e capacidade antioxidante em grãos de cafés arábica (<i>Coffea arabica</i> L.)?	OBJETIVO GERAL Avaliar o efeito da polinização de abelhas (sem espécies definidas) na qualidade do café (<i>Coffea arabica</i> L.), por meio do estudo da composição dos compostos bioativos, capacidade antioxidante e composição centesimal.
	METODOLOGIA Composição centesimal: - Umidade - Lipídios - Proteínas totais - Glicídios totais Extração: - Trigonelina - Cafeína - Ácidos Clorogênicos Ação Antioxidante: - Fenólicos totais - DPPH - Poder de redução Cromatografia: Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	OBJETIVOS ESPECÍFICOS Avaliar o efeito em P e NP sobre a composição dos compostos bioativos (ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina) e composição centesimal (umidade, proteínas, lipídios e carboidratos). Avaliar o efeito em P e NP sobre a composição dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, empregando os métodos de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e do poder de redução. Analisar os resultados obtidos através dos métodos estatísticos usando o teste Tukey, com 95% de confiança, sendo considerado diferenças significativas um p-valor $\leq 0,05$ e por meio de abordagem quimiométrica empregando-se a Análise de Componentes Principais (PCA).
ASSUNTOS ABORDADOS Análise de compostos por métodos analíticos em laboratório de forma qualitativa e quantitativa, avaliando a ação antioxidante e identificação de compostos bioativos em cromatografia.		

APENDICE B – TABELA DE REAGENTES

Reagentes	Marca	P. molecular	Pureza
Citrato tribássico de sódio	Sigma Aldrich	256,06	≥ 99.0% P.A.
Ácido acético glacial (UV/HPLC)	Dinâmica Química Contemporânea LTDA	60,04	99,5 % PA
Água Milli Q ultrapura com resistividade 18,2 MΩ cm a 25 °C	GEHAKA Master All 2000 system, Brasil	18,0	≥ 99.0% P.A.
Caféina	Sigma Aldrich	194,19	99,5 % PA
Trigonelina	Sigma Aldrich	137,14	98,5 % PA
Ácido gálico C ₇ H ₆ O ₅ .H ₂ O	Neon Comercial LTDA.	188,13	99,4%
Ácido cafeilquínico 5-CQA	Sigma Aldrich	354,31	99,0% PA
Fosfato de potássio KH ₂ PO ₄	Neon Comercial LTDA.	136,09	98,8% PA
Ferricianeto de potássio K ₃ [Fe(CN) ₆]	Vetec Química Fina	329,25	99,0%
Ácido de tricloroacético CCl ₃ COOH	Neon Comercial LTDA.	163,39	99,0%
Cloreto de ferro hexahidratado FeCl ₃ .6H ₂ O	Vetec Química Fina	270,33	97,0%
acetato de chumbo básico (CH ₃ COO) ₂ Pb ₂ .Pb(OH) ₂		807,72	
Folin-Ciocalteu	Imbralab – Química e Farmacêutica LTDA	Ñ tem essa informação	Ñ tem essa informação
Carbonato de sódio Na ₂ CO ₃	Dinâmica	105,98	99,5%
DPPH 1,1-difenil-2-picril-hidrazil C ₁₈ H ₁₇ N ₅ O ₄	Sigma Aldrich	394,32	99,0% PA
Metanol CH ₃ OH	Dinâmica Química Contemporânea LTDA	32,04	99,8% HPLC
diclorometano	Reatec	84,93	99,5%
hexano	Dinâmica	86,18	99,0% UV/HPLC
Ácido sulfúrico	Biotec Reagentes Analíticos	98,079	95-98% PA
Hidróxido de sódio	Neon	40,00	98,63%
Sulfato de Zinco 7H ₂ O	Reatec	287,56	99,0%