

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**TÉCNICAS ANALÍTICAS AVANÇADAS NA
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ADULTERAÇÃO DE
CAFÉS**

**ADVANCED ANALYTICAL TECHNIQUES IN CHEMICAL
CHARACTERIZATION AND ADULTERATION OF COFFEES**

RADIGYA MEYRELLES CORREIA

Tese de Doutorado

VITÓRIA

2021

RADIGYA MEYRELLES CORREIA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito para obtenção de Título de Doutor em Química.

Área de Concentração: Química

Linha de Pesquisa: Química Forense

Orientador: Prof. Dr. Valdemar Lacerda Jr.

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Filgueiras

**VITÓRIA
2021**

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

C824t Correia, Radigya Meyrelles, 1990-
Técnicas analíticas avançadas na caracterização química e
adulteração de cafés / Radigya Meyrelles Correia. - 2021.
214 f. : il.

Orientador: Valdemar Lacerda Júnior.
Coorientador: Paulo Roberto Filgueiras.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do
Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Café. 2. Controle de qualidade. 3. FT-ICR MS. 4. NIR
portátil. 5. Adulteração. I. Lacerda Júnior, Valdemar. II.
Filgueiras, Paulo Roberto. III. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro de Ciências Exatas. IV. Título.

CDU: 54

Técnicas Analíticas Avançadas na Caracterização Química e Adulteração de Cafés

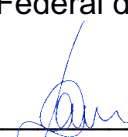
Radigya Meyrelles Correia

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor(a) em Química.

Aprovada em 28/05/2021 por:

Prof. Dr. Valdemar Lacerda Júnior¹
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof. Dr. Paulo Roberto Filgueiras¹
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientador



Prof.ª Dr.ª Denise Coutinho Endringer¹
Universidade Vila Velha

Prof. Dr. Fábio Luiz Partelli¹
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Lucas Louzada Pereira¹
Instituto Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Álvaro Cunha Neto¹
Universidade Federal do Espírito Santo

¹ O documento será assinado eletronicamente em conformidade com as normas prescritas na Portaria Normativa PRPPG/ UFES nº 03/2020.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
VALDEMAR LACERDA JUNIOR - SIAPE 1524293
Departamento de Química - DQ/CCE
Em 31/05/2021 às 13:59

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/199818?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
PAULO ROBERTO FILGUEIRAS - SIAPE 2230605
Programa de Pós-Graduação em Química - PPGQ/CCE
Em 31/05/2021 às 14:13

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/199867?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
ALVARO CUNHA NETO - SIAPE 1703837
Departamento de Química - DQ/CCE
Em 31/05/2021 às 16:19

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/200032?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
FABIO LUIZ PARTELLI - SIAPE 1643050
Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas - DCAB/CEUNES
Em 31/05/2021 às 18:14

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/200121?tipoArquivo=O>



Emitido em 31/05/2021

ANEXO Nº ANEXO-C/2021 - VNI-CCTA (11.02.33.01.08.02.05)
(Nº do Documento: 5)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 03/06/2021 10:14)
LUCAS LOUZADA PEREIRA
PROFESSOR DO ENSINO BASICO TECNICO E TECNOLOGICO
VNI-CCTA (11.02.33.01.08.02.05)
Matrícula: 2105405

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ifes.edu.br/documentos/> informando seu número: **5**, ano: **2021**, tipo: **ANEXO**, data de emissão: **03/06/2021** e o código de verificação: **19702763d1**

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar o dom da perseverança durante toda a minha vida.

Sou grato aos meus pais (Marcos André Correia e Andrea Meyrelles Mendes Correia) por todo o esforço investido na minha educação e principalmente a minha mãe acreditar que eu seria capaz de superar os obstáculos que a vida me apresentasse. Apesar de já não estarem entre nós, tenho total certeza de que eles estão orgulhosos por esta conquista.

À minha família por estar sempre ao meu lado torcendo por mim, principalmente a minha tia Ana Claudia, por me mostrar que nós mulheres podemos conquistar o mundo com esforço e dedicação. E ao meu filho Arthur, por ser um incrível companheiro e me motivar a ser melhor a cada dia.

Aos meus orientadores Valdemar Lacerda Jr. e Paulo Roberto Filgueiras pelo conhecimento, dedicação e, principalmente, paciência durante o projeto. A confiança que depositam em seus alunos e orientação fazem grande diferença no resultado final das pesquisas.

Agradeço a todos com quem tive oportunidade de trabalhar nestes anos de pesquisa, principalmente o prof. Wanderson Romão, que com sua perseverança e visão para que a Ciência prevaleça, me ensinou a ir em busca da qualidade e acreditar que podemos fazer a diferença.

Aos meus colegas de laboratório, agradeço pela oportunidade do convívio e pela cooperação mútua durante este período. Ao longo destes anos, nós nos tornamos uma família e isso foi muito importante para mim.

Agradeço também à UFES, IFES, CNPq, Fapes, Capes, Petrobras e aos produtores e associações de cafeicultores do Espírito Santo pela parceria, espaço, financiamento e fornecimento de amostras.

Por fim, aos meus amigos da vida pelas risadas e apoio. Vocês tornam meus dias mais alegres. Tenho um agradecimento especial a minha amiga Manuella Lisboa Maia, que não está entre nós, mas foi minha confidente, parceira, companheira, amiga e alma gêmea durante estes anos de amizade. Você me fez ter uma nova visão do mundo e espero seguir neste caminho.

“Não é o crítico que importa; nem aquele que aponta onde foi que o homem tropeçou ou como o autor das façanhas poderia ter feito melhor. O crédito pertence ao homem que está por inteiro na arena da vida, cujo rosto está manchado de poeira, suor e sangue; que luta bravamente; que erra, que decepciona, porque não há esforço sem erros e decepções; mas que, na verdade, se empenha em seus feitos; que conhece o entusiasmo, as grandes paixões; que se entrega a uma causa digna; que, na melhor das hipóteses, conhece no final o triunfo da grande conquista e que, na pior, se fracassar, ao menos fracassa ousando grandemente.”

Theodore Roosevelt

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Frequência de publicações sobre cafés dos principais países (período 2011-abril/2021, base de dados Web of Science e Scopus).....	14
Figura 2. Composição química aproximada dos grãos crus de <i>C. canephora</i> e <i>Coffea arabica</i> L., respectivamente.	15
Figura 3. Alguns compostos presentes no grão de café.....	19
Figura 4. Gráfico com as publicações envolvendo análise sensorial e café, nos últimos 5 anos (base de dados <i>Web of Science</i>).	30
Figura 5. Principais técnicas usadas em análises do controle da qualidade de cafés (período 2016-abril/2021, base de dados <i>Web of Science</i> e <i>Scopus</i>). ...	39
Figura 6. Regiões do espectro infravermelho onde ocorrem transições de ligações específicas.	41
Figura 7. Equipamento MicroNIR acoplado ao notebook.	44
Figura 8. Equipamento MicroNIR e o princípio da miniaturização	45
Figura 9. Esquema de um espectrômetro de massas.	49
Figura 10. Esquema de uma fonte de ionização por <i>electrospray</i>	52
Figura 11. Diagrama esquemático de uma cela de ICR.	53
Figura 12. Caracterização edafoclimática.	62
Figura 13. Vista das parcelas da área de estudo da Fazenda Experimental de Bananal do Norte - INCAPER, Cachoeiro de Itapemirim, Estado do Espírito Santo, Brasil.	63
Figura 14. Espectros de massa no modo de ionização ESI(-) e ESI(+) para grãos inteiros de café Robusta respectivamente, em função do cultivo em a-f) luz solar direta e de diferentes SAF b-g) gliricídia c-h) ingá d-i) pupunha e e-j) bananeira	72
Figura 15. Espectros de massa no modo de ionização ESI(-) e ESI(+) para grãos moídos de café Robusta, respectivamente, em função do cultivo em a-f) luz solar direta e de diferentes SAF b-g) gliricídia c-h) ingá d-i) pupunha e e-j) bananeira	75
Figura 16. Gráfico dos <i>scores</i> dos modelos PCA (a)ESI(-) e (b)ESI(+) para grãos inteiros; e (c)ESI(-) e (d)ESI(+) para grãos moídos de café Robusta em função dos diferentes SAF.	77
Figura 17. Gráfico dos <i>loadings</i> para os espectros no modo de ionização ESI(-) para café Robusta em função dos diferentes SAF.	78
Figura 18. ESI(-)MS/MS de íons de <i>m/z</i> a) 466, b) 609, c) 637, d) 652, e) 833 e suas estruturas.....	79
Figura 19. a) Espectros MicroNIR após a aplicação da primeira derivada, b) Gráfico de pontuação e c) Gráfico dos <i>loadings</i> do modelo PCA para o café Robusta em grão moído em função dos diferentes SAF.....	81
Figura 20. (a) Acessórios do equipamento MicroNIR: (1) <i>collar</i> ; (2) suporte do vial; (3) vial de 5 mL; e (4) <i>windowed collar</i> . A imagem do instrumento microNIR conectado a um <i>tablet</i> é mostrada na Figura 1b.	85

Figura 21. Espectros MicroNIR de (a) amostras puras de café arábica, cascas/paus e milho; e a primeira derivada dos espectros microNIR de misturas de (b) café arábica e cascas/paus e c) café arábica e de milho.....	94
Figura 22. Espectros microNIR (sem pré-processamento) de amostras de (a) café Robusta puro e (b) café Arábica em função dos níveis de torra (claro, médio e escuro).....	95
Figura 23. Gráficos de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para as amostras de café Arábica adulteradas com diferentes níveis de cascas/paus. O tamanho do marcador é proporcional ao teor de adulterante nas amostras.	96
Figura 24. Gráficos de (a) <i>scores</i> e (b) <i>loadings</i> para as amostras de café Arábica adulteradas com diferentes níveis de milho. O tamanho do marcador é proporcional ao teor de adulterante nas amostras.	97
Figura 25. Relação entre os valores previstos e de referência (em wt%) para os teores de (a) cascas/paus e (b) milho nas amostras de café arábica do modelo PLS construído.....	98
Figura 26. Gráficos dos <i>scores</i> dos modelos PCA para os blends de cafés Arábica e Conilon em função de três níveis de torra diferentes (claro, médio e escuro).	100
Figura 27. Gráficos dos <i>scores</i> para os <i>blends</i> de (a) café arábica/cascas e paus e café arábica/milho e (b) 16 amostras comerciais.	104
Figura 28. Espectros NIR depois do pré-tratamento com a primeira derivada de <i>blends</i> de café Conilon 1/borra de café secas a 45, 75 e 100 °C (amostras não comerciais).....	117
Figura 29. Gráficos dos <i>scores</i> dos modelos de PCA para os <i>blends</i> (amostras não comerciais) de café Conilon a) café 1, b) café 2 e c) café 3, e borra em função dos diferentes níveis de adulteração.	118
Figura 30. Gráfico dos <i>loadings</i> de PC1 e PC2 do modelo PCA para as amostras de café adulteradas com diferentes concentrações de borra de café de acordo com a temperatura de secagem.....	119
Figura 31. a) gráfico dos <i>scores</i> do modelo PCA para as amostras não comerciais. O tamanho do marcador é proporcional ao teor de adulterante nas amostras; b) espectros microNIR, após pré-tratamento com a primeira derivada, de cafés não comerciais puros e adulterados e amostras comerciais autênticas e não autênticas; c) gráfico dos <i>scores</i> para amostras comerciais (amostras comerciais autênticas (n = 100) são representadas pelo símbolo (Δ) e as amostras comerciais não autênticas (n = 112) são representadas pelo símbolo (*)); d) gráfico dos <i>loadings</i> do modelo PCA para os <i>blends</i> de café.....	121
Figura 32. Resposta calculada para o modelo PLS-DA para a probabilidade de as amostras pertencerem a determinada classe. a) autêntica e b) não autêntica	122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais adulterantes e artigos publicados.	25
Tabela 2. Composição química das cascas de café.	27
Tabela 3. Classificação do café Conilon quanto à qualidade da bebida.	29
Tabela 4. Algumas publicações sobre as principais técnicas analíticas empregadas no estudo das características mais relevantes para a qualidade dos cafés (período 2016-abril/2021, base de dados <i>Web of Science</i> e <i>Scopus</i>).	36
Tabela 5. Publicações, em ordem cronológica, envolvendo NIR portátil e café, pesquisa “ <i>portable OR handheld OR microNIR AND NIR OR near-infrared AND coffee</i> ” para títulos de artigos, resumos and palavras-chaves entre diferentes áreas temáticas, base de dados <i>Web of Science</i> (2010-2021).	48
Tabela 6. Classificação do SAF de acordo com os objetivos propostos	68
Tabela 7. Resultados médios totais da análise sensorial para atributos (aroma, sabor, acidez, doçura, sensação na boca, equilíbrio, geral, gosto residual, uniformidade e defeitos) de acordo com os 6 <i>Q-graders</i> e avaliação global....	70
Tabela 8. Valores de RMSEP, R ² , LD e LQ, obtidos através da construção do modelo PLS.....	101
Tabela 9. Classificação de referência e parâmetros de desempenho para os conjuntos de treino (n=70) e teste (n=30) dos modelos PLS-DA e SIMCA. ...	124
Tabela 10. Resultados do modelo PLS.....	129

SUMÁRIO

1. ESTADO DA ARTE	12
1.1 CAFÉ	12
1.1.1 GÊNERO <i>COFFEA</i> - ESPÉCIES.....	14
1.1.2 PROCESSAMENTO DO CAFÉ	15
1.1.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	18
1.1.4 CAFÉ EM SISTEMAS AGROFLORESTAIS	20
1.1.5 ADULTERAÇÕES DE CAFÉS.....	24
1.2 CARACTERIZAÇÃO DOS CAFÉS	28
1.2.1 ANÁLISE SENSORIAL	28
1.2.1 TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	31
1.2.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho	40
MicroNIR.....	43
1.2.2.2 ESPECTROMETRIA DE MASSAS (MS)	48
1.3 QUIMIOMETRIA	53
1.3.1 ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS – PCA	54
1.3.2 ANÁLISE DISCRIMINANTE POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS - PLS-DA.....	55
1.3.3 MODELAGEM SUAVE INDEPENDENTE DE ANALOGIA DE CLASSE - SIMCA	55
1.3.4 REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS - PLS	56
2. OBJETIVO GERAL	56
2.1 Objetivos específicos	57
3. CAPÍTULO 1	58
3.1 INTRODUÇÃO	58
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	60
3.2.1 AMOSTRAS.....	61
3.2.2 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA	63
3.2.3 INSTRUMENTAÇÃO	64
3.2.4 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA	66
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
ANÁLISE SENSORIAL	68

ESI-FT-ICR MS.....	71
MicroNIR.....	79
3.4 CONCLUSÕES	82
4. CAPÍTULO 2	84
4.1 INTRODUÇÃO	84
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	88
4.2.1. AMOSTRAS.....	89
4.2.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	89
4.2.3 INSTRUMENTAÇÃO	90
4.2.4 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA	90
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	92
MicroNIR	92
CONTROLE DE QUALIDADE	95
4.4 CONCLUSÕES	105
5. CAPÍTULO 3	106
5.1 INTRODUÇÃO	106
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS	109
5.2.1 PREPARO DAS AMOSTRAS.....	109
5.2.2. INSTRUMENTAÇÃO	110
5.2.3 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA	111
5.4 CONCLUSÕES.....	132

RESUMO

O Brasil é o maior produtor e exportador de café e sua ascensão neste mercado associa-se à crescente melhoria da qualidade do produto. O Espírito Santo é o um dos maiores produtores de cafés do Brasil, desta maneira, é de suma importância avaliar a qualidade dos cafés produzidos no estado. Visando propor novas metodologias analíticas ao aplicar as técnicas de espectroscopia na região do infravermelho próximo portátil (microNIR) e a espectrometria de massas por Ressonância Ciclotrônica de Íons com Transformada de Fourier (FT-ICR MS), o trabalho foi dividido em três capítulos no qual foram avaliados fatores que envolvem o pré e pós colheita dos grãos de cafés, dentre eles: 1) comparar os resultados de FT-ICR MS, microNIR e análise sensorial para avaliar o cultivo de café Robusta em Sistema Agroflorestal (SAF) com gliricídia, ingá, pupunha e bananeira; 2) construir modelos de análise de componentes principais (PCA) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) usando espectros de microNIR para verificar a influência da temperatura de torrefação em *blends* de café Arábica/Conilon e a presença de adulterantes como milho e cascas/paus em café Arábica e 3) identificar adulterações com borra de *Coffea canephora* (Conilon) em diferentes níveis (0 – 100 wt% de adulterante), através da técnica analítica de NIR portátil associada a ferramentas quimiométricas: PCA, PLS-DA, SIMCA, PLS. Estes estudos mostraram que os componentes responsáveis por distinguir as amostras cultivadas com diferentes espécies em SAF foram os ácidos clorogênicos e que os resultados do microNIR corroboraram com os dados ESI(-)FT-ICR MS e a análise sensorial, agrupando cafés cultivados em SAF consorciados com *Gliricidia sepium* e *Inga edulis*. A avaliação qualitativa e quantitativa da presença de adulterantes comprovaram a capacidade do método de NIR portátil em ser eficiente e capaz de predizer adulterações com níveis mínimos de quantificação (LQs de 5–8% wt% para cascas/paus e milho, e na faixa de 17-26 wt% para borra de café), podendo ser aplicado no controle de qualidade de amostras comerciais de café. Foi possível, também, identificar que a temperatura de torrefação afeta a discriminação dos *blends* de café Arábica e Conilon e a temperatura de secagem das borras influencia na identificação em *blends* com café Conilon. Contudo, foi possível obter valores baixos de exatidão e boa classificação das amostras autênticas e não autênticas ao avaliar a presença da borra de café.

Palavras-chave: café, controle da qualidade, FT-ICR MS, NIR portátil, adulteração.

ABSTRACT

Brazil is the largest producer and exporter of coffee and its rise in this market is associated with the growing improvement in the quality of the product. Espírito Santo is one of the largest coffee producers in Brazil, therefore, it is extremely important to evaluate the quality of coffee produced in the state. Aiming to propose new analytical methodologies by applying spectroscopy techniques in the portable near infrared region (microNIR) and Fourier Transform Ion Cyclotronic Resonance mass spectrometry (FT-ICR MS), the work was divided into three chapters in which factors involving the pre- and post-harvest of coffee beans were evaluated, including: 1) compare the results of FT-ICR MS, microNIR and sensory analysis to evaluate the cultivation of Robusta coffee in an Agroforestry System (AFS) with gliricidia, ingá, peach palm and banana tree; 2) build models of principal component analysis (PCA) and partial least squares regression (PLS) using microNIR spectra to verify the influence of roasting temperature on Arabica/Conilon coffee blends and the presence of adulterants such as corn and husks/sticks in Arabica coffee and 3) identify adulterations with *Coffea canephora* (Conilon) sludge at different levels (0 - 100 wt% of adulterant), through the analytical technique of portable NIR associated with chemometric tools: PCA, PLS-DA, SIMCA, PLS. These studies showed that the components responsible for distinguishing the samples grown with different species in SAF were chlorogenic acids and that the microNIR results corroborated with the ESI(-)FT-ICR MS data and the sensory analysis, grouping coffees grown in the associated AFS with *Gliricidia sepium* and *Inga edulis*. The qualitative and quantitative assessment of the presence of adulterants proved the ability of the portable NIR method to be efficient and capable of predicting adulteration with minimal levels of quantification (LOQs of 5–8% wt% for husks/sticks and corn, and in the range of 17-26 wt% for coffee grounds), which can be applied in the quality control of commercial coffee samples. It was also possible to identify that the roasting temperature affects the discrimination of Arabica and Conilon coffee blends and the drying temperature of the grounds influences the identification in blends with Conilon coffee. However, it was possible to obtain low accuracy values and good classification of authentic and non-authentic samples when evaluating the presence of coffee grounds.

Keywords: coffee, quality control, FT-ICR MS, portable NIR, adulteration.

1. ESTADO DA ARTE

1.1 CAFÉ

Os registros mostram que o café foi descoberto pela primeira vez na Etiópia - África e os responsáveis por dominar a técnica de plantio e cultivo foram os árabes (RODRIGUES, DIAS, TEIXEIRA, 2015), no entanto, há rumores sem comprovação de que os espartanos já consumiam a bebida (PARTELLI, 2016). Durante longos anos, o lêmén manteve segredo sobre a produção da bebida e somente em 1616, o cultivo de café foi levado para Europa, inicialmente em Amsterdã. A experiência dos holandeses fez com que as sementes de café se propagassem por outras colônias europeias e, com o crescente mercado consumidor, aos países africanos, entre outros (UKERS, 1922).

Em 1727 chegou ao norte do Brasil sendo direcionada a Belém do Pará e logo dispersou-se por São Paulo, Rio de Janeiro e outros lugares como Minas Gerais, Maranhão, Pará e Bahia. Por volta de 1890 passou a representar, aproximadamente, 70% do valor das exportações do país (FASSIO e SILVA, 2007), mas também houveram períodos de crises relacionadas a alta dos preços, guerras mundiais, dentre outras. A partir deste momento, a economia do Brasil melhorou significativamente, sendo o estado do Rio de Janeiro o primeiro maior produtor deste fruto. Rio de Janeiro cedeu então, a posição ao estado de São Paulo, que se tornou o estado mais rico do país e o café, o principal produto de exportação. O café proporcionou melhoras na infraestrutura do país como a construção da estrada para o porto de Santos. O período foi tão importante que ficou conhecido politicamente como Café com Leite, em referência a produção de café em São Paulo e de leite em Minas Gerais (RODRIGUES, DIAS, TEIXEIRA, 2015).

Nas primeiras décadas do século XX, as sementes de cafés Conilon chegaram às terras capixabas, com objetivo de encontrar a região ideal para seu cultivo (CENTRO DO COMÉRCIO DE CAFÉ DE VITÓRIA (CCCV)). Contudo, no século XIX, o café arábica já havia encontrado o território espírito-santense através do vale do Rio Paranaíba. O cultivo dos cafezais no estado, iniciou-se sob influência do Rio de Janeiro, substituindo a plantação de cana-de-açúcar e percorreu por diversas crises, dentre elas, em 1958 com a desvalorização da

moeda nacional, os produtores foram obrigados a erradicar os cafezais fora de regiões agrícolas (inapropriadas às plantações de cafés) e que apresentasse produtividade menor que 6 sacas beneficiadas/1000 pés, isto causou uma crise social, resultando no êxodo rural. Somente em 1970 que o estímulo à produção cafeeira retornou (CAFEICULTURA, 2005; RODRIGUES, DIAS, TEIXEIRA, 2015).

Na configuração atual, o Brasil é um dos países mais importantes na produção/exportação de cafés e segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) no ano cafeeiro 2019, o país atingiu 49 milhões de sacas, sendo responsável por 28% da produção mundial. Dentre os estados brasileiros, o Espírito Santo tornou-se o 1º maior produtor de cafés Conilon do Brasil, sendo o café responsável por 35% do Produto Interno Bruto (PIB) agrícola capixaba. Já em relação ao consumo de café à nível mundial nos anos de 2012, 2013, 2014 e 2015 o valor foi de 143,3; 148,1; 150,2 e 152,1 milhões de sacas, respectivamente, e atualmente é previsto que o ano-cafeeiro 2020-2021, deverá ultrapassar o equivalente a 166 milhões de sacas, volume que representa um aumento de 1,9%, se comparado ao consumo do ano-cafeeiro anterior (2019/20) (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION (ICO)).

Tais informações demonstram a importância da atividade cafeeira para o estado e país e consequentemente a relevância das pesquisas que envolvam o controle da qualidade dos cafés. Segundo a base de dados *Web of Science* e *Scopus*, os países que mais publicaram pesquisas, nos últimos 10 anos, envolvendo controle da qualidade de cafés foram Brasil, China e EUA, em 1º, 2º e 3º lugar, respectivamente, **Figura 1**. Outra pesquisa mostrou que EUA, Portugal e Suíça foram os principais colaboradores do Brasil em publicações sobre café relacionadas a análises do controle da qualidade.

No Brasil, as primeiras pesquisas foram sobre as consequências na qualidade da bebida devido a permanência dos grãos no chão e a presença de microorganismos (KRUG, 1940) e a relação do processo fermentativo e a presença de grãos defeituosos, dentre eles pretos e ardidos (BIATTANCOURT, 1956). Em 2019 a EMBRAPA divulgou um estudo comparativo sobre a qualidade do café que levou em consideração as safras de 2017-2018 em relação ao desempenho da produção, tecnologia de colheita e pós-colheita, pragas/doenças, comercialização e pôr fim a bebida dos seis principais estados

produtores: Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia e Paraná. O levantamento apontou melhorias significativas da qualidade do café produzido no país e constatou que as pesquisas científicas foram importantes para o aperfeiçoamento dos processos antes e pós-colheita (EMBRAPA, 2019).

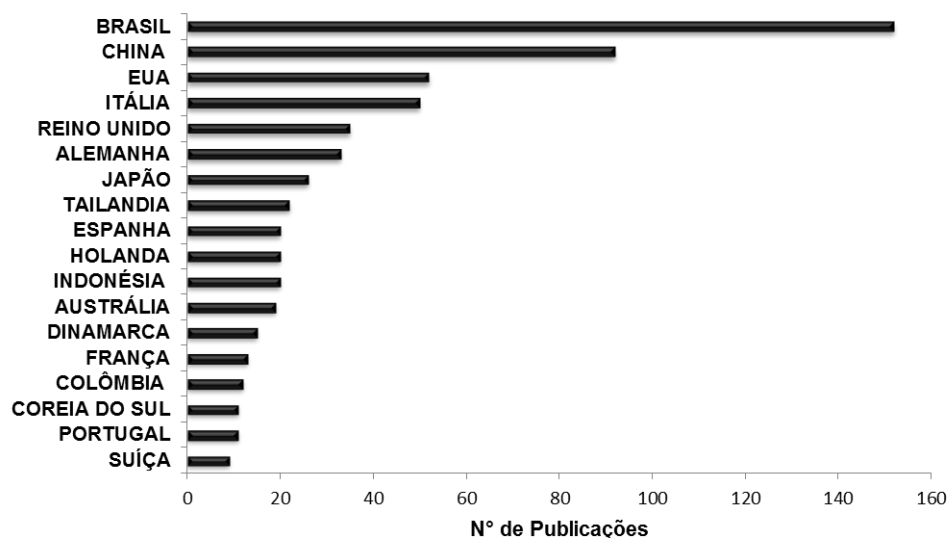


Figura 1. Frequência de publicações sobre cafés dos principais países (período 2011-abril/2021, base de dados *Web of Science* e *Scopus*).

1.1.1 GENERO *COFFEA* - ESPÉCIES

Os frutos mais importantes no mercado mundial são provenientes do gênero *Coffea* L., principalmente a espécie *Coffea canephora* e *Coffea arabica* (VIEIRA, FERREIRA, PARTELLI *et al.*, 2019). De acordo com FERRÃO, FONSECA, FERRÃO *et al.* (2017), a variedade Conilon possui características como arbusto multicaule, folhagem grande, frutos esféricos e menores, sementes de tamanhos variados com película prateada aderente e maior teor de cafeína. O café Conilon constitui-se também como componente importante na composição dos "*blends*" com café arábica nas indústrias de torrado e moído, e como matéria-prima básica na indústria de solubilização, principalmente, por apresentar maior teor de sólidos solúveis, e menores preços médios em sua comercialização (FASSIO e SILVA, 2007). A CONAB estimou que no período de janeiro-agosto de 2020, o Brasil exportou café solúvel para 87 países, o que gerou o embarque equivalente a 26,4 milhões de sacas de 60kg, volume 3% inferior às exportações do mesmo período do ano anterior. Além disso, os cafeeiros da espécie *C. canephora* apresentam também alta produtividade, ampla base genética, alto vigor vegetativo, arquitetura adequada para o

adensamento e adaptação às regiões aptas ao cultivo do Conilon no estado. Essa cultivar proporciona ao cafeicultor maior estabilidade na produção, pela sua maior variabilidade genética, desta maneira, a busca por cultivares melhoradas de cafeeiros é fundamental para a viabilidade econômica desta atividade agroindustrial e ao desenvolvimento de uma cafeicultura eficiente, competitiva, ambientalmente correta e de qualidade (PARTELLI, OLIOSI, DALAZEN *et al.*, 2021; VIEIRA, FERREIRA, PARTELLI *et al.*, 2019; GOMES, PARTELLI, OLIVEIRA *et al.*, 2020).

A *Coffea arabica* possui plantas mais escuras e menores, que geram menor quantidade de frutos, é mais sensível, sobrevivem em lugares com maior altitude, e seus frutos são ovalados. Esta espécie representa mais de 60% da produção mundial (TOLEDO, PEZZA, PEZZA, 2016).

A **Figura 2** mostra as diferenças no perfil químico dos grãos crus das espécies *Coffea canephora* e *Coffea arabica*. Observa-se que a *Coffea arabica* possui, principalmente, maior teor de polissacarídeos insolúveis, além de maior teor de carboidratos solúveis, sendo eles frutose, glicose, sacarose, dentre outros (VAZ, 2019; BABOVA, OCCHIPINTI, MAFFEI, 2016). Já a *Coffea canephora* se destaca por ter maior teor de cafeína e ácidos clorogênicos. Devido a composição química o café arábica é caracterizado por ter sabor suave e portanto, custo mais elevado.

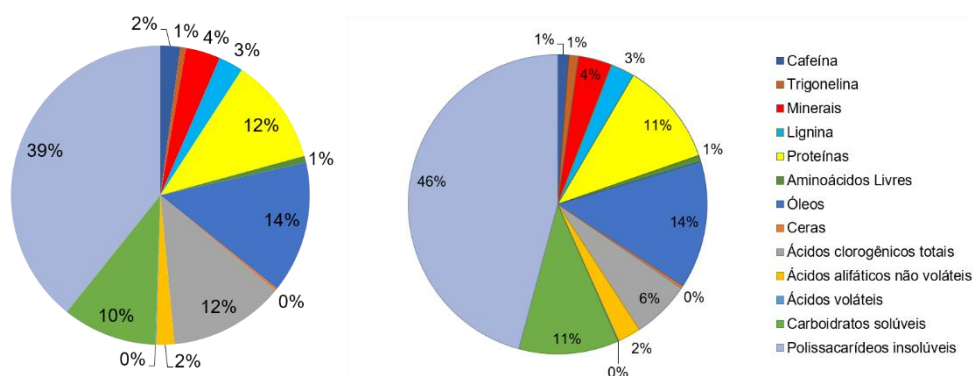


Figura 2. Composição química aproximada dos grãos crus de *Coffea canephora* e *arabica* L., respectivamente (VAZ, 2019).

1.1.2 PROCESSAMENTO DO CAFÉ

A qualidade da bebida depende, principalmente das etapas de processamento do café tais como colheita, fermentação, secagem,

beneficiamento, armazenamento, torrefação, moagem e extração (CLIFFORD, 1985), pois estão diretamente relacionadas aos componentes necessários aos frutos.

O ápice do fruto de café é atingido quando há equilíbrio no desenvolvimento de todos os seus componentes, sendo eles, casca, mucilagem, pergaminho e semente. Apesar da complexidade que envolve as interações bioquímicas nos frutos, o objetivo é oferecer condições para que as reações físico-químicas posteriores ocorram, garantindo as necessidades para produtos de qualidade. Este estágio foi denominado como “cereja”, ou seja, o ponto ideal para colheita. De acordo com LEMOS, PEREZ, DA CUNHA *et al.*, (2019) a colheita deve ser realizada no ponto ideal de maturação pois importantes precursores químicos são agregados ao café, no entanto, na plantação há a presença, não só de frutos maduros, mas também verdes e/ou secos, dentre outros, resultando em diferentes graus de maturação.

Há duas formas básicas de processamento, que vem sendo adaptadas conforme preferência do produtor. Na via seca, os grãos de cafés encontram-se com casca no processo de secagem, objetivando manter o fruto intacto. Por via úmida entende-se: 1) cereja descascado, onde remove-se a casca mecanicamente, 2) desmucilado, removendo a casca e mucilagem via processo mecânico e 3) despulpado, com remoção da casca e mucilagem via fermentação (PEREIRA, 2017).

Desta maneira, são levados a terreiros e/ou secadores mecânicos (secagem artificial por fornalhas ou queimadores de gás) para secagem (ESALQ – USP). CHAULFON e FERNANDES (2013) citam que cafés processados por via úmida apresentam sabor mais suave, menos corpo e alta acidez, enquanto os cafés via seca podem apresentar menor acidez, adstringência e mais corpo. PEREIRA, MORELI, MOREIRA *et al.* (2019) mostraram através da análise sensorial a melhora na qualidade dos cafés após variar o tempo e condições de fermentação, processo realizado na secagem via úmida, de cafés da espécie *Canephora*. Os autores encontraram resultados positivos com uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* sp. nas condições de totalmente lavado com levedura.

O armazenamento consiste em guardar os grãos em local seco e bem ventilado, e de preferência sem contato com o chão, pois sem controle das

variáveis envolvidas, como temperatura e umidade, pode haver deterioração dos grãos (DE ABREU, ROSA, CIRILLO *et al.*, 2017).

Outro fator importante é que as cooperativas a fim de coletar volume suficiente para exportar, armazenam grãos verdes por períodos mais extensos que o ideal. DE ABREU, ROSA, CIRILLO *et al.* (2017) analisaram grãos de cafés, após dois processos de secagem, via seca e via úmida, e armazenadas em sacos de polipropileno em diferentes condições: câmara fria (10°C e 50°C), processo controlado, e à temperatura ambiente, sem controle da umidade relativa do ar, durante 3, 6 e 12 meses. Foi possível concluir que a armazenagem ótima para preservação da qualidade sensorial (protocolo *Specialty Coffee Association*), fisiológica (teste de germinação) e química (condutividade elétrica, acidez, açúcares totais, lixiviação de potássio) é em 10°C por sete meses para o café via seca, e três meses para via úmida.

A torrefação é a etapa primordial na definição de cor, sabor, aroma e acidez do produto e antecede a moagem. Esta etapa varia conforme o tempo de contato dos grãos à temperatura definida, classificando-se em clara, média e escura (CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018).

Nesta etapa ocorrem reações químicas, como a reação de Maillard, que caracteriza a reação entre açúcares redutores e, principalmente, aminoácidos formando compostos essenciais aos cafés. HEIDE, CZECH, EHLERT *et al.*, 2020 acompanharam a torrefação dos cafés para demonstrar a capacidade preditiva do controle de processo online em tempo real. Os autores mostraram que à medida que a torrefação evoluía as piridinas, e alguns compostos da reação de Maillard como hidroximetilfurfural e 2,3-dihidro3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona, e os ácidos clorogênicos foram consideradas as variáveis mais importantes no processo. YERGENSON e ASTON (2019) monitoraram a etapa de torra de cafés por espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR). As amostras de torrefação analisadas consistiam em oito variedades de café arábica com diferentes origens e métodos de processamento, torrado com quatro perfis de temperatura-tempo e conseguiram prever o início e o fim dos dois eventos de craqueamento. Além de associar as mudanças na temperatura com as bandas na região de 5.000 a 4.000 cm^{-1} . Segundo os autores esses dois processos são caracterizados por sons de estalos durante a torrefação, sendo o primeiro (crack) devido à pressão interna resultando na expansão e rachadura

no meio do grão, e o segundo (crack) está associada à migração de óleos para a superfície do grão e às vezes, mais rachaduras.

Como não há maneiras de reverter as alterações da baixa qualidade das bebidas, a busca por diferentes métodos e processos pós-colheita vem sendo empregada, pois com tantas variáveis envolvendo o processamento pós-colheita dos cafés, é notório que todos sejam realizados com eficiência e de maneira adequada a fim de garantir produtos de qualidade.

1.1.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Os principais parâmetros de qualidade são o sabor e aroma da bebida e os mesmos são provenientes dos processos químicos antes e pós-colheita, conforme visto anteriormente. CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.* (2016); GARRET, VAZ, HOVELL *et al.* (2012); CLIFFORD, JOHNSTON, KNIGHT *et al.* (2003); TOLEDO, PEZZA, PEZZA *et al.* (2016) identificaram a presença de compostos voláteis, e não voláteis como alcaloides, ácidos graxos, ácidos clorogênicos (ACG), açúcares, minerais, dentre outros componentes e após pesquisas estabeleceram a importância destes compostos na qualidade dos cafés. A **Figura 3** apresenta alguns dos principais compostos não voláteis destacados pelos autores, presentes em amostras de cafés.

Os principais alcaloides presentes em amostras de cafés são cafeína e trigonelina, **Figura 3**, sendo a última responsável, após torrefação, por resultar em compostos voláteis responsáveis pelo aroma. A cafeína tem importância no amargor, valor nutricional da bebida e estimulação do sistema nervoso central (DOS SANTOS e BOFFO, 2019).

Outra classe citada são os ACG, (ácido cafeoilquínico, ácido feruloilquínico, **Figura 3**, ácido dicafeoilquínico, ácido cafeoilferuloilquínico e ácido cafeoilchiquímico) que são ésteres do ácido cafeico e ácido quínico, ou seja, são compostos fenólicos, sendo essenciais para sabor e aroma, além da atividade antioxidante do produto final. Estes compostos foram descobertos em 1802 e chamado de ácido cáfico, por Payesse. Somente em 1965 sua estrutura e de seus isômeros foram elucidadas. Dois anos depois, LEHMANN e HAHN (1967), citado por AMORIM, GUERCIO, CORTEZ *et al.* (1973) determinaram quantitativamente trigonelina e ACG, através da extração com metanol e

posterior uso de coluna de poliamida. Após esse processo, os ACG foram analisados por um espectrofotômetro e determinados na região de 324 nm. Já em 2003, CLIFFORD, JOHNSTON, KNIGHT *et al.* realizaram estudos somente destas moléculas, devido a sua importância nos grãos de cafés Conilon e por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS identificaram 18 compostos e derivados dos ACG's.

Os carboidratos são um dos principais constituintes do café e auxiliam nas propriedades organolépticas (CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020). Estes compostos estão presentes no grão na forma de polissacarídeos e como açúcares de baixa massa molar, que incluem tri, di e monossacarídeos redutores e não redutores. O café Conilon possui menor teor de carboidratos em relação ao arábica, conforme constatado por LEMOS, PEREZ, DA CUNHA *et al.* (2019), e a sacarose, **Figura 3**, é o açúcar mais importante para a etapa de pigmentação, aroma e sabor após processo de torra (FERRÃO, FONSECA, FERRÃO *et al.*, 2017), principalmente pelo fato de originar substâncias que afetam a análise sensorial da bebida como, por exemplo, glicose e frutose. BRIOSCHI, GUARÇONI, da SILVA *et al.*, (2021) afirmaram que, por exemplo, no início da fermentação do café açúcares simples como frutose, glicose e sacarose são usados no metabolismo intrínseco antes dos açúcares complexos.

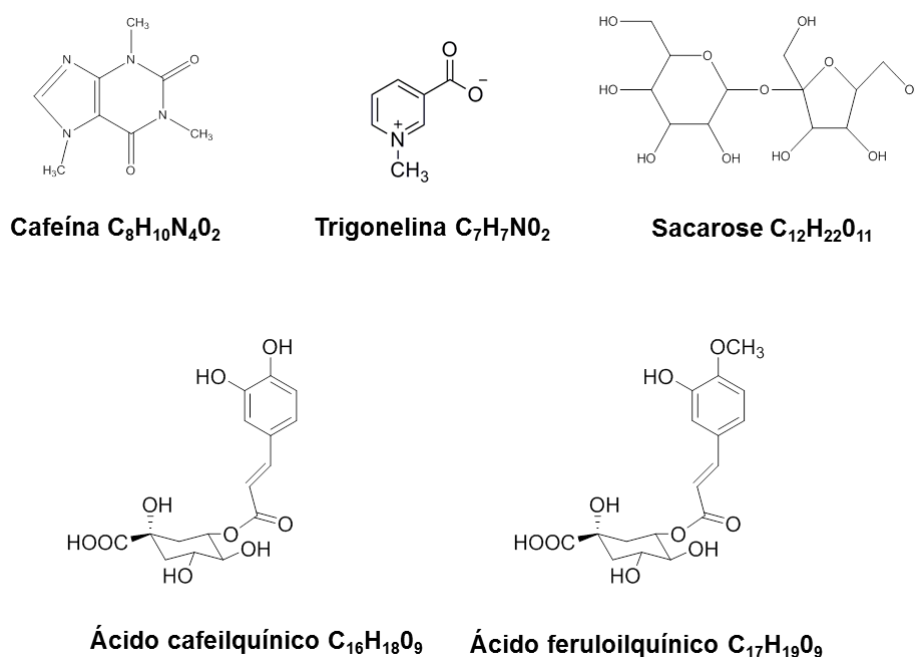


Figura 3. Alguns compostos presentes no grão de café.

Há também a presença de nutrientes que dividem-se em macro e micro, sendo Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Enxofre (S) macronutrientes, e Ferro (Fe), Zinco (Zn), Manganês (Mn), Boro (B) e Cobre (Cu), micronutrientes e o teor destes variam de acordo com a localidade, genótipo, maturação, e outros fatores no antes e pós-colheita. Dentre todos o N é o responsável por aproximadamente 38% do total de nutrientes no cafeeiro Conilon (FERRÃO, FONSECA, FERRÃO *et al.*, 2017). COVRE, RODRIGUES, VIEIRA *et al.*, (2016) avaliaram cafés irrigados e não irrigados e constataram que não houve diferença significativa entre os dois métodos para os macronutrientes, exceto para P. Os autores relataram que nos frutos havia maior concentração em ordem decrescente de N, K e P, e nas cascas K, N e Ca. SAMSONOWICZ, REGULSKA, KARPOWICZ *et al.*, (2019) citam que metais como Ca e Mg podem complexar com os compostos fenólicos e aumentar ou diminuir as propriedades antioxidantes do café. O primeiro trabalho publicado sobre a composição mineral do cafeeiro foi em 1895 por Dafert (CATANI, PELLEGRINO e BERGAMIN FILHO, 1965) mostrando a porcentagem de K, Mg e P nas plantas de cafés.

Dessa forma, fica evidenciado que o perfil químico depende do desenvolvimento e controle dos processos de produção dos grãos de café, sendo eles pré-colheita com o manejo e formas de cultivo dos frutos e pós-colheita como fermentação, secagem, torrefação, armazenamento, dentre outros.

1.1.4 CAFÉ EM SISTEMAS AGROFLORESTAIS

Novos sistemas de cultivo, como os Sistemas Agroflorestais (SAF), se tornaram excelente alternativa após o despertar à sustentabilidade e ao gerenciamento ecológico da etapa produtiva do cafeeiro por parte dos produtores. Além da consciência à novos produtos e novos equipamentos/processos de preparo e elaboração do produto final dos cafés pelos consumidores, que estimularam mudanças significativas na produção deste fruto, desta maneira, foi possível alinhar vantagens ambientais, sociais e econômicas ao controle da qualidade de cafés.

Os sistemas agroflorestais são sistemas de cultivo em consórcio a outros cultivos e constituem-se em uma alternativa de manejo da terra aliada a estabilidade do ecossistema visando eficiência e otimização de recursos naturais na produção, garantindo sustentabilidade e maior diversidade em comparação a sistemas tradicionais (VERCHOT, MACKENSEN, KANDJI *et al.*, 2005). A monocultura traz altos custos de irrigação, fertilização e no uso de agrotóxicos, além de favorecer o surgimento em que busca-se o equilíbrio entre recursos naturais e sua exploração (FERRÃO, FONSECA, FERRÃO *et al.*, 2017).

Do ponto de vista ecológico, os SAF são uma alternativa quanto aos problemas da baixa produtividade devido a redução da capacidade produtiva do solo, de escassez de alimentos, da manutenção da biodiversidade (KLEIN, STEFFAN-DEWENTER, BUCHORI *et al.*, 2002; BOREUXA, KUSHALAPPAB, VAASTC *et al.*, 2013) e da degradação ambiental generalizada (NOPONEN, HAGGAR, EDWARDS-JONES *et al.*, 2013), pois a integração de culturas agrícolas à florestas pode favorecer maior fixação de nitrogênio por leguminosas, menor competição entre as culturas agrícolas nas camadas mais superficiais do solo (rizosfera), proteção do solo (TUMWEBAZE e BYAKAGABA, 2016), sequestro de carbono (NOPONEN, HAGGAR, EDWARDS-JONES *et al.*, 2013; NOPONEN, HEALEY, SOTO *et al.*, 2013; VELMOUROUGANE, 2015), dentre outros.

O Brasil possui território rico e extenso em biomas, e consequentemente, potencial uso significativo para sistemas sustentáveis. Através da Lei 12.651/2012 foi possível a implementação de culturas sistematizadas como o SAF, em área de proteção em pequenas propriedades. Dois anos depois, a Instrução Normativa MMA nº 2 consolidou as informações de propriedades rurais com objetivo de combater, monitorar e controlar o desmatamento, bem como informar o planejamento econômico e ambiental. GOMES, BIANCHI, CARDOSO *et al.* (2020) avaliaram projeções climáticas para o ano de 2050 no país, através de modelos computacionais, e concluíram que há a possibilidade de aumento da temperatura, em aproximadamente, 1,7 °C e desta maneira, não haverá condições favoráveis para o cultivo de café arábica, caso persistam no sistema tradicional. Os autores concluíram que se houver adoção do SAF com 50% de cobertura foliar, há possibilidade de manter 75% da área adequada, ao reduzir a temperatura média.

Ao incorporar esse sistema à produção de café foi constatado que auxilia também no fornecimento de alimentos, controle de pragas, polinização, reciclagem de nutrientes, redução de estresse causado por altas temperaturas e aumento no período de maturação dos frutos, resultando em grãos de melhor qualidade. VELMOUROUGANE (2015) determinou, através de resultados de análises sensoriais e físico-químicas e aplicação de testes estatísticos, que o teor de carbono orgânico foi influenciado pelo sombreamento e enfatizaram que SAF's com cultivo de café em áreas de baixa altitude com sombreamento espesso possuem maior retenção hídrica em relação a locais com alta altitude e cultivo tradicional (sem sombreamento), além de solos com pH neutro. PEZZOPANE, MARSETTI, SOUZA *et al.* (2010) demonstraram que a arborização dos cafezais diminuiu o aporte térmico em 2,2% em relação ao modelo à pleno sol, através de medições microclimáticas, como umidade relativa, temperatura e velocidade do vento. MUSCHLER (2001) identificou aumento na massa e tamanho dos grãos de café arábica quando cultivado em SAF. NESPER, KUEFFER, KRISHNAN *et al.* (2017) também relataram que houve alta produção e qualidade de cafés quando em consórcio, além de avaliar a polinização e o acesso de pragas. Os autores analisaram 25 áreas de plantações com diferentes gradientes de precipitação pluviométrica, com agricultura orgânica e tradicional. Outros autores estudaram os benefícios destes sistemas como GUILLEMOT, LE MAIRE, MUNISHAMAPPA *et al.* (2018), que estudaram a promoção dos SAF's para conciliar produção agrícola como o cultivo do café proveniente daquela região, conservação da biodiversidade e armazenamento de carbono orgânico da região de Karnataka, Índia, além da discussão em torno da mitigação climática.

Na literatura há pouco estudo sobre os SAF que envolvam técnicas analíticas para avaliar o perfil químico dos frutos e, portanto, as análises físico-químicas e sensoriais são os métodos mais aplicados para o controle da qualidade de cafés cultivados nesses sistemas arbóreos.

Dentre esses estudos que abordam técnicas analíticas modernas encontram-se CARDOSO, VAN DER MEER, OENEMA *et al.* (2003) que analisaram o teor de Fósforo (P) orgânico e inorgânico, definido como nutriente importante para a produção agrícola, em solos de sistemas agroflorestais e tradicionais de cultivo de café por ressonância magnética nuclear de P (^{31}P

RMN). Os autores comprovaram que os SAF manteriam maiores frações de P disponível para a produção agrícola em relação à monocultura, ao verificar a profundidade do solo e a presença da agrossilvicultura. Recentemente, DUANGSODSRI, VILLAIN, VESTALYS *et al.* (2020) analisaram as plantas de café arábica a fim de determinar os compostos fenólicos e seus padrões em resposta a intensidade da luz, em campos à pleno sol e com 50% de sombra (SAF) por cromatografia líquida acoplada a detector por arranjo de diodo e espectrometria de massa (LC-DAD-MS², do inglês *liquid chromatography coupled to detector by diode array and mass spectrometry*) e cromatografia líquida de alta performance com detector de arranjo por diodo (HPLC-DAD, do inglês *high performance liquid chromatography with detector by diode array*) e identificaram 23 compostos, dentre o ácido cafeoilquínico (5-ACQ).

Os resultados mostraram que os cafés (cv. Masellesa) mais bem adaptados a alta intensidade de luz apresentaram os menores teores de 5-CQA, característica que foi preservada quando cultivada na sombra. Ainda em 2020, DE FREITAS, NADALETI, SILVEIRA *et al.*, avaliaram a produtividade e qualidade sensorial de cafés arábicas da variedade Catuaí Vermelho IAC 99 sob a influência de algumas espécies arbóreas e concluíram que os valores de produtividade e atributos sensoriais foram superiores quando o café se encontrava consorciado com mogno da África. Já AGUIAR, RIBEIRO, RAMOS *et al.* (2021) usaram a técnica NIR aliada a ferramentas quimiométricas para avaliar o teor de umidade e matéria orgânica (MO) em solos com cultivo de arroz e café em SAF, arroz e milho em monocultura, além do pasto e Caatinga.

A estruturação dos solos de café em SAF apresentaram maior teor de matéria orgânica e tempo de retenção de umidade, além dos resultados dos espectros mostrarem a composição da MO presente no solo dos cafezais.

Outra questão a ser discutida é a definição das espécies arbóreas a serem usadas nos sistemas de sombreamento. BRUM (2007) informa que uma das principais características deve ser a possibilidade de diferentes ciclagens de nutrientes, devido ao fornecimento ao cafeeiro.

Mas também pode-se agregar valores econômicos relacionado aos produtos gerados do seu cultivo. Dentre as possíveis espécies para consorciar com plantas de cafés encontram-se a Ingá, Bananeira, Gliricídia e Pupunha

(VALENCIA, WEST, STERLING *et al.*, 2015; VALENCIA, NAEEM, BARRIOS *et al.*, 2016).

Até o momento foram verificadas que as abordagens das etapas antes e pós-colheita, sendo uma delas o cultivo em SAF, influenciam na qualidade dos cafés, mas a garantia da qualidade também é um dos meios de prevenção em relação a outras ações, como a adulteração de cafés.

1.1.5 ADULTERAÇÕES DE CAFÉS

O café é um dos 10 produtos alimentícios que correm maior risco de fraudes (BURNS e WALKER, 2020), além do azeite, peixe, grãos, mel, chá, vinho, leite, carne e produtos biológicos. Em 1851 foi constatada a prática de adulteração de cafés através de análise de microscopia óptica, e os componentes encontrados foram chicória, milho e feijão (SHARPE, 1851; SMITH, 2001). No entanto, em 1820, já havia relatos de casos de falsificação deste produto, levando a acusações e processos judiciais aos infratores, porém ainda sem constatação analítica desta ação. Em 1853, o *The Lancet* reportou novamente a fraude em cafés comerciais com raiz de chicória em concentrações de até 50 wt% (SHARPE, 1851; SMITH, 2001). Na época, obviamente, os consumidores não foram devidamente informados.

Inicialmente, a chicória foi o adulterante mais utilizado em fraudes de cafés, principalmente na Grã-Bretanha e no continente Europeu (SHARPE, 1851; SMITH, 2001; BURNS e WALKER, 2020; BRIANDET, KEMSLEY E WILSON, 1996; PRADANA-LÓPEZ, PÉREZ-CALABUIG, CANCELLA *et al.* 2021). No entanto, com as mudanças no perfil do consumidor, outros materiais foram introduzidos e/ou usados com maior frequência para driblar as estratégias de regulação.

A primeira lei que definiu como prática criminosa a fraude em amostras de cafés, foi instituída na Inglaterra em 1803, e declarava que o vendedor ou negociante deveria arcar com 100 libras caso fosse identificado. Hoje, o Brasil possui órgãos como a Associação Brasileira da Indústria do Café (ABIC) e o Conselho Deliberativo da Política do Café (CDPC) que estabelecem normas e projetos que visam o controle da qualidade deste fruto.

Um deles é o Programa de Qualidade do Café que é regulamentado pela Instrução Normativa de 2010, que limita a quantidade de impurezas totais adicionadas ao café torrado, sendo o valor máximo de 1 wt% (MAPA). Segundo DANIEL, LOPES, SANTOS *et al.* (2018), aproximadamente 25% das marcas disponíveis no mercado adulteram o café torrado. Há também o envolvimento de órgãos internacionais como a ICO e a Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO) garantindo o fortalecimento da atividade cafeeira e/ou a qualidade deste fruto (OLIVEIRA, FARAH, FREITAS-SILVA *et al.* 2015).

Os adulterantes são grãos que possuem, normalmente, as seguintes características a) baixo custo, b) composição química similar, e c) características físicas que favoreçam a semelhança após a torra e moagem, sendo o objetivo desta prática obter benefícios econômicos.

A adulteração de café pode estar relacionada à adição de grãos defeituosos, espécies/variedades ou origem geográficas diferentes (CAMPANHA, DIAS e BENASSI, 2010; GARRET, VAZ, HOVELL *et al.*, 2012; CONSONNI, CAGLIANI e COGLIATI, 2012; CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016; MEDINA, CARO-RODRÍGUEZ, ARANA *et al.*, 2017; SUHANDY E YULIA *et al.*, 2017; CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018; SUHANDY, YULIA, OGAWA *et al.*, 2018; OBEIDAT, HAMMOUDEH, ALOMARYB *et al.*, 2018; ADNAN, NAUMANN, MORLEIN, *et al.*, 2020; NÚÑEZ, COLLADO, MARTÍNEZ *et al.*, 2020; NÚÑEZ, SAURINA, NÚÑEZ *et al.*, 2021b), e a adição de outras substâncias. Em relação a este último tipo de adulterante, os principais são milho, soja, cascas/paus, arroz, cevada e atualmente, a borra de café, conforme a **Tabela 1**.

Tabela 1. Principais adulterantes e artigos publicados.

Principais adulterantes	Autores
Milho	JHAM <i>et al.</i> , 2007;
	JHAM <i>et al.</i> , 2008;
	GARCIA <i>et al.</i> , 2009;
	REIS <i>et al.</i> , 2013a;
	REIS <i>et al.</i> , 2013b;
	WINKLER-MOSER <i>et al.</i> , 2015;
	REIS <i>et al.</i> , 2016;
	TAVARES <i>et al.</i> , 2016;
	BRONDI <i>et al.</i> , 2017;
	DE MOURA <i>et al.</i> , 2017;
	REIS <i>et al.</i> , 2017;
	RIBEIRO <i>et al.</i> , 2017;

	CORREIA <i>et al.</i> , 2018; DANIEL <i>et al.</i> , 2018; SEZER <i>et al.</i> , 2018; ARRIETA <i>et al.</i> , 2019; FLORES-VALDEZ <i>et al.</i> , 2020; MILANI <i>et al.</i> , 2020
Soja	PAULI <i>et al.</i> , 2014; CAI <i>et al.</i> , 2016; DE MOURA <i>et al.</i> , 2017; RIBEIRO <i>et al.</i> , 2017; DANIEL <i>et al.</i> , 2018; ARRIETA <i>et al.</i> , 2019; CHEAH e FRANG 2020; FLORES-VALDEZ <i>et al.</i> , 2020; MILANI <i>et al.</i> , 2020
Cascas e paus	PRODOLLIET <i>et al.</i> , 1995; NOGUEIRA e DO LAGO, 2009; GARCIA <i>et al.</i> , 2009; PAULI <i>et al.</i> , 2011; TAVARES <i>et al.</i> , 2012; REIS <i>et al.</i> , 2013a; REIS <i>et al.</i> , 2013b; AQUINO <i>et al.</i> , 2014; DE CARVALHO <i>et al.</i> , 2015; SOUTO <i>et al.</i> , 2015; REIS <i>et al.</i> , 2016; DE MOURA <i>et al.</i> , 2017; REIS <i>et al.</i> , 2017; RIBEIRO <i>et al.</i> , 2017; CORREIA <i>et al.</i> , 2018; DE MORAIS <i>et al.</i> , 2019; FLORES-VALDEZ <i>et al.</i> , 2020; MILANI <i>et al.</i> , 2020
Cevada	REIS <i>et al.</i> , 2013a; FERREIRA <i>et al.</i> , 2016; REIS <i>et al.</i> , 2016; DE MOURA <i>et al.</i> , 2017; REIS <i>et al.</i> , 2017; RIBEIRO <i>et al.</i> , 2017; CHEN <i>et al.</i> , 2018; SONG <i>et al.</i> , 2018; FLORES-VALDEZ <i>et al.</i> , 2020; PRADANA-LÓPEZ <i>et al.</i> , 2021; MILANI <i>et al.</i> , 2020
Arroz	SONG <i>et al.</i> , 2018; FLORES-VALDEZ <i>et al.</i> , 2020; MILANI <i>et al.</i> , 2020
Borra de café	REIS <i>et al.</i> , 2013a; REIS <i>et al.</i> , 2016; REIS <i>et al.</i> , 2017; CHEAH e FRANG. 2020

As cascas e paus são frequentemente usadas devido à similaridade na composição química com amostras de cafés, uma vez que são geradas pelo processamento do próprio café e por isso em alguns casos, sua presença é considerada não intencional. As cascas do café são o principal resíduo do

processamento pela via seca e correspondem a 12% do fruto (VAZ, 2019),

Tabela 2.

Tabela 2. Composição química das cascas de café (Vaz, 2019).

Componente	Quantidade (%)
Carboidratos simples	58-72
Ácidos clorogênicos	2,5
Cafeína	1
Proteínas	7-9,2
Minerais	5,4
Celulose	25-43
Hemicelulose	7-11
Taninos	5
Lignina	ND
Água	ND

ND – não identificado.

A soja, o milho, a cevada e o arroz são frequentemente usados, pois após o processo de torrefação assemelham-se fisicamente aos grãos de café, além do pó fino do café aderir à sua superfície, dificultando a identificação (MILANI, ROSSINI, CATELANI *et al.* 2020).

Por fim, a borra de café vem sendo empregada como adulterante por ser, principalmente, de fácil acesso, uma vez que é o resíduo do preparo da bebida.

A borra do café é um resíduo gerado durante a preparação da bebida. Ela equivale a aproximadamente 50% do café torrado e gera anualmente, aproximadamente, 6 milhões de toneladas em todo o mundo (VAZ, 2019). Outros materiais como alguns legumes, nozes e cereais também já foram encontrados em amostras de cafés, mas por não possuírem, principalmente, a cafeína em sua composição (FLORES-VALDEZ, MEZA-MÁRQUEZ, OSORIO-REVILLA *et al.* 2020), é mais fácil identificá-los e assim determinar a fraude.

Por ser uma das bebidas mais populares e ser caracterizada como um dos principais produtos de exportação do mundo (BARBIN, FELICIO, SUN *et al.* 2014), a autenticidade e integridade das amostras de cafés é de suma importância para os consumidores, indústria cafeeira e as agências reguladoras.

Desta maneira, há um investimento e, portanto, um avanço significativo em propor metodologias analíticas que visem identificar estas práticas fraudulentas e assim facilitar o controle da qualidade de cafés.

O ano de 2020, segundo a base de dados *Web of Science* e *Scopus*, foi um dos anos que houve maior publicação de artigos científicos sobre adulteração de cafés com 14 publicações entre artigos de pesquisa e revisão. Dentre os artigos de revisão que abordaram técnicas analíticas como metodologias eficazes na determinação da qualidade de cafés destaca-se BURNS e WALKER, (2020), que abordaram os principais adulterantes para os diferentes tipos de práticas fraudulentas como origem geográfica, inserção de outros materiais e espécies/variedades, além de evidenciar os principais marcadores químicos usados nesta autenticação. Já WANG, LIM e FU *et al.* (2019) revisam a literatura relacionada à detecção de adulteração, mas com foco na fermentação do café.

1.2 CARACTERIZAÇÃO DOS CAFÉS

1.2.1 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial surgiu da necessidade do controle da qualidade dos alimentos para além de suas características físicas, químicas e microbiológicas.

Na análise de cafés é denominada também como prova de xícara e surgiu em 1917, com objetivo de permitir a classificação dos cafés de acordo com as características da bebida. Esse procedimento foi adotado, na época, pela Bolsa Oficial de Café e desta maneira, tornou-se a metodologia padrão de análise da qualidade dos cafés (BRASIL, 2003).

O procedimento é realizado por degustadores profissionais e, a partir dos resultados, calcula-se a média dos atributos definidos pelos mesmos. Esses profissionais também são chamados de Q-Graders e seguem protocolos de degustação, como padronização da torra do grão cru, concentração, moagem e adição de água. O provador precisa inserir o café na boca de forma que a bebida se espalhe por toda a superfície da língua. Posteriormente, uma ficha com notas é preenchida visando alguns atributos e são calculadas as médias destes valores para se obter a nota final (avaliação global) (BRASIL, 2003).

Em 2003, o MAPA definiu a instrução normativa nº8 como Classificação Oficial Brasileira (BRASIL, 2003), a fim de definir as características de identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru.

Dentre os diversos objetos da normativa encontra-se a classificação dos cafés, quanto ao aroma e sabor da bebida, tanto *Coffea arábica* quanto *canephora*. Neste protocolo, o café Conilon e/ou Robusta pode ser definido como excelente, bom, regular e anormal.

Existem ainda protocolos internacionais que também são seguidos como o *Specialty Coffee Association of America* (SCAA, 2014) e o *Uganda Coffee Development Authority* (UCDA, 2010).

A primeira visa cafés especiais como, por exemplo, *Coffea arábica*, e o segundo classifica o *Coffea canephora* (SENINDE, CHAMBERS e CHAMBERS, 2020). O procedimento SCAA visa fragrância/aroma, uniformidade, ausência de defeitos (xícara limpa), doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio, defeitos e avaliação global (SCAA, 2014). Enquanto o protocolo UCDA leva em consideração os atributos fragrância/aroma, retrogosto, sabor, salinidade/acidez, amargor/doçura, sensação na boca, uniformidade, equilíbrio, limpeza e conjunto, e a classificação é estabelecida conforme a nota final, **Tabela 3** (UCDA, 2010).

Tabela 3. Classificação do café Conilon quanto à qualidade da bebida (UCDA, 2010).

Pontuação total	Descrição da qualidade	Classificação
90-100	Excepcional	Muito fino
80-90	Fino	Fino
70-80	Muito bom	Prêmio
60-70	Médio	Boa qualidade usual
50-60	Razoável	Boa qualidade usual
40-50	Razoável	Comercial
< 40	-	Comercializável
< 30	-	Abaixo da mínima
< 20	-	Não classificável
< 10	-	Escolha

O crescente número de trabalhos publicados visando o estudo dos cafés através da percepção sensorial nos últimos 5 anos é mostrado na **Figura 4** (PEREIRA, CARDOSO, GUARÇONI *et al.*, 2017; CHAPKO e SEO, 2018; PEREIRA, GUARÇONI, CARDOSO *et al.*, 2018a,b; SAFRIZAL, MARDJAN, P E N *et al.*, 2018; BAQUETA, COQUEIRO E VALDERRAMA, 2019; BAQUETA,

COQUEIRO, MARÇO *et al.*, 2019; LEMOS, PEREZ, DA CUNHA *et al.*, 2019; PAZMIÑO-ARTEAGA, CHAGOLLA, GALLARDO-CABRERA *et al.*, 2019; CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.* 2020; MARTINS, BATISTA, MIGUEL *et al.*, 2020; OLIVEIRA, GUARÇONI, DE CASTRO *et al.*, 2020; SENINDE, CHAMBERS e CHAMBERS *et al.*, 2020; ELMACI e GOK 2021; GAO, TELLO, PETERSON *et al.*, 2021; FERREIRA, DO AMARAL, PEREIRA *et al.* 2020).

Observa-se, **Figura 4**, que entre 2017-2019 houve, aproximadamente, o dobro de publicações nesta área. E apesar de em 2020 haver um cenário mundial menos favorável, devido a pandemia, houve aumento do número de pesquisas em relação a 2019.

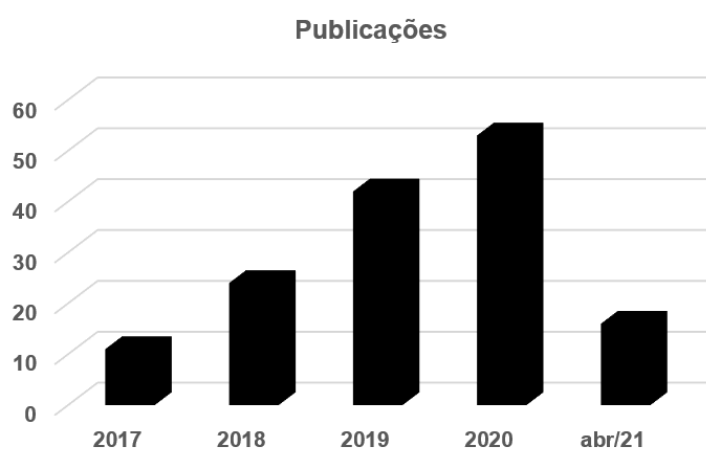


Figura 4. Gráfico com as publicações envolvendo análise sensorial e café, nos últimos 5 anos (base de dados *Web of Science*).

Em 2017, PEREIRA, CARDOSO, GUARÇONI *et al.*, realizaram um estudo sobre o teste de degustação de cafés e a interação entre os degustadores e o turno de análise (matutino/vespertino) e constataram que o turno não interfere no desempenho dos provadores, porém a interação social entre eles sim, evidenciando a necessidade de aprimoramento da metodologia.

Outro estudo buscou otimizar o número de avaliadores do perfil sensorial de amostras de cafés visando a precisão da análise, desempenho do estudo e custos (PEREIRA, GUARÇONI, CARDOSO *et al.*, 2018b). Os autores verificaram que são necessários no mínimo 6 Q-Graders para pesquisa e comercialização de cafés Robusta, e a mesma quantidade para estudos e testes com fins de marketing dos cafés Arábica.

CHAPKO e SEO (2018) analisaram sensorialmente diferentes espécies de cafés e temperaturas na extração (70°C, 55°C, 40°C e 25°C). A análise quimiométrica mostrou que a temperatura influencia mais que a variedade do café e que havia diferença significativa na percepção sensorial dos cafés com infusão a temperaturas mais altas (70°C e 55°C). Estes resultados mostram a preocupação com a qualidade do processo sensorial ao longo dos anos.

Em relação a composição química dos cafés, LEMOS, PEREZ, DA CUNHA *et al.* (2019) relacionaram os resultados das análises sensoriais com a maturação e composição química de genótipos brasileiros de café Conilon, aliados a espectrometria de massas (MS, do inglês *mass spectrometry*) e ferramentas quimiométricas. Os autores concluíram que os genótipos com as maiores notas sensoriais continham elevado nível de trigonelina, cafeína, ácido cafeoilquínico e açúcares. GAO, TELLO, PETERSON *et al.* (2021) através do perfil químico e sensorial das amostras de cafés identificaram os principais marcadores responsáveis pela intensidade do amargor da bebida, como por exemplo, os ácidos 4-cafeoilquínico e 5-cafeoilquínico.

O perfil sensorial possibilita a determinação simultânea de várias características e, portanto, é a metodologia padrão de análise. No entanto, essa metodologia é menos objetiva que os métodos instrumentais. Para justificar a complexidade podemos citar que a análise sensorial envolve a percepção de mais de 800 compostos proveniente dos processamentos pós-colheita (PEREIRA, MORELI, MOREIRA *et al.*, 2019).

1.2.1 TÉCNICAS ANALÍTICAS

A investigação de matrizes complexas como o café vem se aprimorando ao longo dos anos, devido aos avanços computacionais, ferramentas estatísticas e consequentemente das técnicas analíticas. As características finais dos cafés são provenientes do processamento desde a plantação ao preparo da bebida, e, portanto, etapas como maturação, fermentação e torra, além da origem geográfica, espécies/variedades e defeitos presentes nos grãos afetam consideravelmente a qualidade do produto adquirido. Outro fator importante a ser estudado é a adulteração. Desta maneira, muitas pesquisas vêm sendo empregadas usando técnicas analíticas como RMN, MS, espectroscopia na

região do infravermelho médio (MIR) e NIR, espectroscopia Raman e métodos cromatográficos. A **Tabela 4** mostra alguns trabalhos publicados entre 2016-abril/2021 usando RMN, MS, MIR, NIR, Raman e métodos cromatográficos

A RMN e a MS se sobressaem, dentre as metodologias citadas, como técnicas de alta resolução por fornecer uma vasta quantidade de informações sobre a composição química do material em questão, com confiabilidade analítica e alta eficiência nas medições realizadas. Isso tornou essas técnicas, ferramentas importantes na elucidação estrutural de compostos presentes em matrizes complexas como o café (DOS SANTOS e BOFFO, 2019; CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016).

Recentemente, ALVES, ANTONIOSI FILHO, LIÃO *et al.*, (2021) usaram a RMN para analisar a temperatura (180 e 200°C) e o tempo (0 a 16 min.) de torra dos cafés arábica, mostrando que ainda há muito estudo a ser considerado em relação a qualidade dos cafés e seu processamento.

Os autores monitoraram o surgimento de compostos indesejados e a degradação de substâncias importantes, como trigonelina, cafeína, ácido nicotínico, ácido fórmico, carboidratos, ACG, ácido quínico, dentre outros, para as propriedades organolépticas. Em 2020, HU, PENG, GAO *et al.*, também utilizaram a RMN, no entanto, associaram a técnica à microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise sensorial para verificar as condições de torra de cafés. Alguns compostos como como trigonelina, açúcares, malato, ácidos quínicos, γ -butiro-lactona e acetato foram caracterizados na pesquisa como novos marcadores de torrefação.

Já para as análises usando a MS, temos CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, (2016) que avaliaram no modo negativo de ionização por *electrospray* e Ressonância Ciclotrônica de Íons por Transformada de Fourier ((ESI(-)FT-ICR MS, do inglês *electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry*) cafés Arábica e Robusta e caracterizaram 46 compostos através da técnica. Além de definir o perfil químico, os autores avaliaram quantitativamente *blends* das duas variedades, e encontraram valores de limite de detecção e quantificação na faixa de 0,2 e 0,3 wt%, respectivamente, para a MS. GLOESS, YERETZIAN, KNOCHENMUSS *et al.* (2018) realizaram o primeiro estudo usando espectrometria de mobilidade iônica - espectrometria de massa (IMS – MS, do inglês *ion mobility spectrometry*–

mass spectrometry) com ionização por descarga corona, de monitoramento na formação de compostos orgânicos voláteis durante o processo de torra de cafés arábica brasileiros.

Nesse estudo, a liberação de ácidos graxos durante a torrefação do café foi investigada em detalhes, além de relacionar a intensidade das alquil. pirazinas ao tempo de torra.

Com relação as técnicas usadas para o controle da qualidade de cafés, a NIR e a MIR se destacam devido as vantagens como não destruição e pouco ou nenhum preparo da amostra, além de instrumentos simples e robustos. Nos últimos cinco anos os fatores maturação, fermentação, torrefação, origem geográfica, defeitos, diferença entre espécies/variedades e adulterações foram estudados pela MIR e NIR (**Tabela 4**).

O estudo de BARRIOS-RODRÍGUEZ, COLLAZOS-ESCOBAR, GUTIÉRREZ-GUZMÁN *et al.*, (2021b) usou a FTIR na região do médio e quimiometria como complementação às análises sensoriais (protocolo da *Specialty Coffee Association*) de cafés especiais com processos pós-colheita diferentes (seco, semi-seco e úmido), além de variar os tipos de torra (médio e escuro).

Com base nos espectros, a análise de componentes principais (PCA) identificou os processos pós-colheita e a análise sensorial caracterizou como excelente os cafés semi-secos, independentemente do nível de torrefação. Adicionalmente a metodologia se mostrou eficaz na discriminação da polpa de café cereja seca e moída de variedades distintas provenientes da Colômbia, ao relacionar os resultados de FTIR às análises físico-químicas como a atividade da água, umidade, cor e teor de ACG e cafeína (BARRIOS-RODRÍGUEZ, COLLAZOS-ESCOBAR, GUTIÉRREZ-GUZMÁN *et al.*, 2021b). Por fim, os autores também identificaram os teores dos compostos citados nas variedades estudadas. MEDINA, , CARO-RODRÍGUEZ, ARANA *et al.* (2017) comparam as técnicas analíticas de MIR, NIR e RMN para identificar as variedades arábica e robusta e também as origens geográficas. Para tal, os autores construíram modelos de classificação usando as ferramentas quimiométricas (PCA e análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA)) e concluíram que a MIR pode ser empregada com menos tempo de análise e custo em relação a RMN e com maior poder de discriminação do que a NIR.

Usando a NIR, SILVA, TORMENA, PAULI *et al.*, (2021) avaliaram três períodos de maturação dos grãos de café Arábica, além do manejo agrônomo definido pela densidade do plantio. Os autores concluíram que as regiões 1680, 1660 e 1090 nm das impressões digitais dos grãos eram responsáveis pelas diferenças encontradas e a PCA também indicou as mudanças nos perfis químicos dessas amostras. Em 2017, SILVA, HUBINGER, NETO *et al.*, associaram a NIR à espectroscopia de ruptura induzida por laser (LIBS) para identificar a presença de grãos defeituosos caracterizados como preto, verde e ardidos em amostras não torradas e moídas. Através das bandas atribuídas aos lipídios, proteínas, ácidos carboxílicos e açúcares e alta correlação com as linhas de emissão Carbono (C), CN, N e C2 por LIBS, além dos resultados da PCA, foi possível discriminar os grãos defeituosos e não defeituosos. Recentemente, com os avanços instrumentais, equipamentos NIR miniaturizados também vem sendo empregados nas análises de cafés (CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018; BAQUETA, COQUEIRO e VALDERRAMA, 2019; BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.*, 2019; TUGNOLO, BEGHI, GIOVEZANA *et al.*, 2019; SUHANDY e YULIA, 2020; BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.*, 2021a; BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.*, 2021b; SUHANDY, YULIA, KUROKI *et al.*, 2021).

Os métodos cromatográficos envolvem variações nos modos de análises, principalmente, devido a etapa de introdução das amostras. O primeiro método cromatográfico usado para determinar a fraude foi relatado em 1958. Esse método usava a cromatografia em papel para diferenciar café e chicória com base nos açúcares redutores livres (MARTINS, GODOY, GOUVEÂ *et al.*, 2018). A partir da década de 1980, diferentes métodos envolvendo, principalmente, cromatografia líquida de alta performance e cromatografia gasosa foram desenvolvidos para demonstrar autenticidade geográfica, distinção entre espécies, ocorrência de adulteração e presença de grãos defeituosos pela determinação de monossacarídeos, oligossacarídeos, tocoferóis, ácidos graxos, voláteis, diterpenos, esteróis e substâncias fenólicas, entre outros (MARTINS, GODOY, GOUVEÂ *et al.*, 2018).

Ao analisar compostos voláteis, KIM, LEE, BANG *et al.* (2019) usaram a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS, do inglês *gas chromatography-mass spectrometry*) para diferenciar cafés verdes e

torrados de diferentes variedades, após processo de fermentação. Ao todo, 98 compostos foram identificados e alguns, como 2,6-dimetil piridina, 1-pentanol e 1-hexanol discriminaram grãos verdes fermentados e não fermentados. Já a cromatografia líquida com alto desempenho com detecção de fluorescência (HPLC – FLD, do inglês *high performance liquid chromatography with fluorescence detection*) aliada a PCA e PLS-DA foram aplicadas na análise de 186 cafés comerciais sem tratamento no preparo das amostras, exceto a filtração comum. Através da impressão digital de cada amostra foi possível discriminar cafés provenientes de origens (Camboja, Colômbia, Etiópia, Espanha, Índia, Nicarágua, Indonésia e Vietnã) e variedades (Arábica e Arábica:Robusta) diferentes, além do nível de torrefação (NÚÑEZ, MARTÍNEZ, SAURINA *et al.*, 2021a). Ainda usando HPLC, ELHALIS *et al.*, 2021, relacionaram os resultados da composição química, análise sensorial, presença de microorganismos indesejáveis e o crescimento/atividade das leveduras no processo de fermentação do grão de café. Os autores encontraram, por exemplo, que as leveduras aumentaram significativamente o teor de álcoois, ésteres, aldeídos, glicerol e ácidos orgânicos nos grãos verdes e torrados, e que o crescimento de fungos filamentosos diminuiu.

Alguns artigos de revisão abordaram técnicas empregadas para determinar a presença de adulterantes em amostras de cafés, conforme relatado anteriormente (WANG, LIM e FU *et al.*, 2019; BURNS e WALKER, 2020), mostrando como esta prática vem se tornando constante. No entanto, a preocupação com a segurança e controle alimentar cresceram na mesma proporção nos últimos anos e assim, as técnicas analíticas já desempenham papel importante na detecção de adulteração em cafés.

Tabela 4. Algumas publicações sobre as principais técnicas analíticas empregadas no estudo das características mais relevantes para a qualidade dos cafés (período 2016-abril/2021, base de dados *Web of Science* e *Scopus*).

Técnicas analíticas	Principais características que afetam a qualidade dos cafés							
	Maturação	Fermentação	Torra	Origem	Defeitos dos grãos	Armazenamento	Espécies/genótipos	Adulterações
RMN	-	BRIOSCHI <i>et al.</i> , 2021	WILLIAMSON <i>et al.</i> , 2019; FEBVAY <i>et al.</i> , 2019; HU <i>et al.</i> , 2020; ALVES <i>et al.</i> , 2021; BAQUETA <i>et al.</i> , 2021b	ARANA <i>et al.</i> , 2016; MEDINA <i>et al.</i> , 2017; TOCI <i>et al.</i> , 2018; dos SANTOS <i>et al.</i> , 2019; HAPPYANA <i>et al.</i> , 2020a; HAPPYANA <i>et al.</i> , 2020b	-	-	DEFERNEZ <i>et al.</i> , 2017; MEDINA <i>et al.</i> , 2017; GUNNING <i>et al.</i> , 2018; BADMOS <i>et al.</i> , 2019; BURTON <i>et al.</i> , 2020; OKARU <i>et al.</i> , 2020; PORTALURI <i>et al.</i> , 2020; LACHENMEIER <i>et al.</i> , 2020;	RIBEIRO <i>et al.</i> , 2017; MILANI <i>et al.</i> , 2020
MS	GLOESS <i>et al.</i> , 2018; LE MOS <i>et al.</i> , 2019	MARTINS <i>et al.</i> , 2020	ROSA <i>et al.</i> , 2016; ASSIS <i>et al.</i> , 2019; PÉREZ-MÍGUEZ <i>et al.</i> , 2019; HEIDE <i>et al.</i> , 2020; CZECH, <i>et al.</i> , 2020	MONTEIRO <i>et al.</i> , 2018; LI <i>et al.</i> , 2020	-	YOSHIOKA <i>et al.</i> , 2020; PAZMIÑO-ARTEAGA <i>et al.</i> , 2019	CORREIA <i>et al.</i> , 2016; ASSIS <i>et al.</i> , 2019; LE MOS <i>et al.</i> , 2019;	GERBIG <i>et al.</i> , 2017; DANIEL <i>et al.</i> , 2018

MIR	-	FIORESI <i>et al.</i> , 2021	CRAIG <i>et al.</i> , 2018; BELCHIOR <i>et al.</i> , 2016; ASSIS <i>et al.</i> , 2019; BARRIOS-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2021 ^a	BONA <i>et al.</i> , 2017; MEDINA <i>et al.</i> , 2017; OBEIDAT <i>et al.</i> , 2018;	BARRIOS-RODRIGUEZ <i>et al.</i> , 2020	-	CORREIA <i>et al.</i> , 2016; MEDINA <i>et al.</i> , 2017; ASSIS <i>et al.</i> , 2018; ASSIS <i>et al.</i> , 2019; BARRIOS-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2021b	REIS <i>et al.</i> , 2016; REIS <i>et al.</i> , 2017; BRONDI <i>et al.</i> , 2017; FLORES- VALDEZ <i>et al.</i> , 2020; WANG <i>et al.</i> , 2019
			DE LUCA <i>et al.</i> , 2016; SANTOS <i>et al.</i> , 2016; BERTONE <i>et al.</i> 2016; CORREIA <i>et al.</i> 2018a; JESZTL, <i>et al.</i> 2019; YERGENSON <i>et al.</i> , 2019; BENES <i>et al.</i> 2020; YERGENSON <i>et al.</i> , 2020; BAQUETA <i>et al.</i> , 2021b	MARQUETTI <i>et al.</i> 2016; DE LUCA <i>et al.</i> , 2016; BONA <i>et al.</i> 2017; MEDINA <i>et al.</i> 2017; JESZTL, <i>et al.</i> 2019; SUHANDY <i>et al.</i> , 2020; SUHANDY <i>et al.</i> , 2021	SILVA <i>et al.</i> 2017; CHEN <i>et al.</i> , 2020		BERTONE <i>et al.</i> , 2016; MARQUETTI <i>et al.</i> , 2016; MEDINA <i>et al.</i> , 2017; SAFRIZAL <i>et al.</i> , 2018	SUHANDY <i>et al.</i> , 2018; CORREIA <i>et al.</i> , 2018; CHEN <i>et al.</i> , 2018; ADNAN <i>et al.</i> , 2020; WANG <i>et al.</i> , 2019
NIR	SILVA <i>et al.</i> 2021	-				-		
Raman	-	MARTINS <i>et al.</i> , 2020	-	-	-	ABREU <i>et al.</i> , 2019	FIGUEIREDO <i>et al.</i> , 2019;	WANG <i>et al.</i> , 2019

Segundo pesquisas na base de dados *Web of Science* e *Scopus* (**Figura 5**) nos últimos cinco anos, a técnica mais empregada na análise de cafés é a Cromatografia. Este resultado está, provavelmente, relacionado a versatilidade da técnica, conforme citado anteriormente e também a possibilidade de separação dos componentes da amostra. Em segundo lugar encontra-se a MS e apesar de todas as vantagens instrumentais, pode haver interferências na % final, pois a busca apresenta também resultados envolvendo a técnica acoplada a cromatografia. Por fim, a espectroscopia IV e a RMN representam 20% e 7% das metodologias usadas para o controle da qualidade de cafés.

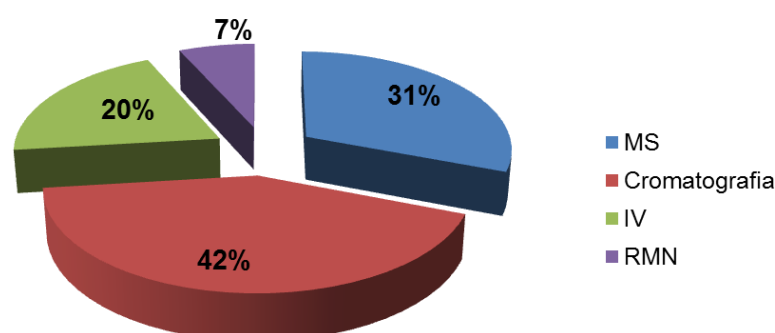


Figura 5. Principais técnicas usadas em análises do controle da qualidade de cafés (período 2016-abril/2021, base de dados *Web of Science* e *Scopus*).

1.2.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho

Os fenômenos atribuídos a técnica de espectroscopia na região do infravermelho têm relação à transferência de energia aos constituintes da amostra analisada, mais precisamente, a absorção ocorre por compostos que realizam ligação covalente (PASQUINI, 2018). Apenas as ligações que têm momento dipolo que varia em função do tempo são capazes de absorver energia no infravermelho. A energia transportada (inclusive através do vácuo) por uma onda eletromagnética, é dada pela **Equação 1**:

$$E = h\nu \quad (1)$$

onde h é uma constante (constante de Plank) e ν é a frequência em Hz da onda eletromagnética.

Equipamentos espectroscópicos são dispostos, de modo geral, com o esquema: fonte de radiação, seletor de comprimento de onda, que tem o objetivo que selecionar a parte desejada do espectro emitido, lente com o objetivo de colimar essa radiação selecionada, sendo posteriormente incidida sobre a amostra. A radiação incidida na amostra pode ser feita com intuito de obter, basicamente, três tipos de medidas: transmitância, transfectância ou refletância. Todas estas levam em conta como radiação interage com a amostra, sendo que a) na transmitância a fonte de luz é posicionada em frente ao detector, de modo que a radiação passe através da amostra; b) na transfectância é similar a transmitância, no entanto, a radiação atravessa a amostra e depois é refletida por um espelho em direção ao detector e c) por reflectância, a radiação é absorvida e posteriormente refletida para o detector (SILVERSTEIN, BASSLER, MORRILL, 1991). Por fim, o detector será responsável pela captação dessa informação, que será exibida na forma de um espectro.

Na espectroscopia MIR são utilizadas as vibrações de alongamento e de deformação das ligações covalentes, portanto, é uma técnica mais sensível a heterogeneidade das amostras individuais e seus espectros representam uma maior faixa de grupos funcionais (BARBIN, FELICIO, SUN *et al.*, 2014). Já a NIR fornece informações espectrais denominadas de bandas de combinação e sobretons, **Figura 6**. Os sobretons são bandas com valores de frequências correspondentes a múltiplos inteiros daqueles das vibrações normais e as bandas de combinação são combinações lineares das frequências normais ou múltiplos inteiros destas (PASQUINI, 2003). As vantagens das análises na região

do médio e do próximo são, principalmente, a determinação simultânea de vários constituintes orgânicos, processos rápidos, e de natureza não destrutiva, além do pouco preparo de amostra e instrumentação simples. As diferenças entre a MIR e NIR podem ser atribuídas a seletividade, sensibilidade e robustez, sendo que MIR possui maior seletividade, pois leva em consideração a heterogeneidade das amostras individuais, devido a maior faixa de grupos funcionais, e sensibilidade, pois possui alta relação sinal/ruído, uma vez que este parâmetro depende da intensidade das bandas e ocorre transições intensas nesta região do IV. Contudo, esses critérios podem ser superados, principalmente, a relação sinal/ruído, através do aumento do tempo e/ou número de varredura (MUNIZ, MAGALHÃES, CARNEIRO *et al.*, 2012). As vantagens da NIR em relação a MIR estão na robustez da instrumentação, uma vez que a capacidade do método analítico em resistir a pequenas variações dos parâmetros analíticos é maior e a possibilidade de empregar materiais óticos semelhantes aos usados na espectroscopia do visível, reduzindo o custo do equipamento. Além do maior poder de penetração da radiação possibilitando investigar maior volume de amostras (BEC, GRABSKA, HUCK *et al.*, 2021). As técnicas de espectroscopia NIR e MIR têm sido utilizadas como ferramentas analíticas rápidas e precisas na determinação de diversos constituintes em alimentos e no seu controle de qualidade (SANTOS, MOURA, AZEVEDO *et al.*, 2012; MÁRQUEZ, LÓPEZ, RUISÁNCHEZ *et al.*, 2016; TAHIR *et al.*, 2021; GENES, DURNA e BOYACI, 2021; CARDOSO e POPPI, 2021; AMIRVARES, NIKOUNEZHAD, AMIRAHMADI *et al.*, 2021)

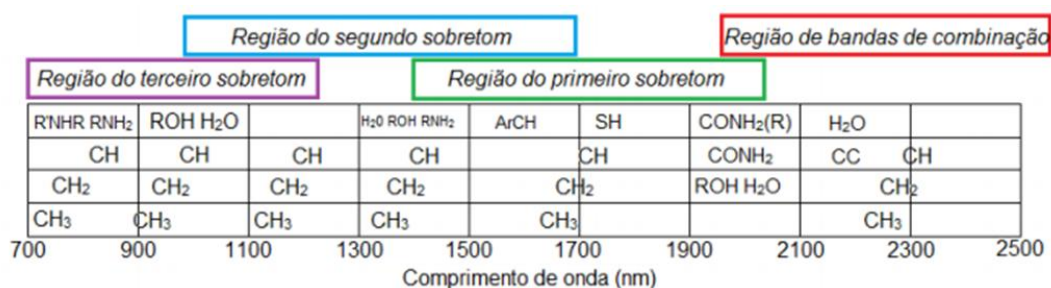


Figura 6. Regiões do espectro infravermelho onde ocorrem transições de ligações específicas (JARDIM, 2016).

Apesar dos relatos de uso da NIR na década de 30, foi em 1960, através do grupo de Karl Norris que a técnica ganhou visibilidade. Com o avanço no

desenvolvimento da instrumentação da técnica, de microcomputadores, e o surgimento da quimiometria a NIR foi fortemente impulsionada por todas as vantagens citadas anteriormente, além do monitoramento em linha de processos de produção (TAVARES, PEREIRA, NUNES *et al.*, 2012; BARBIN, FELICIO, SUN *et al.*, 2014).

Na cafeicultura, o desenvolvimento de novas metodologias é de suma importância, pois os métodos padrões de análise como, por exemplo, as análises sensoriais e físico-químicas, segundo o Instituto Adolfo Lutz (2008) como teor de cafeína, cinzas, pH, resíduo seco, umidade, dentre outros; podem muitas vezes, ser subjetivas, possuir baixa reprodutibilidade, requerem maior preparo, tempo de análise e destruição das amostras.

Em 1993, FERIA-MORALES apresentou, numa conferência, dados obtidos por NIR e análise sensorial, de aproximadamente 500 amostras de cafés e incluiu ferramentas quimiométricas, como a PCA, para prever a qualidade de cafés brasileiros. O autor citou que “o objetivo deste estudo foi investigar o possível desenvolvimento de uma técnica objetiva para a avaliação da qualidade do café no Brasil que complementaria o atual método de ‘degustação por um especialista”.

No entanto, os primeiros a publicarem artigos, de acordo com a base de pesquisa *Web of Science*, utilizando a técnica de espectroscopia NIR em análises de cafés foram DOWNEY e colaboradores. Em 1994, DOWNEY, BOUSSION E BEAUCHÊNE, investigaram grãos de cafés arábica e robusta e discriminaram 1) grãos verdes inteiros puros e em *blends* e 2) grãos torrados e moídos em misturas destas variedades. Já em 1996, DOWNEY e BOUSSION direcionaram esta técnica para autenticação de bebidas de cafés usando o mesmo conjunto de amostras. Contudo, foi nos anos 2000 que a NIR alavancou como metodologia para análises de cafés. Entre 2004-2007, o grupo de pesquisa de PIZARRO usaram o NIR em pesquisas envolvendo a) teor de cinzas e lipídeos em cafés torrados, b) teor de cafeína para discriminar amostras de cafés Arábica e Robusta, c) a relação dos atributos aroma, corpo, acidez, amargor e aparência de bebidas, e os resultados de NIR para estimar a qualidade sensorial de cafés expresso e d) discriminação entre as variedades de café Arábica e Robusta (PIZARRO, ESTEBAN-DÍEZ, NISTAL *et al.*, 2004; ESTEBAN-DÍEZ, GONZÁLEZ-SÁIZ e PIZARRO, 2004; ESTEBAN-DÍEZ, GONZÁLEZ-SÁIZ e

PIZARRO, 2005; ESTEBAN-DÍEZ, GONZÁLEZ-SÁIZ, SÁENZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2007; PIZARRO, ESTEBAN-DÍEZ, GONZÁLEZ-SÁIZ, 2007a,b).

Entre 2010-2021 a NIR se consolidou como técnica de análises na área de cafeicultura. De acordo com a base de dados *Web of Science*, houve a publicação de 124 pesquisas envolvendo esta técnica e café, neste período. Dentre os artigos mais citados, na área da Química, encontram-se *Chemometric models for the quantitative descriptive sensory analysis of Arabica coffee beverages using near infrared spectrometry* de RIBEIRO, FERREIRA, SALVA *et al.* (2011) e *Application of infrared spectral techniques on quality and compositional attributes of coffee: An overview* de BARBIN, FELICIO, SUN *et al.* (2014), em que os objetivos foram prever atributos sensoriais de bebidas de cafés arábica através de análises por NIR e modelos quimiométricos, e revisar na literatura a abordagem da NIR e MIR como técnicas para identificar as propriedades e composição química de cafés, respectivamente. RIBEIRO, FERREIRA, SALVA *et al.*, (2011) analisaram 51 amostras de café arábica, sensorialmente e por NIR, e aplicaram aos dados obtidos a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e seleção de variáveis pelo algoritmo OPS – seleção ordenada de preditor, para estimar a qualidade das bebidas. Todas as regiões foram caracterizadas e observou-se que as regiões importantes para construção do modelo foram da cafeína pura, trigonelina, ácido 5-cafeoilquinóico, celulose, lipídios, sacarose e caseína (proteína). Os autores identificaram que houve relação direta dos lipídios e proteínas com o atributo corpo; cafeína e ácidos clorogênicos ao amargor, além deste último com acidez e sabor. Outros compostos também foram citados como polissacarídeos, sacarose e proteínas e relacionados à limpeza e qualidade geral.

Outro marco importante na evolução da espectroscopia NIR foi a miniaturização do equipamento (BEC, GRABSKA, HUCK *et al.*, 2021; PASQUINI, 2018).

MicroNIR

O desenvolvimento de equipamentos mais compactos, leves, pequenos e que garantem confiabilidade e rapidez analítica, proporcionou a redução e portabilidade da espectroscopia NIR, como por exemplo, o micro espectrômetro portátil na região do infravermelho próximo (microNIR), **Figura 7**, (PASQUINI,

2018; PÉREZ-MARÍN, PAZ, GUERRERO *et al.*, 2010). O instrumento apresenta limitações relacionadas a faixa espectral e a resolução (BEC, GRABSKA, HUCK *et al.*, 2021), sendo este último pouco importante, no caso da NIR, devido a apresentação de bandas amplas resultante das sobreposições e combinações (BEC, GRABSKA, HUCK *et al.*, 2021). Em contrapartida, a aplicabilidade do microNIR possibilita fácil acesso às amostras de interesse, diminuindo riscos de contaminação, tempo de análise, fornecendo espectros instantâneos com pouca ou nenhuma preparação da amostra (GALUSZKA, MIGASZEWSKI, NAMIESNIK, 2015; PASQUINI, 2003; O'BRIEN, HULSE, FRIEDRICH *et al.*, 2012). Além do design do instrumento (**Figura 7**), que permite usá-lo com conforto e comodidade (RISOLUTI, MATERAZZI, TAU *et al.*, 2018). A **Figura 7** mostra outra vantagem do equipamento que é acoplamento à tablets, microcomputadores e celulares para envio dos comandos (PASQUINI, 2018), além do uso de vial para análise podendo usar pouca amostra.

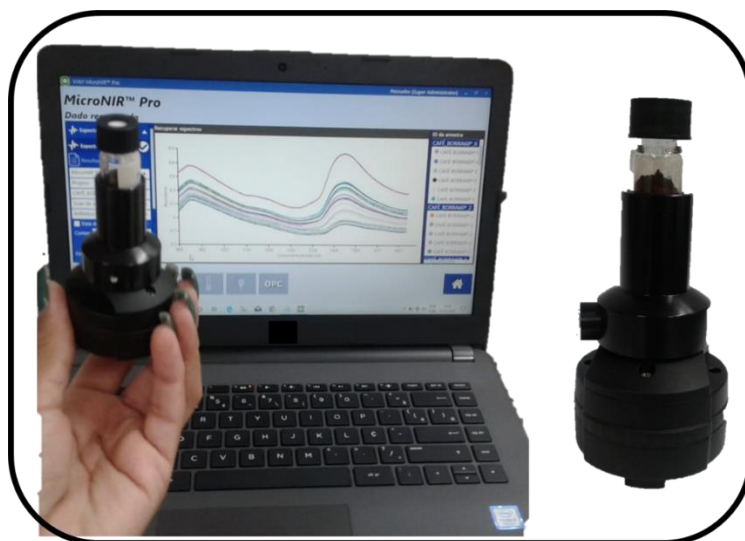


Figura 7. Equipamento MicroNIR acoplado ao notebook.

A redução do tamanho não compromete o desempenho do equipamento, uma vez que possuem o mesmo funcionamento dos equipamentos espectroscópicos, com adaptações. Para tal são usadas lâmpadas como fonte emissora da radiação, podendo ser lâmpadas de tungstênio ($\varnothing \approx 4$ mm), que também são usadas em equipamentos de bancada (BEC, GRABSKA, HUCK *et*

al., 2021), pois possuem tempo de vida útil de aproximadamente 10.000 horas, alto ponto de fusão e emitem comprimento de onda >350 nm.

O perfil de emissão espectral depende da temperatura do filamento e da parede interna da lâmpada, uma vez que a fonte é a radiação térmica, devido ao aquecimento do filamento através da passagem da corrente elétrica (BEC, GRABSKA, HUCK *et al.*, 2021). A radiação refletida é coletada e convertida por um elemento dispersivo e posteriormente há a presença dos detectores. O equipamento é alimentado via USB.

O princípio de miniaturização do equipamento consiste na associação da fonte emissora de radiação com o Filtro Linear Variável (LVF), **Figura 8**. O LVF é um elemento dispersivo, ou seja, converte a luz policromática refletida e/ou transmitida pela amostra, em monocromática. A característica fundamental do LVF, **Figura 8**, é ter espessura diferente em toda sua extensão, pois o comprimento de onda do sinal varia em função do revestimento, desta maneira, cada pixel do detector irá responder a um diferente comprimento de onda. O LVF pode ser comparado a um interferômetro de Fabry-Perot em relação a varredura. Desta forma, a fonte de luz, o sistema de coleta de espectro óptico e a eletrônica estão totalmente integrados em um dispositivo de tamanho de uma maçã (O'BRIEN, CHARLES E DONALD *et al.*, 2012)

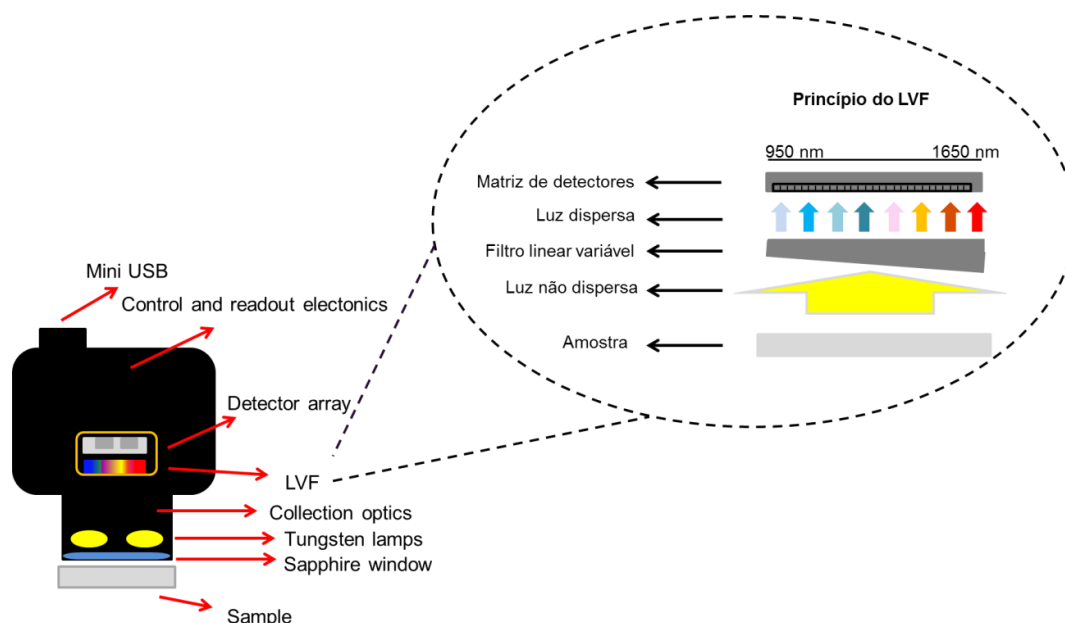


Figura 8. Equipamento MicroNIR e o princípio da miniaturização (adaptado de O'BRIEN, CHARLES E DONALD *et al.*, 2012).

Este equipamento vem sendo empregado em diversos setores objetivando caracterizar amostras, determinar componentes e também quantificar adulterações.

Dentre os setores de análise **a)** forense (PEDERSON, FRIEDRICH, HSIUNG *et al.*, 2014; CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018; CORREIA, DOMINGOS, TOSATO *et al.* 2018a, CORREIA, DOMINGOS TOSATO *et al.* 2018b), **b)** combustíveis (PAIVA, ROHWEDDER, PASQUINI *et al.*, 2015; SILVA, CAVALCANTI, HONORATO *et al.*, 2017; CORREIA, DOMINGOS, CÁO *et al.*, 2018; TOSATO, BARROS, CUNHA *et al.*, 2020; SANTOS, SANTOS, CUNHA *et al.*, 2021), **c)** farmacêutica (NEIL, JEE, LEE *et al.*, 2008; SUN, HSIUNG, PEDERSON *et al.*, 2016; ALCALA, BLANCO, MOYANO *et al.*, 2013; YAN e SIESLER 2018), dentre outros (WARBURTON, BRAUNER E MEDER 2014; SILVA, PASTORE, SOARES *et al.*, 2018), mas principalmente na indústria alimentícia, como KUMAGAI, OHISA, AMANO *et al.* (2003) detectaram a presença de Cádmio em grãos de arroz, totalizando 106 amostras diferentes com três repetições cada em conjunto com a análise discriminante canônica (CDA).

Usando o NIR portátil, LI, TAKAHASHI, KUMAGAI *et al.* (2009) analisaram amostras de cervejas e concluíram que através das bandas de absorção da água e do grupo funcional CH₂ era possível distinguir as cervejas, pois estas regiões estavam relacionadas aos diferentes modos de produção, podendo ser usado para inspeção destas bebidas. CAYUELA e WEILAND (2010) avaliaram quatro espécies de laranjas por dois equipamentos NIR portáteis, com aquisição por refletância em ambos, porém um VIS/NIR com radiação coletada e conduzida por fibra óptica a três detectores (faixa 350-2500 nm) e outro com configuração óptica pós dispersiva e detector de InGaAsA (faixa 1100-2300 nm) a fim de comparação, sendo eficientes na determinação de sólidos solúveis totais e índice de maturidade. CAMPS, SIMONÉ, GILL (2012) usaram o NIR portátil para desenvolver um método para determinar o teor de sólidos solúveis totais, firmeza e cor de tomates sem destruí-los.

No período de 2016-2021, diversos outros trabalhos relacionaram equipamentos NIR portátil e alimentos, como por exemplo na análise de azeite (BASRI, LAILI, TUHAIME *et al.*, 2018; SANTOS, TOSATO, CESCO NETTO *et al.* 2020; BORGHI, SANTOS, SANTOS *et al.*, 2020), leite (LIU, PARRA, PUSTJENS *et al.*, 2018; DE LIMA, ANDRADE e DA SILVA 2018; PEREIRA,

FERNANDES, ARAÚJO *et al.*, 2021; MUSA e YANG 2021), carnes (WIEDEMAIR, BIASIO, LEITNER *et al.*, 2018; KUCHA e NGADI, 2020; DIXIT, PHAM, REALINI *et al.*, 2020; PARASTARA, VAN KOLLENBURG, WEESEPOEL *et al.*, 2020), dentre outros (SILVA, FOLLI, SANTOS *et al.*, 2020; HENN, SCHWAB, HUCK, 2016; YOU, KIM LEE *et al.*, 2017; WANG, LIM e FU *et al.*, 2019).

Recentemente foi publicado o primeiro trabalho usando um equipamento NIR portátil na área da cafeicultura. Em 2018, CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.* analisaram adulterações binárias de café arábica e café Conilon, milho e cascas/paus, além de *blends* de cafés com diferentes torras, totalizando 125 misturas, por microNIR e ferramentas quimiométricas (PCA e PLS). A técnica demonstrou confiabilidade analítica ao predizer adulterações com níveis entre 5 a 8 wt%.

Desde então (2010-2021), de acordo com a base de dados *Web of Science*, há aproximadamente 9 trabalhos publicados nesta nova área, demonstrando o quão inovador e pioneiro é este método analítico para análises de cafés. Em um deles, BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.*, (2019) usaram o microNIR para prever granulometria, umidade, tempo de extração e torrefação de cafés, a fim de substituir metodologias padrões de análise, com baixos valores de erros de predição e calibração, coeficiente de correlação, limites de detecção e quantificação usando modelos PLS. Ainda em 2019 BAQUETA, COQUEIRO e VALDERRAMA avaliaram 217 amostras comerciais sensorialmente para posteriormente correlacionar aos dados obtidos por NIR portátil e PLS, mostrando ser uma ferramenta promissora para determinar qualidade na indústria cafeeira.

O microNIR auxilia, portanto, no controle da qualidade de cafés, através da resolução de problemas analíticos e isso pode ser observado através das diversas aplicações na cafeicultura como identificação de adulterações, relação com análises sensoriais, previsão de características físico-químicas, dentre outros, conforme **Tabela 5**.

Tabela 5. Publicações, em ordem cronológica, envolvendo NIR portátil e café, pesquisa “*portable OR handheld OR microNIR AND NIR OR near-infrared AND coffee*” para títulos de artigos, resumos and palavras-chaves entre diferentes áreas temáticas, base de dados *Web of Science* (2010-2021).

Autores	Instrumentação NIR	Objetivo
Correia <i>et al.</i> (2018)	microNIR Pro1700	Avaliar misturas de cafés com torrefações e variedades distintas, e adulterações com milho e cascas/paus por microNIR.
Baqueta <i>et al.</i> (2019)	microNIR™ 1700	Prever os atributos sensoriais de cafés comerciais de bebidas e torras diferentes.
Baqueta <i>et al.</i> (2019)	microNIR™ 1700	Prever parâmetros como teor de umidade, granulometria, cor e tempo de infusão dos cafés torrados em escala industrial por NIR portátil.
Tugnolo <i>et al.</i> (2019)	Aurora NIR	Comparar os resultados do NIR de bancada e portátil ao analisar amostras de cafés verdes, torrados e moídos e <i>blends</i> para prever umidade, densidade e granulometria.
Correia <i>et al.</i> (2020)	microNIR Pro1700	Propor novas metodologias analíticas através da análise sensorial, microNIR e espectrometria de massas, para análise de cafés cultivados em sistemas agroflorestais.
Suhandy <i>et al.</i> (2020)	NIR Flame-S e NIRQuest512	Determinação de café Arábica e Robusta de seis origens geográficas diferentes por NIR portátil.
Baqueta <i>et al.</i> (2021a)	microNIR™ 1700	Construir nova metodologia analítica que auxilie na determinação do perfil de xícara de bebidas de café em escala industrial
Baqueta <i>et al.</i> (2021b)	microNIR™ 1700	Usar o método de análise de dados em multiblocos (Common Dimension) para avaliar parâmetros de qualidade de misturas de cafés e torrefações, por NIR portátil, análise sensorial e RMN.
Suhandy <i>et al.</i> (2021)	NIR Flame-S e NIRQuest512	Avaliar a NIR e o método SIMCA para classificação de cafés especiais da Indonésia provenientes de duas origens geográficas

1.2.2.2 ESPECTROMETRIA DE MASSAS (MS)

Novas tecnologias vêm sendo empregadas nas análises de cafés (**Tabela 4**), visando maiores níveis de controle e precisão dos processos, objetivando a melhoria da qualidade. Como por exemplo, a espectrometria de massas que é uma técnica multidisciplinar e consiste na ionização de moléculas de interesse e detecção dos íons com base em suas diferentes razões massa carga (m/z). Em geral, os espectrômetros de massas possuem as seguintes partes: i) sistema de introdução de amostras; ii) fonte de ionização; iii) analisador de massas; iv) e detector (**Figura 9**).

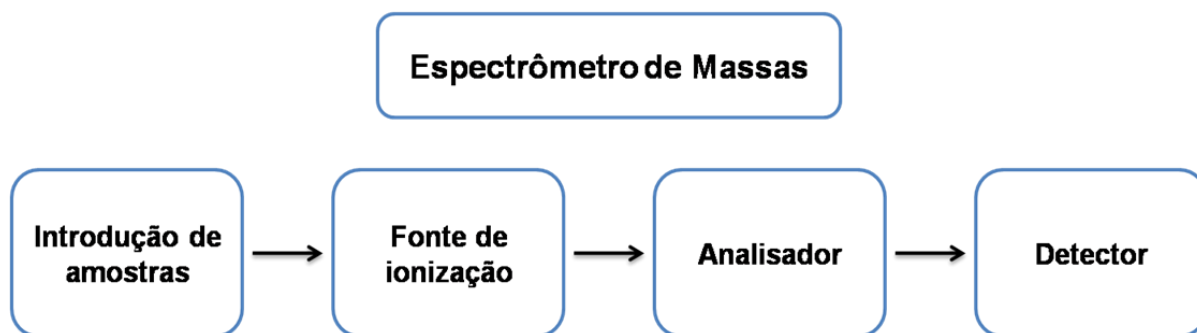


Figura 9. Esquema de um espectrômetro de massas.

A MS tem sido utilizada em diversos setores como química forense (CARVALHO, TOSATO, SOUZA *et al.*, 2016; ORTIZ, MARIOTTI, ROMÃO *et al.*, 2011; KILL, OLIVEIRA, TOSE *et al.*, 2016; DE ALMEIDA, PINTO, DOS SANTOS *et al.*, 2019; SANTOS, MACRINO, FILHO *et al.*, 2020; FILHO, SANTOS, BORGES *et al.*, 2020), combustíveis (ALBERICI, SIMAS, DE SOUZA *et al.*, 2010), bebidas (MØLLER, CATHARINO, EBERLIN *et al.*, 2005; ARAÚJO, DA ROCHA, TOMAZELA *et al.*, 2005; TOSATO, CORREIA, OLIVEIRA *et al.*, 2018; OLIVEIRA, TOSATO, FOLLI *et al.* 2019) e alimentos (CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016; OLIVEIRA, COSTA, VENTURA *et al.*, 2016; OGAWA, COSTA, VENTURA *et al.*, 2018).

Em geral, nas análises químicas um dos principais problemas está nos diferentes tipos de matrizes, e especialmente em relação ao café nos diferentes estados físicos a qual este pode ser encontrado como: sólido (grão cru e torrado, planta), líquido (bebida) e gasoso (análise dos voláteis). No entanto, a MS apresenta potencial para superar tais obstáculos devido, principalmente, a versatilidade das fontes de ionização. As vantagens estão relacionadas também a possibilidade de análises rápidas e simples, pois possibilitou o que antes exigia preparação laboriosa das amostras ou que às vezes não era possível.

Assim, devido a diversidade de fontes de ionização, a MS vem sendo empregada, principalmente na avaliação mais interna dos grãos. LI, DONG, DONG *et al* (2020) publicaram um dos trabalhos mais recentes envolvendo MS e café. Os autores usaram a ionização e dessorção a laser assistida por matriz a pressão atmosférica, além da combinação da espectrometria de massas com tecnologia de imagem (AP-MALDI-IMS, do inglês *atmospheric pressure matrix-assisted laser/desorption ionization mass spectrometry imaging*) para avaliar a

distribuição espacial de compostos químicos endógenos em grãos de cafés de oito localizações diferentes (Brasil, China, Colômbia, Etiópia, Guatemala, Nicarágua, Tanzânia e Uganda). Os resultados mostraram que os grãos com maiores níveis de cafeína eram provenientes da Colômbia e Tanzânia e os países Colômbia, Nicarágua, Tanzânia e China forneceram cafés com elevados teores de sacarose. Após construção dos modelos PCA e os agrupamentos obtidos, os autores observaram que cafés do Brasil possuíam maiores semelhanças químicas aos cafés da Nicarágua, Tanzânia e Colômbia e que através da técnica MS foi possível distinguir os cafés de origens geográficas diferentes de acordo com o perfil químico da parte mais interna dos grãos. GARRETT, REZENDE e IFA, 2013 usaram a fonte de ionização por spray de papel (PS-MS, do inglês *paper spray ionization mass spectrometry*) e observaram a predominância de açúcares e aminoácidos na parte interna das amostras de cafés. E apesar de apresentarem o mesmo conjunto de compostos foi possível, através de ferramentas quimiométricas (PCA), diferenciar os grãos provenientes dos estados brasileiros Rio de Janeiro, Bahia e Paraná.

Estes mesmos autores GARRET, REZENDE e IFA (2016) avaliaram o tecido do endosperma de grãos verdes de cafés seccionados usando a ionização por electropulverização por dessorção (DESI-MS), GARRET, REZENDE e IFA (2016) e verificaram a não homogeneidade dos ácidos clorogênicos nas amostras, devido a presença de ácido quínico e feruloilquínico na região externa e ácido cafeoilquínico na região interna, enquanto a sacarose foi detectada em toda as regiões do grão. Os autores também analisaram as mudanças na composição química após ataque das brocas, e concluíram que houve aumentos dos ácidos graxos como ácido linoleico, esteárico, dentre outros, nas regiões afetadas.

Outra fonte de ionização amplamente utilizada em MS para análise de cafés é a fonte *electrospray* (ESI). A partir da década de 80 a ESI revolucionou as análises químicas, devido as vantagens que apresentava como capacidade de produzir íons de elevada massa molecular, possuir ionização suave e assim manter a estrutura dos íons originais da solução, e por possibilitar o acoplamento com técnicas cromatográficas de separação. A expansão das pesquisas foi tanta que segundo MORAES e LAGO (2003), entre 1980 e 2000 houve um aumento

de 77 vezes no número de trabalhos científicos publicados, sendo a maior parte análises de biomoléculas e compostos orgânicos.

O princípio básico da fonte de ionização ESI (**Figura 10**) é a inserção da amostra em solução com fluxo constante por um capilar, onde uma diferença de potencial é aplicada entre o capilar e um contra eletrodo, gerando um campo elétrico sobre a amostra. Este campo elétrico induz acumulação de cargas na superfície do líquido na ponta do capilar, formando gotas altamente carregadas. Sobre as gotas é injetado um gás aquecido que remove o solvente resultando em íons que serão direcionados para o analisador de massas (HOFFMANN e STROOBANT, 2007). Em etapa anterior a inserção da solução no capilar é possível adicionar à amostra uma base ou ácido para potencializar a formação de íons desprotonados (modo negativo, $[M-H]^-$) e protonados (modo positivo, $[M+H]^+$) respectivamente, das moléculas.

Em análises de cafés, as primeiras publicações envolvendo a ESI tinham como objetivo o estudo da micotoxina denominada ocratoxina (BECKER, DEGELMANN, HERDERICH *et al.*, 1998; LAU, SCOTT, LEWIS *et al.*, 2000) além da pesquisa de dissacarídeos presentes nos grãos verdes do café Arábica (WECKERLE, GÁTI, TÓTH *et al.*, 2002). Nestes trabalhos houve a hifenização da ESI-MS e a cromatografia líquida. Posteriormente, visando encontrar métodos menos onerosos e eficientes para processos da colheita e pós-colheita de cafés por ionização ESI, MENDONÇA, FRANÇA, OLIVEIRA *et al.* (2008) distinguiram grãos defeituosos (PVA – pretos, verdes e ardidos) e não defeituosos, no modo de ionização positivo (ESI(+)), além de diferenciar as espécies *arábica* e *canephora* (Conilon) usando o modo de ionização negativo (ESI(-)). Os autores encontraram diferenças na quantidade e intensidade de íons na faixa de m/z 195-369 em ESI(+) para grãos defeituosos. AMORIM, HOVELL, PINTO *et al.* (2009) diferenciaram cafés verdes em diferentes estágios de maturação através da infusão direta e ionização ESI, e a partir dos resultados concluíram que íons mais importantes nesta análise foram os ácidos graxos e ACG por ESI(-). Já TSUKUI, VENDRAMINI, GARRETT *et al.* (2019) ajudaram a entender alguns efeitos do processo pós colheita (secagem via seca e semiúmida) na composição final e na qualidade de café e utilizaram os íons atractillose II (m/z 481), carboxiatractillose II (m/z 525) e carboxiatractillose III (m/z 609) para discriminar os procedimentos adotados para os frutos. ROSA,

FREITAS-SILVA, ROUWS *et al.* (2016) monitoraram os compostos químicos no processo de torra, e encontraram através dos dados obtidos por ESI aliado a quimiometria, que há diminuição de íons na faixa de m/z 500-600, enquanto há acréscimo na região de m/z 800-900 quando a torrefação adquire classificação escura.



Figura 10. Esquema de uma fonte de ionização por *electrospray* (COLE, 2000).

O desenvolvimento do analisador por ressonância ciclotrônica de íons com transformada de Fourier (FT-ICR MS) no início da década de 70 possibilitou a obtenção de espectros de altíssima resolução ($m/\Delta m_{50\%}$ maior que 400.000) e exatidão de massas (menor que 2 ppm). A determinação de valores inequívocos de m/z , no analisador de ICR, **Figura 11**, com tamanha resolução é baseada no movimento ciclotrônico de íons (MARSHALL, HENDRICKSON, JACKSON, 1998).

O princípio fundamental da FT-ICR MS explora o comportamento de íons com baixa velocidade submetido a um campo magnético forte, onde elas assumem um movimento circular através de uma frequência, movimento ciclotrônico de íons, que é proporcional a sua razão m/z . Para aproximar os íons das placas detectoras da célula de ICR são aplicados pulsos de rádio frequência aumentando o raio de trajetória dos íons, fazendo com que os íons induzam uma corrente nas placas detectoras. A frequência desta corrente é a mesma que a frequência ciclotrônica dos íons e a intensidade é proporcional ao número de íons. O sinal de ICR no domínio do tempo é convertido então, através da

Transformada de Fourier, para o domínio da frequência que depois é convertido em um espectro de massas (HOFFMANN e STROOBANT, 2007).

O altíssimo poder de resolução e exatidão em massas torna a técnica analítica versátil, garantindo a determinação da fórmula química dos íons produzidos. Além disso, apresenta capacidade de análises do tipo (MS)ⁿ, importante para determinação de estrutura molecular, e fácil adaptação com os mais diversos tipos de fontes de ionização externas (KLITZE, 2012). Essas vantagens combinadas aos princípios proporcionados pela técnica na separação os íons torna a MS uma técnica potente no controle da qualidade de cafés.

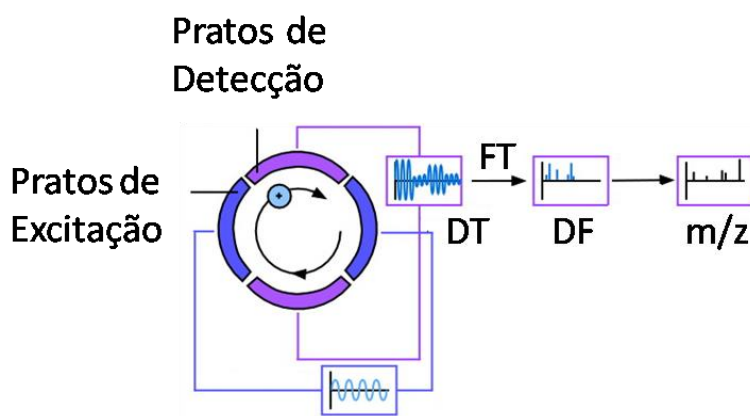


Figura 11. Diagrama esquemático de uma cela de ICR (MASS SPECTROMETRY, 2017).

1.3 QUIMIOMETRIA

O uso de ferramentas estatísticas tornou-se fundamental nas análises química devido a necessidade de estudos de diversas propriedades de um determinado analito que continham inúmeras variáveis. Conforme VARMUZA (2008) análise das estruturas químicas, determinação da origem das amostras, previsão de propriedades, análise quantitativa de misturas complexas dentre outras, são difíceis de medir diretamente, pois uma variável é insuficiente para modelar os dados e/ou fornecer informações investigativas.

As ferramentas estatísticas, matemáticas e computacionais atribuídas aos processos químicos a fim de extrair maiores informações dos dados, originaram uma área denominada quimiometria. Uma das principais aplicações desta área, é a calibração de dados multivariados que normalmente envolve o uso de um

tipo de medida instrumental para predizer o valor de um parâmetro de base ou propriedade (FILGUEIRAS, 2011). Como citado por FERREIRA, ANTUNES, MELGO *et al.* (1999), a quimiometria não é uma disciplina da matemática e sim da química, mesmo que as ferramentas usadas englobem a matemática, estatística e computação, as resoluções são de interesses químicos. Dados multivariados são caracterizados como objetos, recursos e propriedades, sendo o objeto um item real ou abstrato como amostras ou espectro, o recurso a variável numérica (exemplo concentração) e a propriedade é o atributo interessante e difícil de mensurar daquele objeto, por exemplo, a concentração de um composto numa mistura complexa (VARMUZA, 2008)

A calibração multivariada necessita, de forma geral, de algumas etapas como a preparação do conjunto de calibração, registro do sinal analítico, pré-tratamento dos dados, construção do modelo e validação do modelo, com objetivo de obter resultados qualitativos e quantitativos.

1.3.1 ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS – PCA

O método de reconhecimento de padrões não supervisionado por PCA é uma técnica exploratória de dados que projeta informações em um subespaço definido por componentes principais ortogonais. Estas são combinações lineares das variáveis originais, com a primeira componente principal contendo a maior variação, o segundo principal componente que tem a segunda maior variância, e assim por diante (BALLABIO, 2015) Segundo WOLD (1987) a partir da matriz **X**, que dispõe os resultados da análise em questão e que é definido como ponto de partida para uma análise de dados multivariados, são geradas duas novas matrizes **T** e **P**, que irão capturar os padrões de dados essenciais de **X**. Desta maneira, é possível selecionar um número de componentes significativos, de modo que a redução preserve a variação sistemática dos dados, enquanto o ruído é excluído (e/ou avaliados, caso haja tendência (FILGUEIRAS, ALVES, SAD *et al.*, 2014), sendo representado nos últimos componentes). Portanto, o PCA facilita a exploração de dados e a interpretação dos conjuntos de dados multivariados (BALLABIO, 2015; BRO, SMILDE, 2014).

WOLD (1987) descreveu que a PCA foi introduzida na área química por volta de 1960 por Malinowski, mas BRO (2014) ressalta que a mesma foi

reinventada diversas vezes devido as diferentes abordagens, no entanto, os dois concordam que o uso desta ferramenta analítica é essencial para a classificação, devido à complexidade das matrizes.

1.3.2 ANÁLISE DISCRIMINANTE POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS - PLS-DA

Segundo BALLABIO e CONSONNI (2013) o PLS-DA é um método de classificação linear que combina as propriedades de regressão de mínimos quadrados parciais com o poder de discriminação de uma técnica de classificação. Portanto, é considerada uma técnica supervisionada e assim como a PCA reduz a dimensionalidade dos dados. O PLS-DA correlaciona a variância do espaço multidimensional com uma resposta informada, e devido a isso segue uma tendência (direcionamento). De modo geral, a matriz ou vetor y da propriedade de interesse assume valores correspondentes aos índices de classe 0 e 1, quando existem duas classes e uma probabilidade é calculada para cada classe, sendo assim a classificação das amostras é realizada ao escolher a classe que tem a maior probabilidade (BALLABIO e CONSONNI, 2013).

1.3.3 MODELAGEM SUAVE INDEPENDENTE DE ANALOGIA DE CLASSE - SIMCA

O método de modelagem suave independente de analogia de classe (SIMCA) foi proposto com a intenção de classificar as amostras em conjunto de dados com alta dimensionalidade. Através da construção de um modelo PCA para cada classe de amostra, o espaço multidimensional torna-se delimitado. Ao possuir características que permitam ser incluídas no espaço multidimensional do modelo construído, uma amostra será classificada como pertencente àquela classe.

O SIMCA é baseado em três fundamentos, segundo WOLD e SJOSTROM (1977). O primeiro é o design do experimento. Assim, deve-se assumir que em cada objeto (sistema químico) estudado, um número de medições foram feitas (as mesmas variáveis medidas em todos os objetos do estudo). Em segundo lugar, deve-se assumir que os sistemas químicos foram ordenados em classes de forma que cada classe contém apenas sistemas

semelhantes. Essa ordenação em classes é geralmente fácil em investigações químicas. O terceiro fundamento é a existência de modelos matemáticos que, sob suposições bastante gerais, podem aproximar os dados observados em objetos semelhantes em uma única classe.

1.3.4 REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS - PLS

O modelo PLS, diferente das demais ferramentas quimiométricas citadas, é uma análise quantitativa e seu uso inicial na área química foi por volta de 1970-1980. Os parâmetros do modelo construído na etapa de calibração são denominados de coeficientes de regressão. Posteriormente as variáveis independentes são obtidas para uma ou mais amostras e são usadas para prever valores das variáveis dependentes, resultando, portanto, na etapa de previsão (GELADI E KOWALSKI, 1986). A PLS utiliza a técnica de análise de componentes principais para a redução da dimensionalidade do conjunto de dados ao mesmo tempo em que estabelece correlação entre os espectros (matriz **X**) e as propriedades de interesse (matriz **Y**). VARMUZA (2008) cita que n objetos (por exemplo, compostos químicos) são caracterizados cada um por m características (por exemplo, variáveis espectrais) e propriedades k (por exemplo, descritores moleculares) e que esses dados podem ser coletados em duas matrizes, **X** para os recursos e **Y** para as propriedades. A abordagem PLS usa **X** e **Y** juntos e gera um plano de projeção no espaço X que é influenciado pelos dados Y e um plano de projeção no espaço Y que é influenciado pelos dados X .

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar o desempenho das técnicas analíticas modernas: microNIR e FT-ICR MS na caracterização e quantificação de cafés, a fim de validar métodos analíticos no controle da qualidade de cafés de alguns municípios do Espírito Santo.

2.1 Objetivos específicos

- Comparar o desempenho analítico do microNIR portátil com equipamentos de bancada (FT-ICR MS);
- Propor um método analítico para avaliar a influência dos sistemas SAF (gliricidia, ingá, pupunha ou bananeira) na produção de cafés Conilon;
- Identificar e avaliar o perfil químico de cafés Conilon em pleno sol (tradicional) e sombreado (sistemas SAF);
- Correlacionar os resultados da análise sensorial dos cafés cultivados em diferentes SAF com os dados obtidos por microNIR.
- Verificar o desempenho analítico da técnica de microNIR na identificação e quantificação de adulterações de cafés arábica com café Conilon (em diferentes níveis de torrefações); milho; cascas/paus e borra de café.

3. CAPÍTULO 1

Análise do café Robusta cultivado em sistemas agroflorestais (SAF) por ESI-FT-ICR MS e NIR portátil associado à análise sensorial

O capítulo foi publicado na *Journal of Food Composition and Analysis* 94, 103637, 2020.

3.1 INTRODUÇÃO

A qualidade do café está diretamente relacionada às práticas agrícolas, origem geográfica e condições climáticas e de solo, espécies e cultivares (RICCI, COCHETO, ALMEIDA *et al.*, 2003). Os SAF são sistemas de cultivo que incorporam um componente florestal. Este sistema combinado constitui uma alternativa de gestão do solo para garantir a sustentabilidade baseada na eficiência e otimização dos recursos naturais na produção e maior diversidade de culturas do que os sistemas tradicionais, denominados de “luz solar direta” (VERCHOT, MACKENSEN, KANDJI *et al.*, 2005).

Do ponto de vista ecológico, os SAF são uma alternativa para a manutenção da biodiversidade (KLEIN, STEFFAN-DEWENTER, BUCHORI *et al.*, 2002) e para minimizar a degradação ambiental (NOPONEN, HAGGAR, EDWARDS-JONES *et al.*, 2013) porque integram culturas e florestas que melhoram a fixação de nitrogênio, proteção do solo (TUMWEBAZE e BYAKAGABA, 2016), sequestro de carbono (NOPONEN, HAGGAR, EDWARDS-JONES *et al.*, 2013), entre outros benefícios. No entanto, a necessidade de uma força de trabalho maior e a dificuldade no transporte de máquinas são desvantagens do SAF (RICCI, COCHETO, ALMEIDA *et al.*, 2003). Embora essa prática tenha começado por volta de 1970 na Amazônia brasileira, a partir de 2003, apenas 24,2% das lavouras eram consorciadas (RICCI, COCHETO, ALMEIDA *et al.*, 2003). Em 2017, de acordo com o censo agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), existiam no país 13.930.307 hectares (ha) com esse sistema de cultivo, dos quais 13.133 ha no estado do Espírito Santo.

Algumas metodologias, como os protocolos de teste da *Specialized Coffee Association* (SCA), da *Uganda Coffee Development Authority* (UCDA) e da Associação Brasileira de Cafés Especiais (BSCA), determinam procedimentos para a avaliação sensorial de cafés. Seus métodos são os mais utilizados no Brasil e em outros lugares (PEREIRA, GUARÇONI, DE SOUZA *et al.*, 2018b).

Os atributos organolépticos da bebida são afetados pelo sombreamento, e o sabor e o aroma estão relacionados à composição química dos grãos de café (BOSELDMANN, DONS, OBERTHUR *et al.*, 2009). A composição química do café é de grande importância para a qualidade final do produto, e a combinação da análise sensorial e o desenvolvimento de métodos analíticos que auxiliem no controle da qualidade dos grãos, elucidando a melhor forma de cultivo do café em SAF, podem agregar valor comercial para o produto.

A ESI($\pm$)FT-ICR MS é uma técnica analítica consolidada usada na área de controle de qualidade do café (CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016; GARRETT, VAZ, HOVELL *et al.*, 2012; GARRETT, SCHMIDT, PEREIRA *et al.* 2013a). ESI($\pm$)FT-ICR MS obtém informações em nível molecular, devido ao seu espectro de massa de ultra-alta resolução ($m/\Delta m_{50\%}$ maior que 400.000) e precisão de massa (menor que 2 ppm), permitindo a identificação das moléculas responsáveis pelo aroma e sabor do café. Por outro lado, o desenvolvimento de técnicas analíticas utilizando instrumentos portáteis como o microNIR, simplificou a análise (BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.*, 2019; CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018). Esta vantagem permite o teste no ponto de coleta de amostra, diminuindo os riscos de contaminação, o tempo de análise e fornecendo espectros instantâneos com pouca ou nenhuma preparação de amostra e design de instrumento simples.

ESI-MS e microNIR têm demonstrado excelente potencial na análise de cafés adulterados (milho e cascas/paus) (AQUINO, AUGUSTI, ALVES *et al.*, 2014; CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018), blends de cafés de diferentes espécies, incluindo Arábica e Conilon (CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016; GARRETT, VAZ, HOVELL *et al.* 2012), genótipos de café (LE MOS, PEREZ, DA CUNHA *et al.*, 2019), e na classificação de grãos defeituosos e não defeituosos (AMORIM, HOVELL, PINTO *et al.*, 2009;

MENDONÇA, FRANÇA, OLIVEIRA *et al.*, 2008; ROSA, FREITAS-SILVA, ROUWS *et al.*, 2016).

A investigação de matrizes complexas como o café melhorou devido aos avanços computacionais. O uso de ferramentas estatísticas multivariadas tornou-se fundamental em análises químicas devido à necessidade de estudar múltiplas propriedades de um determinado analito com inúmeras variáveis possíveis. Segundo VARMUZA (2008), a análise de estruturas químicas, determinação da origem da amostra, predição de propriedades e análise quantitativa de misturas complexas, entre outras tarefas, são difíceis de medir diretamente, pois uma variável é insuficiente para modelar os dados e/ou fornecer informações investigativas.

A PCA é uma técnica de dados exploratória que reduz a dimensionalidade dos dados ao projetar as amostras em um subespaço ortogonal construído a partir de combinações lineares das variáveis originais. Este novo espaço é chamado de componente principal (PC) e retém a maior parte das informações nos dados. Assim, é possível selecionar apenas componentes significativos para preservar a variação sistemática dos dados, enquanto o ruído é excluído (e/ou avaliado, se houver uma tendência (FILGUEIRAS, ALVES, SAD *et al.*, 2014) representada nos demais componentes). Consequentemente, o PCA facilita a exploração e interpretação de dados de conjuntos de dados multivariados (BALLABIO, 2015; BRO E SMILDE, 2014). Neste trabalho, cafés Robusta cultivados sob luz solar direta e em SAF sombreado com quatro espécies (Ingá de metro (*Inga edulis*), bananeira cv. Japira (*Musa spp.*), Gliricidia (*Gliricidia sepium*) e pupunha (*Bactris gasipaes Kunth*) foram avaliados quimicamente por ESI-FT-ICR MS e microNIR combinados com ferramentas quimiométricas, como análise de componentes principais e comparados com os resultados de análises sensoriais realizadas por Q-Graders.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Cinquenta amostras de café robusta (*Coffea canephora var robusta tropical*) foram fornecidas pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER, Cachoeiro de Itapemirim, ES, Brasil). Oito

amostras foram coletadas durante o cultivo sob luz solar direta (pleno sol e monocultura).

As 42 amostras restantes foram coletadas de quatro parcelas sombreadas por espécies diferentes, como segue: 8 amostras, Ingá de metro (*Inga edulis*); 13 amostras, banana cv. Japira (*Musa* spp.); 10 amostras, Gliricídia (*Gliricidia sepium*); e 11 amostras, pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). As amostras foram submetidas à análise sensorial e posteriormente analisado por ESI(±)FT-ICR MS e microNIR.

3.2.1 AMOSTRAS

As amostras foram obtidas na unidade de observação de café sombreado instituído em 31 de janeiro de 2013, na Fazenda Experimental de Bananal do Norte (20°45 'S, 41°47' W e 146 m de altitude), pertencente à INCAPER, no município de Cachoeiro de Itapemirim-ES, Brasil.

A zona climática local de Koppen-Geiger é Aw, caracterizada como quente e úmida, com precipitação média anual de 1293 mm, mínimo de temperatura no mês mais frio variando de 11,8°C a 18°C, e temperatura máxima no mês mais quente variando de 30,7 °C a 34°C.

A **Figura 12** mostra a caracterização edafoclimática da região. Dados da série meteorológica de 35 e 30 anos de precipitação e temperatura média mensal, respectivamente, foram coletadas do site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). O clima e os dados foram importados para o Microsoft Office Excel® para calcular o balanço hídrico agroclimatológico proposto por THORNTHWAITE e MATHER (1955). Os dados foram importados para o ambiente GIS e espacializados para a região em análise.

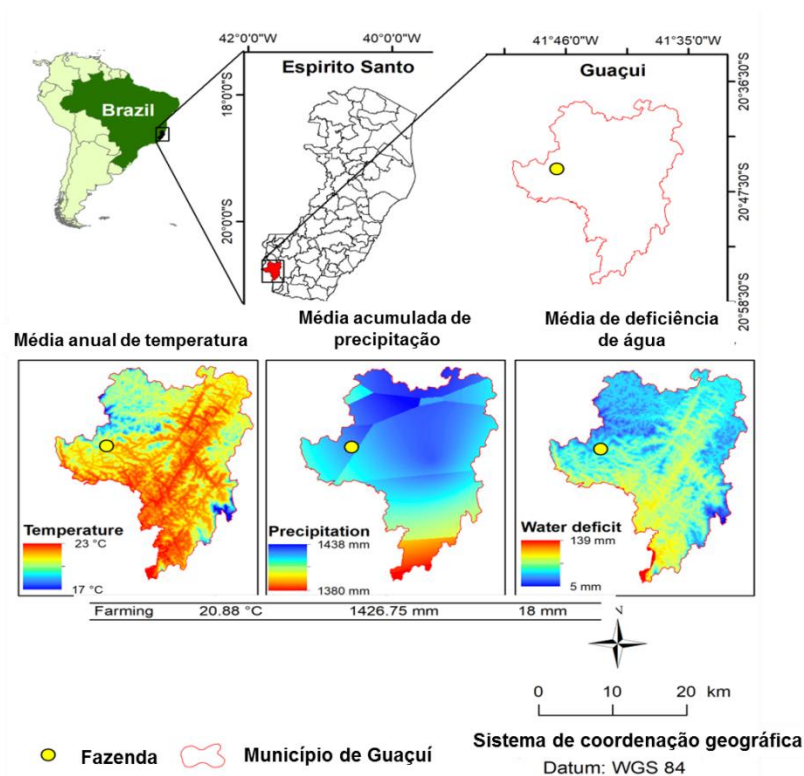


Figura 12. Caracterização edafoclimática (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

Café Robusta (*Coffea canephora* var. *Robusta tropical*), seminal origem, foi plantada no espaçamento de 3,0 x 1,0 m (3.333 plantas / ha), em uma área de 0,62 ha dividida em cinco parcelas, uma com café sob luz solar direta e o resto consorciado com uma das quatro plantas (Ingá (*Inga edulis*), banana cv. Japira (*Musa* spp.), Gliricídia (*Gliricidia sepium*) ou pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth)), como mostrado na **Figura 13**.

Bananeira e pupunha foram plantadas no espaçamento de 3,0 x 6,0 m (556 plantas/ha) e Gliricídia e Ingá a 6,0 x 6,0 m (278 plantas/ha). O SAF foi estabelecido em um sistema de cultivo orgânico, que, de acordo com o INCAPER, exclui o uso de agrotóxicos e fertilizantes minerais, utilizando adubo verde com leguminosas. Os adubos verdes seguiram as recomendações para produtividade entre 31 a 50 sc/ha e fornecimento de 320 kg/ha de N. O composto orgânico era proveniente de diferentes resíduos de colheita: grama, bananeira, palha de café e estrume de gado. O corte foi feito nas entrelinhas e a remoção de ervas daninhas dentro das linhas de café. A bananeira foi tratada com três pseudocaules por moita. As podas de Gliricídia e Ingá começaram em março de 2014, e duas podas anuais foram realizadas, mantendo o dossel acima de 4 m.

A Gliricídia foi drasticamente podada em agosto para permitir 100% de luz e podada em março para reduzir a sombra abaixo de 30 a 40%. A Ingá recebeu duas podas ao mesmo tempo que Gliricídia para manter o nível de sombra desejado. A safra não foi irrigada.



Figura 13. Vista das parcelas da área de estudo da Fazenda Experimental de Bananal do Norte - INCAPER, Cachoeiro de Itapemirim, Estado do Espírito Santo, Brasil (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

3.2.2 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Análise sensorial

Um painel de seis provadores de café, todos certificados como Q-Graders treinados pela *Coffee Quality Institute*, realizaram análises sensoriais. A utilização de seis Q-Graders na análise sensorial foi proposta inicialmente por PEREIRA, PEREIRA, GUARÇONI, DE SOUZA *et al.*, (2018b) para reduzir a subjetividade da análise. Dez atributos foram avaliados (fragrância /aroma, sabor, sal/acidez, amargor/doçura, sensação na boca, equilíbrio, geral, gosto residual, uniformidade e xícara limpa) e a soma de todas as características sensoriais foi calculada e denotada como avaliação global.

As amostras foram preparadas no Laboratório de Análises e Pesquisa em Café – LAPC, do Instituto Federal do Espírito Santo, campus de Venda Nova do Imigrante, seguindo a metodologia da UCDA (2012). A torrefação foi conduzida utilizando a torrefadora Laboratto TGP-2 com o conjunto de discos Agrtron-SCA. O ponto de torrefação dessas amostras estava entre as cores atribuídas aos discos #65 e #55 para cafés especiais (SCA, 2015).

O café foi torrado 24 horas antes da análise e a moagem ocorreu 8 horas após a torra. Os cafés foram moídos em moinho de discos, moinho da marca Bunn, modelo G3A HD. Utilizou-se uma peneira de malha 20 (US Standards) e constatou-se que 70 a 75% das partículas apresentavam esta granulometria. Todas as amostras foram torradas por 9 a 10 minutos, resfriadas e permaneceram lacradas, conforme metodologia de análise sensorial estabelecida pela UCDA. Essa rotina de procedimento sensorial foi proposta inicialmente por PEREIRA, GUARÇONI, DE SOUZA *et al.*, (2018b).

ESI-FT-ICR MS e MicroNIR

Os grãos de café Robusta usados para as análises foram coletados em 2017 nas quatro áreas de cultivo sombreadas e com luz solar direta. As análises ESI(±)FT-ICR MS dos grãos foram realizadas em grãos crus inteiros e grãos crus moídos (para fins de comparação), e as análises microNIR foram realizadas apenas em grãos crus moídos. Os grãos foram moídos em faca e moinho de bolas de acordo com as instruções da Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C. 2016).

Para análises ESI(±)FT-ICR MS, as amostras foram extraídas por um dia em 1 mL de metanol. Para análises microNIR, 1g das amostras foi armazenado em um frasco para análise de refletância difusa. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.2.3 INSTRUMENTAÇÃO

ESI-FT-ICR MS

As análises de espectrometria de massa foram realizadas em um FT-ICR MS (Solarix 9.4 T, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para ambos os modos de ionização, a aquisição (ESI(±)) utilizou 20 µL do extrato aquoso de amostras de café dopadas com 10 µL de glicose deuterada padrão e diluída para um volume total de 1 mL em uma solução de metanol. A solução resultante foi injetada na fonte de ESI a uma taxa de fluxo de 5–10 µL min⁻¹. A faixa dinâmica de aquisição de íons na célula ICR foi de *m/z* 154-1500. Outros parâmetros da fonte ESI foram i) tensão capilar = 2500–4100 V, ii) deslocamento da placa final = -500 V, iii) temperatura e fluxo do gás de secagem = 250°C e 2L min⁻¹, iv) pressão do gás nebulizador = 1 bar, v) skimmer = 15 V, e vi) tensão de colisão =

($\pm$) 1 V. O tempo de acumulação de íons e TOF foram 0,02 s e 0,9 ms, respectivamente. Cada espectro foi adquirido a partir do acúmulo de 32 varreduras com um domínio de tempo de 4 M (mega ponto). O poder de resolução de $m/\Delta m_{50\%} = 1.000.000$ (em que $\Delta m_{50\%}$ é a largura total do pico na metade da altura máxima do pico de m/z 400) e a precisão de massa de $<1-2$ ppm desde as atribuições de fórmula molecular inequívoca para carga única íons moleculares. Antes da aquisição, o equipamento foi calibrado externamente com uma solução de arginina (CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016; OLIVEIRA, COSTA, VENTURA *et al.*, 2016).

ESI($\pm$)FT-ICR MS/MS.

Para os experimentos de MS/MS, a janela quadrupolar foi fechada no intervalo de 1 Da, ou seja, $m/z_{\text{selecionado}} \pm 1$, fornecendo isolamento do íon de interesse. Posteriormente, o íon foi conduzido para uma célula de colisão (hexapolo) com energia de colisão variando de 3 a 20 V, usando argônio como gás de colisão. O tempo de acumulação de íons foi aumentado de 0,02 para 1 s para aumentar o número de íons na célula de ICR (analisador FTMS) (OGAWA, COSTA, VENTURA *et al.*, 2018; OLIVEIRA, COSTA, VENTURA *et al.*, 2016). Os íons selecionados para os experimentos de MS/MS foram m/z 466, 609, 637, 652 e 833.

MicroNIR

A análise microNIR foi realizada usando o MicroNIR miniatura Pro1700 da (Viavi Solutions Inc., anteriormente JDSU Corporation, Santa Rosa, CA) e do software Viavi Solutions Inc v. 2.1. Os espectros de microNIR foram adquiridos na faixa de 1676 a 908 nm, com 400 varreduras, tempo de integração de 14,1 ms, 125 pontos por varredura e aumento de 6,20 nm de um ponto para o ponto subsequente, totalizando um tempo de medição de aproximadamente 5,6 s. A fonte de radiação foram duas lâmpadas de tungstênio ($\varnothing = 4$ mm) conectadas a um filtro linear variável (LVF) usado como elemento dispersivo (CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018)

3.2.4 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

O software Matlab 7.0 (R2013a) foi usado para construir os modelos PCA. A análise de componentes principais é uma técnica estatística não supervisionada usada para reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados. Entre os objetivos do PCA está encontrar relações entre os objetos de estudo, por meio de agrupamentos (WOLD, 1987).

As matrizes foram construídas com dados FT-ICR MS nos modos de ionização positivo ESI(+) e negativo ESI(-) para as 50 amostras de café Robusta em grãos crus inteiros e moídos. Devido à quantidade de informações das amostras analisadas, as matrizes foram submetidas a um pré-processamento. Inicialmente, a remoção de ruído foi aplicada ao conjunto da matriz, obtendo-se espectros com 97,3% das intensidades relativas (IR) dos sinais. Posteriormente, a equação discriminante de Fischer (LOVATTI, NASCIMENTO, RAINHA *et al.*, 2020), **Equações 2, 3 e 4**, foram aplicadas a 0,9, obtendo 91% das informações do espectro no intervalo de m/z 154-1000. A análise discriminante de Fischer forneceu informações sobre as variáveis com maior potencial para discriminar grupos de amostra. Valores superiores indicam uma variável mais relevante.

$$D = \frac{\sum (\bar{x}_i - \bar{x}) n_i}{L - 1} \quad (2)$$

em que n_i é o número de amostras na i -ésima classe, $\bar{x}_i$ é a média na i -ésima classe, $\bar{x}$ é a média global e L é o número de classes. A variação intraclasse (d) foi então calculada como:

$$d = \frac{\sum (\sum (x_{ij} - \bar{x})^2) - (\sum ((\bar{x}_i - \bar{x})^2 n_i))}{(N - L)} \quad (3)$$

em que x_{ij} é a j -ésima medição da i -ésima classe e N é o número total da amostra. Finalmente, o índice FD foi calculado como:

$$FD = \frac{D}{d} \quad (4)$$

De acordo com LOVATTI, NASCIMENTO, RAINHA *et al.* (2020), se uma variável tem um pequeno valor FD, significa que a variação dentro da classe (d) para aquela variável é maior do que entre as diferentes classes (D). Esse resultado indica que essa variável não será um fator importante no processo de classificação. Porém, se essa variável tiver um valor FD alto, significa que a variação dentro da classe (d) é menor do que a variação entre as duas classes.

Antes da construção do modelo PCA, um pré-tratamento foi aplicado ao conjunto de dados: variável normal padrão (SNV) e centrado na média. Após a construção do modelo PCA, a matriz foi decomposta e os scores e *loading* foram gerados.

Todos os espectros microNIR foram inicialmente pré-processados usando a primeira derivada pelo algoritmo Savitzky – Golay (SAVITZKY e GOLAY, 1964) com um polinômio de segunda ordem e uma janela de 7 pontos. O modelo PCA foi construído com 50 amostras de café em diferentes SAF, produzindo uma matriz **X** (150 × 125), onde o número de réplicas utilizadas foram $n = 3$ (o que significa que as análises foram realizadas em triplicata).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No SAF, a escolha das espécies a serem cultivadas em associação com o café é determinada por sua função dentro do sistema, as opções incluem (i) frutas e plantas produtoras de madeira, cultivadas para comercialização; e (ii) leguminosas para tornar as plantas menos dependentes de fertilizantes devido ao descarte de matéria orgânica; entre outras opções (BRUM, 2007).

Assim, o INCAPER classificou as lavouras (à luz solar direta (pleno sol) - tradicional, e à sombra - bananeira, pupunha, gliricídia e Inga) de acordo com seus objetivos (**Tabela 6**). Os valores da produção de café (sacas por hectare, sc/ha) revelaram que o café cultivado sob luz solar direta, ou tradicionalmente, teve rendimentos mais baixos (1,79 sc/ha) do que os demais. O cultivo com luz solar direta apresenta alta produção inicial de café, mas com o tempo ocorre declínio da produção (DELAROZZA, RAKOCEVIC, MALTA *et al.*, 2017). RICCI, COCHETO, ALMEIDA *et al.*, descreveram que a exposição direta ao sol afeta o tamanho do grão, uma vez que as condições climáticas influenciam na duração da fase de cereja. Dentre os SAF, o café com maior rendimento foi o consorciado

com pupunheira seguido de Gliricídia, Ingá e banana com 10,5, 8,2, 6,2 e 5,7 sc/ha, respectivamente.

Tabela 6. Classificação do SAF de acordo com os objetivos propostos (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

Sistema agroflorestal	Linha	Produção (sc/ha)	Objetivo
Pleno sol	3,4,5,6,7,10,13	1,79	Produção tradicional
Bananeira	2,3,4,7,8,9,10,13,14,15,16	5,7	Matéria orgânica/geração de renda
Pupunha	2,4,7,8,9,10,13,14,15,16	10,5	Matéria orgânica/geração de renda
Gliricidia	2,4,7,8,9,10,13,14,15,16,	8,2	Fixação de Nitrogênio/Matéria orgânica
Ingá	2,3,5,9,10,11,13,14,15,16	6,2	Fixação de Nitrogênio/Matéria orgânica

ANÁLISE SENSORIAL

Os atributos sensoriais dos cafés foram analisados de acordo com o protocolo da UCDA, e a consistência do método de análise sensorial descritiva está relacionada às notas atribuídas às amostras. A **Tabela 7** mostra os valores médios (e desvio padrão), de acordo com os seis Q-Graders, para cada atributo sensorial analisado e a avaliação global.

Os cafés que obtiveram os maiores valores na avaliação global eram de plantas cultivadas com Gliricidia e Ingá. RICCI, COCHETO, ALMEIDA *et al.*, (2013) analisou a qualidade do café a pleno sol e consorciado com espécies de Gliricídia e Eritrina.

No sistema sob luz solar direta, a temperatura média anual foi de 28,8°C, 3°C acima da recomendada para o cultivo do café Robusta, enquanto no SAF com Gliricídia os valores se aproximaram do ideal (RICCI, COCHETO, ALMEIDA *et al.*, 2013).

A temperatura pode afetar a maturação e frutificação dos grãos resultando na perda da qualidade sensorial dos cafés (RICCI, COCHETO, ALMEIDA *et al.*, 2013). VALENCIA, WEST, STERLING *et al.* (2015) relataram que a espécie Ingá

é preferida entre os agricultores por fornecer benefícios significativos à produção. Em contrapartida, os cafés sob luz solar direta obtiveram a menor pontuação na avaliação geral entre todas as amostras analisadas.

Segundo dados obtidos pelo INCAPER, essas duas espécies, Gliricidia e Ingá, possuem critérios padronizados como maior densidade foliar. Essas espécies são plantas comuns no consórcio por serem tolerantes à poda e permitirem uma regulação da sombra vantajosa para o café, visto que sob sombra excessiva a produtividade tende a cair. BOSSELMANN, DONS, OBERTHUR *et al.* (2009) relataram que a sombra influencia a qualidade sensorial mais do que a altitude e a temperatura. Foi relatado que a composição química do café altera de acordo com as condições meteorológicas (JOËET *et al.*, 2010), dado confirmado por nossos resultados. As altas temperaturas devido à exposição direta ao sol impedem a translocação de alguns compostos químicos para os frutos, afetando sua qualidade sensorial (PEREIRA, GUARÇONI, CARDOSO *et al.*, 2018a).

PÉREZ-MARTÍNEZ, SOPELANA, PEÑA *et al.* (2008) relacionaram a qualidade do café principalmente aos ácidos e açúcares presentes nas amostras. A **Tabela 7** mostra que os maiores valores para os atributos acidez e doçura foram das amostras de café em SAF com Gliricídia.

O café cultivado sob luz solar direta obteve o segundo maior valor nesses dois atributos. Este resultado pode estar relacionado ao teor de cafeína afetando a doçura/amargor da bebida. DELAROZZA, RAKOCEVIC, MALTA *et al.* (2017) mostraram que, a partir de experimentos de planejamento fatorial usando dados sobre ácidos clorogênicos, açúcares totais, cafeína e lipídios, entre outros, que os cafés expostos ao sol têm menos cafeína, o que pode, assim, afetar/aumentar as pontuações de atributos de doçura.

Tabela 7. Resultados médios totais da análise sensorial para atributos (aroma, sabor, acidez, doçura, sensação na boca, equilíbrio, geral, gosto residual, uniformidade e defeitos) de acordo com os 6 *Q-graders* e avaliação global (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

SAF	Fragância/ Aroma	Sabor	Salinidade/ Acidez	Amargor/ Doçura	Sensação na boca	Equilíbrio	Conjunto	Retrogosto	Uniformidade	Limpeza da xícara	Avaliação global
GLI	6.1(±0.2)	6.3(±0.5)	6.3(±0.5)	6.3(±0.6)	6.4(±0.7)	6.3(±0.5)	6.4(±0.7)	6.3(±0.4)	10*	8.3(±4.1)	68.7
ING	6.2(±0.4)	6.3(±0.4)	6.1(±0.2)	6.1(±0.2)	6.0*	6.2(±0.3)	6.2(±0.3)	6.1(±0.2)	10*	8.3(±4.1)	67.5
BAN	6.2(±0.3)	6.2(±0.3)	6.2(±0.3)	6.1(±0.2)	6.2(±0.3)	6.2(±0.3)	6.1(±0.2)	6.1(±0.2)	10*	8.3(±4.1)	67.6
PUP	6.1(±0.2)	6.1(±0.2)	6.0*	6.0*	6.0*	6.0*	6.0*	6.0*	10*	3.3(±5.5)	61.5
os	6.3(±0.3)	6.3(±0.3)	6.2(±0.3)	6.3(±0.3)	6.2(±0.3)	6.3(±0.3)	6.2(±0.3)	6.2(±0.3)	10*	3.3(±5.2)	63.3

*Não houve variação.

Legends: GLI = Gliricídia, ING= Ingá, BAN= Banana, PUP= Pupunha, and PS= Pleno sol.

ESI-FT-ICR MS

Todas as espécies químicas detectadas apresentaram sinais com intensidade relativa (IR) superior a 1%. Informações incluindo os valores medidos de m/z , erro de massa (ppm), fórmula empírica e estruturas propostas descritas na literatura são mostradas nos **Anexo A e B**.

A **Figura 14a-j** mostra os espectros de massa ESI(+) e ESI(-) de amostras em grãos inteiros em função do cultivo: ((a e f) pleno sol e em consórcios (b e g) Gliricídia; (c e h) Ingá, (d e i) pupunha; e (e e j) banana.

Neste estudo, todas as amostras de café foram dopadas com um padrão interno de glicose deuterada. O uso de um padrão interno é comum para eliminar interferências instrumentais (KARUNA, ECKARDSTEINA, RENTSCH *et al.*, 2009) e como parâmetro analítico uma vez que a concentração do padrão é conhecida. No modo ESI(-), **Figura 14a-e**, o dopante (destacado em vermelho) foi detectado (**Anexo A**) em sua forma desprotonada, ânion $[C_6H_5D_7O_6-H]^-$ de m/z 186, bem como na forma de dímero, $[C_{12}H_9D_{14}O_{12}-H]^-$ íon de m/z 373; e ligado a outros compostos, como ácido pirúvico, $[C_9H_9D_7O_9-H]^-$ de m/z 274; lactato, $[C_9H_{11}D_7O_9-H]^-$ de m/z 276; ácido palmítico, $[C_{22}H_{37}D_7O_8-H]^-$ de m/z 442; ácido linoléico, $[C_{24}H_{37}D_7O_8-H]^-$ de m/z 466; ácido esteárico, $[C_{24}H_{41}D_7O_8-H]^-$ de m/z 470; ácido cafeoilquínico, $[C_{22}H_{23}D_7O_{15}-H]^-$ de m/z 540; sacarose, $[C_{18}H_{27}D_7O_{17}-H]^-$ de m/z 528; ácido feruloilquínico, $[C_{23}H_{25}D_7O_{15}-H]^-$ de m/z 554; e ácido dicafeoilquínico, $[C_{31}H_{29}D_7O_{18}-H]^-$ de m/z 702. O dopante também foi encontrado como um aduto de cloro, $[C_6H_5D_7O_6+Cl]^-$ de m/z 222. Em ESI(+), **Anexo B**, o dopante foi detectado em m/z 210 e 226 como um aduto de sódio, $[C_6H_5D_7O_6+Na]^+$, e potássio, $[C_6H_5D_7O_6+K]^+$, respectivamente, de m/z 397 e 413 na forma de dímeros.

Os principais ácidos clorogênicos presentes nas amostras de café também foram identificados no ESI(-) (**Figura 14a-e**). Eles são cafeoil tirosina, m/z 342, $[C_{18}H_{17}NO_6-H]^-$; ácido cafeoilquínico, m/z 353, $[C_{16}H_{18}O_9-H]^-$; ácido feruloilquínico, m/z 367, $[C_{17}H_{20}O_9-H]^-$; ácido dicafeoilquínico, m/z 515, $[C_{25}H_{24}O_{12}-H]^-$; e ácido feruloil-cafeoilquínico, m/z 529, $[C_{26}H_{26}O_{12}-H]^-$.

Os compostos derivados do açúcar foram identificados em ambos os modos de ionização, ESI($\pm$). No modo ESI(-) (**Figura 14a-e**), foi encontrado em m/z 215, íon $[C_6H_{12}O_6+Cl]^-$; ácido láctico e ácido cafeoilquínico, como aduto de sacarose, m/z 431 (íon $[C_{15}H_{28}O_{14}-H]^-$) e m/z 695 (íon $[C_{28}H_{40}O_{20}-H]^-$),

respectivamente; e cinamosida, m/z 553, como aduto de cloro, $[C_{24}H_{38}O_{12}+Cl]^-$. GARRETT, SCHMIDT, PEREIRA *et al.* (2013a) apontou que a análise multivariada indicou que o íon de m/z 695 foi importante para distinguir os diferentes cultivares de café arábica (Catuaí e Sarchimor). No modo ESI(+), apenas a sacarose foi identificada, íon de m/z 381, $[C_{12}H_{22}O_{11} + K]^+$.

Em ESI(-), ácidos graxos também foram encontrados, como ácidos quínico, glucônico, linoléico, coriólico, p-coumaroilquínico e beênico, $[C_7H_{12}O_6-H]^-$, $[C_6H_{12}O_7-H]^-$, $[C_{18}H_{32}O_2-H]^-$, $[C_{18}H_{32}O_3-H]^-$, $[C_{16}H_{18}O_8-H]^-$, e $[C_{22}H_{44}O_2-H]^-$ íons de m/z 191, 195, 279, 295, 337 e 339, respectivamente. O íon de m/z 295, denominado ácido coriólico, nunca foi relatado como um composto presente em amostras de café, mas foi encontrado por BABUDRI (2000) como um metabólito do ácido linoléico em plantas como *Oryza sativa* L.

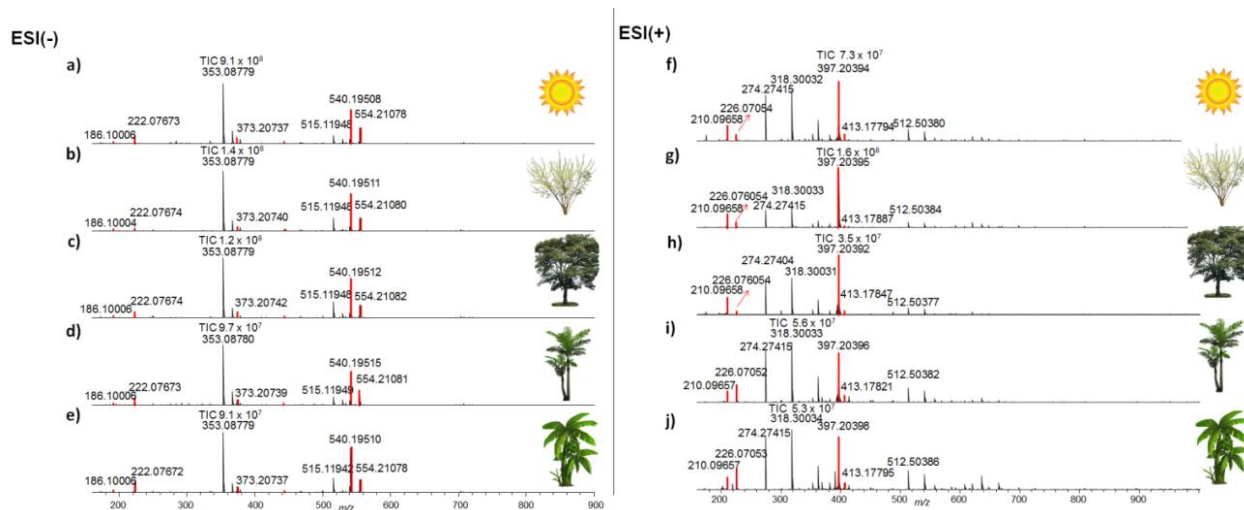


Figura 14. Espectros de massa no modo de ionização ESI(-) e ESI(+) para grãos inteiros de café Robusta respectivamente, em função do cultivo em a-f) luz solar direta e de diferentes SAF b-g) gliricídia c-h) ingá d-i) pupunha e e-j) bananeira (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

Para comparar a sensibilidade da técnica de ESI(±)FT-ICR MS ao analisando o perfil químico das amostras de café, o efeito da moagem também foi avaliado (ESI(-), **Figura 15a-e**, e ESI(+), **Figura 15f-j**) em amostras de plantas cultivadas a pleno sol (**Figura 15a, f**) e em diferentes SAF: Gliricídia (**Figura 15b, g**), Ingá (**Figura 15c, h**), pupunha (**Figura 15d, i**) e bananeira (**Figura 15e, j**). Nas amostras moídas, foi detectado um maior número de compostos e com maior intensidade do que nos grãos inteiros (**Figura 15**). Para ESI(-), 30 compostos foram observados em grãos inteiros e 55 compostos com IR> 1% em

grãos moídos (**Anexo A e B**), enquanto em ESI(+), foram identificados 11 e 22 compostos para grãos inteiros e moídos, respectivamente.

Os espectros de massa FT-ICR para amostras de café moído (**Figura 15**) mostraram que a eficiência do processo de extração do composto foi maior para amostras moídas, provavelmente devido a uma maior área de superfície. GARRETT, SCHMIDT, PEREIRA *et al.* (2013a) identificaram 20 compostos por ESI(-) em amostras de café moído, incluindo compostos fenólicos, lipídicos e diterpênicos. GARRETT, REZENDE e IFA (2013) compararam os resultados, por ionização em *paper spray* (PS-MS), obtidos após o corte transversal dos grãos e observaram que o IR dos sinais tornou-se mais intensa. CLIFFORD, JOHNSTON, KNIGHT *et al.* (2003) também reduziram os tamanhos das amostras, aumentando sua área superficial e identificaram cinco ACG (**Anexo A e B**) e seus isômeros, identificando 18 compostos por cromatografia líquida (LC) acoplada a MS.

Quando a moagem da amostra resulta em um maior número de sinais identificados, existe a possibilidade de se encontrar compostos endógenos úteis para o estudo de mudanças na composição química ao longo do desenvolvimento do grão. GARRETT, SCHMIDT, PEREIRA *et al.* (2013a) consideraram que os compostos principais para distinguir a origem do café são os açúcares, mais precisamente, os íons de m/z 219, 381 e 365 (**Anexo B**). Os íons trigonelina, açúcares e ácidos clorogênicos, como o ácido cafeoilquínico, foram significativos nos modelos de PCA para identificar genótipos de café (LEMONS, PEREZ, DA CUNHA *et al.*, 2021) Os autores também relataram que o ácido quínico não é considerado adequado para distinguir espécies e genótipos de café.

Os ácidos graxos são outra classe de compostos importantes na produção de café. Neste estudo, 14 estruturas foram identificadas e caracterizadas (**Anexo A**). De acordo com PERDY *et al.* (2015), o conteúdo aproximado desses componentes nos grãos verdes dos cafés Conilon é de 8 a 10% do peso seco, excedendo os níveis de alguns açúcares. Alguns estudos associam a qualidade da bebida, por exemplo, ao ácido esteárico (FIGUEIREDO, MEIRA, CARMANINI *et al.*, 2015) e ao ácido palmítico (FIGUEIREDO, MEIRA, CARMANINI *et al.*, 2015, PEREIRA, GUARÇONI, PINHEIRO *et al.* 2020). BERTRAND, VILLARREAL, LAFFARGUE *et al.* (2008) demonstraram que houve variação no

teor de ácido linoléico, assim como de outros ácidos graxos, sugerindo que essa classe de compostos pode ser valiosa na identificação de variedades e origens. Além disso, os ácidos graxos são essenciais para a formação de ésteres responsáveis pelo sabor do produto final (bebida).

Ao comparar os resultados ESI(-) para os grãos inteiros (**Figura 14a-e**) e moídos (**Figura 15a-e**), observamos para a análise de grãos inteiros (**Figura 14a-e**), os ácidos clorogênicos suprimiram a maioria dos sinais detectados. Esse resultado pode estar relacionado ao maior teor desses compostos nas amostras de café. Os ácidos graxos de menor peso molecular (M_w), os ácidos palmítico e esteárico (destacados em azul), e o ácido linoléico, estão entre os principais compostos com valores de IR alterados.

Os ácidos graxos específicos suprimidos nas amostras de grãos inteiros (**Figura 14a-e**), mas detectados após o processo de moagem (**Figura 15a-e** e **Anexo A**) incluem ácido mirístico, íon $[C_{14}H_{28}O_2 - H]^-$ de m/z 227; ácido pentadecanóico, $[C_{15}H_{30}O_2 - H]^-$ íon de m/z 241; ácido palmitoleico, $[C_{16}H_{30}O_2 - H]^-$ de m/z 253; ácido palmítico, $[C_{16}H_{32}O_2 - H]^-$ íon de m/z 255; ácido oleico, $[C_{18}H_{34}O_2 - H]^-$ íon de m/z 281; ácido araquídico, $[C_{20}H_{40}O_2 - H]^-$ íon de m/z 311; pCoumaroil tirosina ou cafeoil fenilalanina, $[C_{18}H_{17}NO_5 - H]^-$ íon de m/z 326; 2-palmitoilglicerol, $[C_{19}H_{38}O_4 - H]^-$ íon de m/z 329; e gliceril 1-lactato 2,3 palmitato, $[C_{38}H_{72}O_7 - H]^-$ íon de m/z 639, que também foi detectado como aduto de cloro, gliceril 1,3-palmitostearato, $[C_{37}H_{72}O_5 + Cl]^-$ íon de m/z 631.

O composto mais abundante nas amostras de café Robusta de SAF sombreado com Gliricidia (**Figura 15b**) foi o ácido palmítico (destacado em azul), íon de m/z 255, resultando na diminuição da IR do padrão, íon de m/z 373. Esses cafés alcançaram os maiores notas de acidez na análise sensorial (**Tabela 7**). Nos espectros de grãos moídos (destacados em verde), o íon de m/z 381, dímero de sacarose com aduto de potássio em ESI(+), teve o menor IR em função do padrão interno de m/z 226 em amostras em SAF com pupunha (**Figura 15f-j**). Esse resultado é corroborado pelos dados da análise sensorial em que o menor grau de doçura foi atribuído aos cafés desse consórcio.

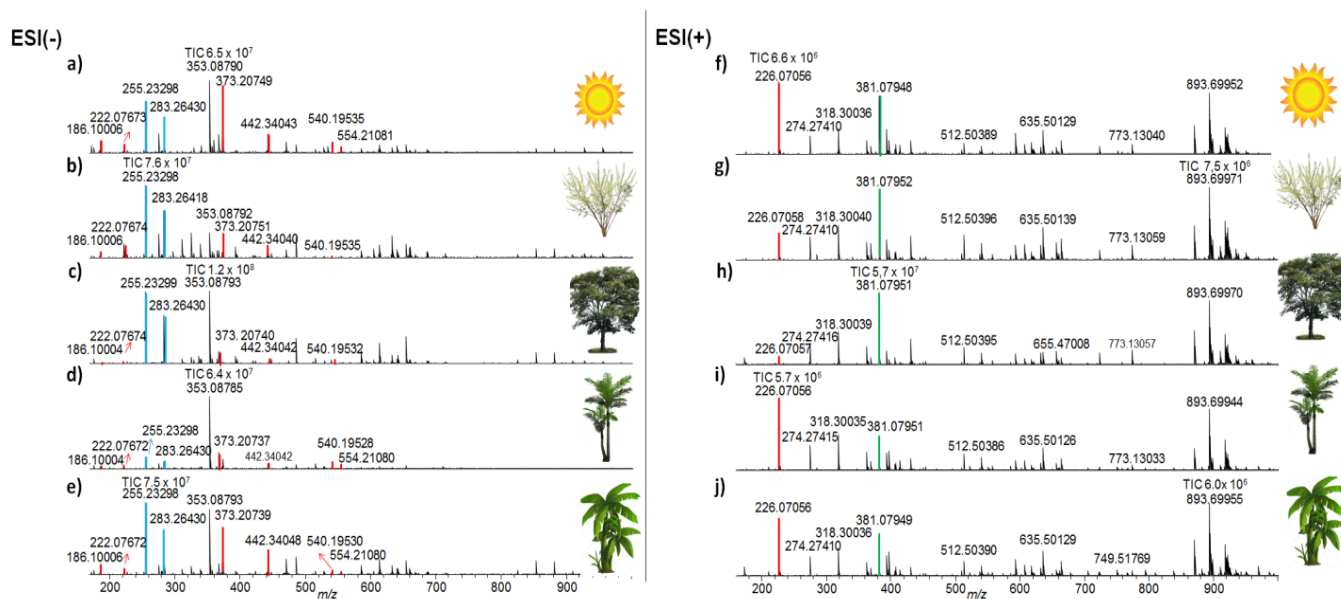


Figura 15. Espectros de massa no modo de ionização ESI(-) e ESI(+) para grãos moídos de café Robusta, respectivamente, em função do cultivo em a-f) luz solar direta e de diferentes SAF b-g) gliricídia c-h) ingá d-i) pupunha e e-j) bananeira (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

Um modelo de PCA foi construído usando o espectro de massa ESI($\pm$)FT-ICR para os grãos crus inteiros (**Figura 16a-b**) e grãos crus moídos (**Figura 16c-d**). O discriminante de Fischer foi aplicado ao espectro de massa para eliminar variáveis não informativas que poderiam afetar a discriminação das classes de café Robusta cultivadas em diferentes SAF. Portanto, a maior diferença média entre o IR dos sinais nos espectros de massa e a menor variância corresponde a um valor calculado de discriminante de Fischer mais alto.

A **Figura 16a-b** mostra o gráfico dos scores para as amostras de grãos crus inteiros. Para ESI(-) e ESI(+), os três primeiros PCs explicam 74,38% e 39,72%, respectivamente. Uma pobre discriminação com base nos diferentes tipos de SAF, das amostras por ESI(-) foi observada. Por outro lado, pelo ESI(+), houve uma ligeira distinção no PC1 das amostras de café cultivadas em SAF com banana em comparação com aquelas cultivadas com as outras amostras consorciadas.

Figura 16c, d mostra o gráfico de score (PC1 x PC2 x PC3) para as amostras de café moídas. Os três PCs descrevem 23,13% e 79,77% da variância total para análises ESI(-) (**Figura 16c**) e ESI(+) (**Figura 16d**), respectivamente. Para os dados do ESI(-) (**Figura 16c**), três grupos foram formados, consistindo nas amostras (i) café cultivado sob luz solar direta, (ii) café cultivado com banana e (iii) café cultivado com pupunheira, Ingá e Gliricídia. Vários trabalhos citam as

vantagens do cultivo dessas duas últimas safras sobre o café e/ou outros cultivos. PAULINO, ALVES, BARROSO *et al.* (2009) cultivaram manga e graviola em SAF com Gliricidia, feijão-guandu e crotalária e observaram que Gliricidia tinha 80% de fixação de nitrogênio no solo - a maioria de todas as culturas testadas - capaz de contribuir com aproximadamente 100 a 300 kg ha⁻¹ de N por ano. Além disso, a densidade da cobertura no SAF com Gliricidia e Ingá é maior, exigindo duas podas por ano para atingir níveis de sombra mais baixos (entre 30% e 40%). A redução da amplitude térmica deve-se ao aumento da densidade foliar (PEREIRA, GUARÇONI, CARDOSO *et al.*, 2018a). RICCI, COCHETO, ALMEIDA *et al.*, (2013) relataram que a radiação excessiva e as altas temperaturas, características dos sistemas a pleno sol, podem resultar em maior aporte de nutrientes nos cafeeiros, além de saturar o processo fotossintético da planta, reduzindo assim a longevidade da cultura. Esses autores também descobriram que as temperaturas médias em SAF com Gliricidia e Eritrina eram de aproximadamente 26,2°C e 26,8°C, respectivamente, valores que estão próximos da temperatura recomendada para o cultivo de café. Esses resultados demonstram a eficiência de Gliricidia e Ingá como componentes em SAF.

A espécie pupunheira como componente do SAF é excluída economicamente pelos agricultores (BRUM, 2007). Esta espécie não foi relatada na literatura como fator de qualidade em consórcios. No entanto, produziu resultados semelhantes na composição do café (**Figura 16c**) àqueles consorciados com Ingá e Gliricidia, de acordo com os espectros ESI(-).

Na PCA construída com os dados obtidos pelo ESI(+) para as amostras de café moídas (**Figura 16d**), houve uma ligeira tendência das amostras agruparem em PC1. Na região PC1 < 0 estão as amostras cultivadas com banana e luz solar direta, enquanto na região PC1 > 0, houve uma leve tendência de aglomeração entre as amostras de café consorciadas com Gliricidia e Ingá. Em geral, as amostras moídas produziram um maior número de sinais e/ou IR, ou seja, maior disponibilidade de variáveis (**Figura 15**). Portanto, foi possível observar melhores resultados por meio do modelo PCA (**Figura 16c**).

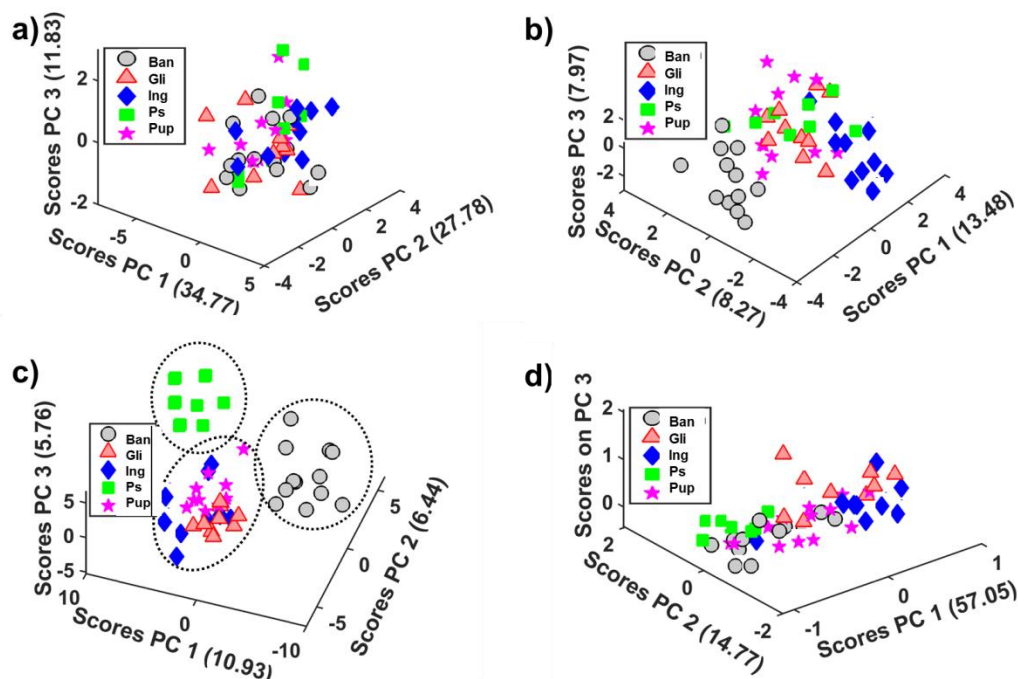


Figura 16. Gráfico dos scores dos modelos PCA (a)ESI(-) e (b)ESI(+) para grãos inteiros; e (c)ESI(-) e (d)ESI(+) para grãos moídos de café Robusta em função dos diferentes SAF (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

Para verificar os compostos mais relevantes para a construção do modelo PCA (**Figura 16c**), foi inserido o gráfico de *loadings* (**Figura 17**) construído com os espectros de massa por ESI(-). Os principais compostos presentes nas amostras de café são os ácidos clorogênicos, principalmente as formas deprotonadas (ácido cafeoilquínico, m/z 353 e ácido feruloilquínico, m/z 367) (CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016; GARRETT, VAZ, HOVELL *et al.*, 2012). No entanto, os íons com a maior variância para todas as três PCs tiveram valores de M_w entre 450 a 900 Da (**Anexo A**). Portanto, os ácidos clorogênicos não foram significativos para a construção do modelo, pois tiveram IR semelhante por ESI(-) em todas as amostras (**Figura 15a-e**).

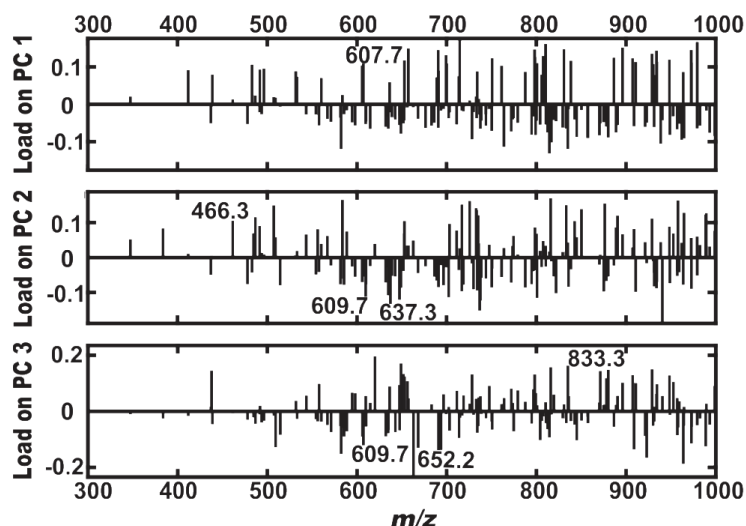


Figura 17. Gráfico dos *loadings* para os espectros no modo de ionização ESI(-) para café Robusta em função dos diferentes SAF (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

Para elucidar a estrutura dos compostos que foram significativos para a construção do modelo PCA com dados ESI(-) de amostras de café moído, experimentos de dissociação induzida por colisão (CID) foram realizados para íons de m/z 466, 609, 637, 652 e 833 (**Figura 18a-e**). Os compostos significativos para a construção do modelo foram principalmente adutos formados por ácidos clorogênicos (m/z 353, 367 e 515), com os ácidos graxos linoléico (m/z 279), esteárico (m/z 284) e ácido palmítico (m/z 256), respectivamente. CLIFFORD, JOHNSTON, KNIGHT (2003), CLIFFORD, KNIGHT, SURUCU *et al.* (2006) e GARRETT, VAZ, HOVEL *et al.* (2012) mostraram que os ácidos clorogênicos estão entre os compostos polares mais abundantes nas amostras de café, contendo pelo menos 18 compostos diferentes. Segundo MUSCHLER (2001), o sombreamento afeta o amadurecimento dos frutos, tornando esta fase mais lenta. Portanto, os cafés com luz solar direta ou com baixo nível de sombreamento (consorciados, como neste caso, com banana e pupunha) sofrem de maturação precoce, um dos fatores responsáveis pela perda da qualidade do café devido ao seu efeito no metabolismo do ácido clorogênico.

Anteriormente, nenhuma estrutura química havia sido sugerida para o íon de m/z 833, que é proposta na **Figura 18**, embora GARRETT, SCHMIDT, PEREIRA *et al.* (2013a), por meio de modelos quimiométricos, mostraram que esse íon foi significativo para distinguir as espécies de café.

Os outros sinais apresentados no gráfico dos *loadings* (**Figura 17**) não foram identificados através dos experimentos CID. No entanto, de acordo com ARYA e RAO (2007) e CLARKE e VITZTHUM (2001), os compostos de 2001b com altos valores de M_w em amostras de café podem estar associados aos carboidratos. Outro íon presente no gráfico dos *loadings* é um de m/z 683, que foi identificado por TSUKUI, BRAND, VENDRAMINI *et al.* (2015) como dímero de sacarose $[2M-H]^-$; e o íon de m/z 695, $[C_{28}H_{40}O_{20}-H]^-$ caracterizado como um ácido cafeoilquínico e aduto de sacarose. Os açúcares costumam qualificar o café, de acordo com DELAROZZA, RAKOCEVIC, MALTA *et al.* (2017), e o café Arábica é único devido ao seu alto teor de carboidratos em comparação com o café Robusta. AMORIM, HOVELL, PINTO *et al.* (2009) relataram que açúcares e ácidos clorogênicos são essenciais para obter um resultado de teste de xícara excelente.

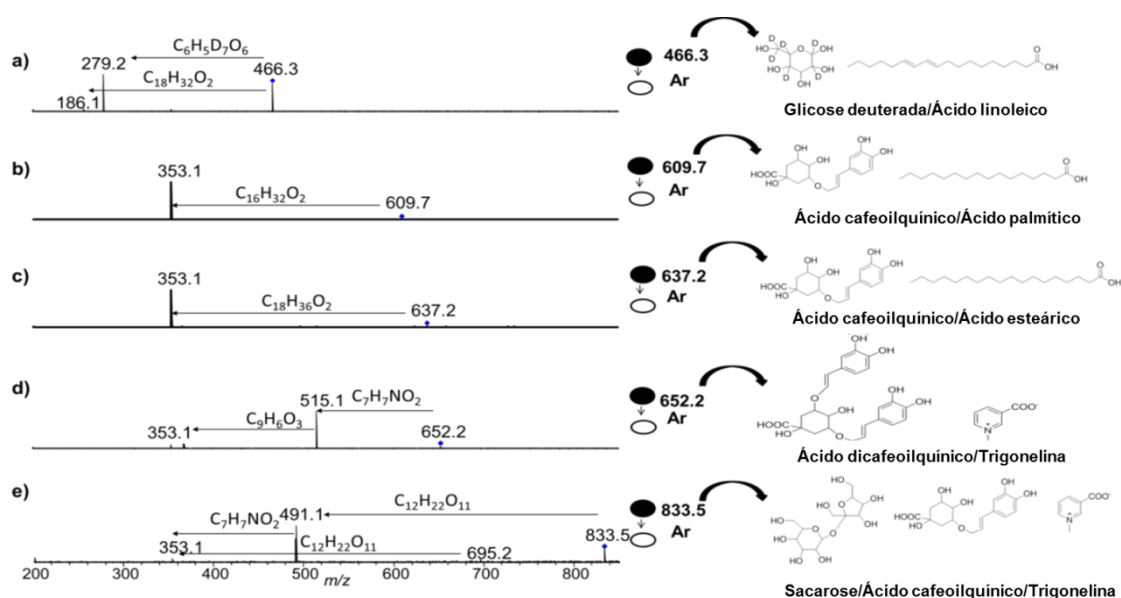


Figura 18. ESI(-)MS/MS de íons de m/z a) 466, b) 609, c) 637, d) 652, e) 833 e suas estruturas (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

MicroNIR

A **Figura 19a** mostra os espectros NIR portáteis obtidos após a aplicação da primeira derivada. Bandas são observadas nas regiões de 900–1000, 1100–1200, 1350–1500 e 1500–1600 nm. WORKMAN e WEYER (2008) atribuíram essas bandas aos sobretons das ligações CH e OH, relacionados principalmente a carboidratos, álcoois, água e ácidos clorogênicos. RIBEIRO, FERREIRA, SALVA *et al.* (2011) demonstraram que as regiões entre 1400-1600 nm estão

relacionadas a açúcares, cafeína, sacarose e ácidos clorogênicos. Possivelmente, a maior intensidade de banda em 1350-1500 nm se deve aos compostos mais abundantes nas amostras de café, ácidos clorogênicos, uma vez que a resposta obtida por espectroscopia NIR é diretamente proporcional à concentração de analito na amostra (PAVIA, LAMPMAN, KRIZ *et al.*, 2015). Com relação à banda larga na região de 1500-1600 nm, MARUO, TSURUGI, TAMURA *et al.* (2003) indicou que caracteriza o grupo O-H de glicose e outros açúcares. A partir disso, é possível correlacionar essa região como um indicador de açúcares nas amostras. O café Robusta tem entre 6-11,5% de açúcares solúveis, incluindo glicose (DURÁN, TSUKUI, SANTOS *et al.*, 2017).

Na construção do modelo PCA para amostras de café cultivadas em diferentes SAF, foram usados as três primeiras PCs (**Figura 19b**), que totalizaram 89,67% da variância total explicada. Semelhante aos dados do ESI($\pm$), **Figura 16**, houve agrupamento de amostras cultivadas com Ingá e Gliricidia na região de PC1 <0. No entanto, não houve agrupamento das amostras de café Robusta consorciado com pupunha com o agrupamento Ingá e Gliricidia. Essas amostras apresentam semelhança com as amostras cultivadas a pleno sol e consorciadas com banana (região PC1 > 0).

O gráfico dos *loadings* (**Figura 19c**) mostra que na região PC2, uma grande parte do espectro NIR influencia o modelo. Este resultado deve estar associado à baixa eficiência da técnica microNIR em separar as amostras consorciadas em diferentes SAF. No entanto, a região PC1 <0 discriminou melhor as amostras e a variância no gráfico dos *loadings* está entre 1400–1500 nm. Embora haja maior intensidade no gráfico dos *loadings* para esta banda em comparação com outras PCs, esta região está relacionada aos ácidos clorogênicos presentes nas amostras.

A PC3, entre todos os PCs, foi mais influenciada pela região de 500–1600 nm, pois está relacionado ao teor de açúcar nas amostras. A maturação também afeta os níveis desses compostos e, conseqüentemente, é responsável pela variação dos açúcares nos grãos de café (MUSCHLER, 2001). Assim, podemos especular que as amostras presentes na região de PC3 > 0,3 (Gliricidia e Ingá) apresentam maiores taxas desses compostos.

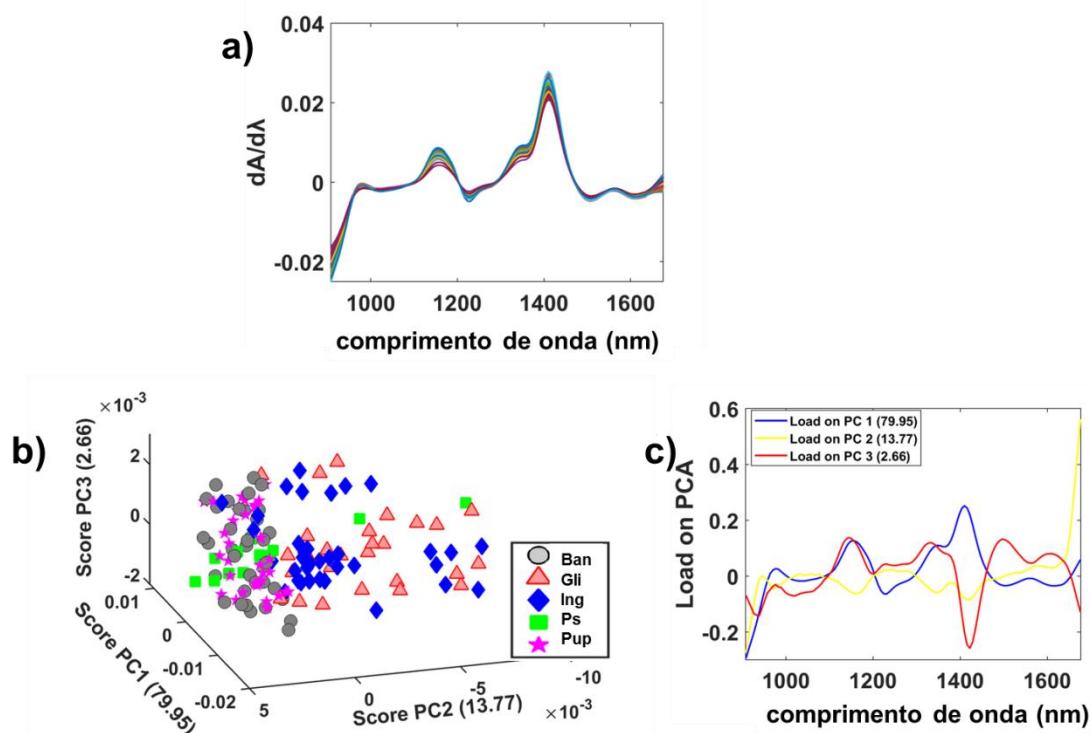


Figura 19. a) Espectros MicroNIR após a aplicação da primeira derivada, b) Gráfico de pontuação e c) Gráfico dos loadings do modelo PCA para o café Robusta em grão moído em função dos diferentes SAF (adaptado de CORREIA, ANDRADE, TOSATO *et al.*, 2020).

TUMWEBAZE e BYAKAGABA (2016) comprovaram que o café Robusta proveniente de SAF promove maior sequestro de carbono no solo. As diferentes espécies utilizadas para sombreamento do café podem influenciar a composição química dos grãos de café de uma maneira que não é possível sob o cultivo de luz solar direta. A partir dos resultados do ESI(-) e microNIR, é possível correlacionar a composição dos cafés com os scores da análise sensorial. A caracterização química realizada pelas duas técnicas mostra a predominância de ácidos graxos, ácidos clorogênicos, açúcares, trigonelina e cafeína. Os cafés cultivados com Gliricídia pontuaram mais na degustação da xícara. No espectro ESI(-) (**Figura 15b**), a região de m/z 250-370 tem íons com IR mais alto do que as outras cultivares. Esta região é caracterizada pelos ácidos esteárico, palmítico, linoléico e oleico, entre outros ácidos graxos, bem como pela presença dos principais ácidos clorogênicos, a saber, cafeoilquínico e feruloilquínico, conforme descrito nas **Anexo A e B**, por ESI(-) e ESI(+), respectivamente. Embora não esteja claro quais compostos são responsáveis pela acidez percebida, sabe-se que cítrico, málico e as espécies de ácidos mais abundantes

nos grãos de café podem ser responsáveis por essa característica organoléptica (BALZER, 2001).

Os resultados do presente estudo indicam uma nova abordagem para classificar e discriminar grupos químicos, por meio de análises por microNIR, para o cultivo de café Robusta em diferentes sistemas agrícolas. SANTOS, LOPO, RANGEL *et al.* (2016) demonstraram a adequação do NIR para identificar importantes propriedades químicas do café. As regiões entre 1400-1600 nm representam açúcares, cafeína, sacarose e ácidos clorogênicos (RIBEIRO, FERREIRA, SALVA *et al.*, 2011). Essas regiões são essenciais para definir os atributos de amargor, sabor, limpeza e, principalmente, acidez, corpo e qualidade geral na análise sensorial. Alguns estudos citam que a relação entre qualidade e acidez enfatiza a presença de ácidos clorogênicos e melhora o sabor da bebida (CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016; GARRETT, SCHMIDT, PEREIRA *et al.* 2013a; LEMOS, PEREZ, DA CUNHA *et al.*, 2019; SALAMANCA-NETO, MARCHEFAVE, SCREMIN *et al.*, 2020).

Outra classe importante para a definição sensorial de amostras de café é o teor de açúcares como a sacarose. Os cafés com maiores pontuações no atributo amargor/doçura foram aqueles cultivados a pleno sol e, novamente com destaque, para a Gliricídia. ALVES, PESSOA, DE SOUZA *et al.* (2018) mostraram que há uma diferença entre a intensidade das bandas de absorção de FTIR de cafés Robusta cultivados a pleno sol e aqueles em combinação com plantas mais altas. A trigonelina também é citada como um componente vital para definir a doçura dos cafés, junto com os próprios açúcares (LEMOS, PEREZ, DA CUNHA *et al.*, 2019). Esta discussão justifica a predominância e importância desses compostos na construção dos modelos de PCA (**Figura 17, 18 e 19c**) para discriminar as amostras cultivadas nos diferentes SAF. Também é interessante destacar as pontuações da xícara limpa, já que cafés com notas baixas podem não resultar produtos finais de qualidade, pois afeta todos os outros atributos (RIBEIRO, FERREIRA, SALVA *et al.*, 2011).

3.4 CONCLUSÕES

Modelos de PCA construídos com espectros de ESI-FT-ICR MS e microNIR mostraram diferenças na composição entre os cafés Robusta cultivados em diferentes SAF. ESI(-)FT-ICR MS e microNIR provaram ser

excelentes ferramentas para o controle de qualidade de cafés cultivados em consórcio com outras cultivares.

É possível correlacionar seus resultados com os valores obtidos na análise sensorial de amostras de café em SAF com *Gliricidia sepium* e *Ingá edulis*, potencializando o valor dessas ferramentas analíticas.

Os compostos responsáveis relacionados aos resultados da análise sensorial foram principalmente os ácidos clorogênicos. Notavelmente, o ácido coriônico (íon de m/z 295, um metabólito do ácido linoléico) foi observado no espectro de massa ESI(-)FT-ICR, e este trabalho é o primeiro relato de sua presença em amostras de café.

4. CAPÍTULO 2

Espectroscopia de infravermelho próximo portátil aplicada ao controle de qualidade dos cafés brasileiros

O capítulo foi publicado na *Talanta* 176, 59–68, 2018

4.1 INTRODUÇÃO

A espectroscopia na região do infravermelho (IR) baseia-se no fato de que ligações químicas possuem frequências vibracionais específicas correspondentes a níveis de energia vibracional bem definidos que caracterizam cada ligação, e isso permite a identificação de grupos funcionais presentes nas moléculas (SILVERSTEIN, BASSLER, MORRILL, 1991). Em muitos casos, análises quantitativas são realizadas por esta técnica, considerando que o sinal de resposta obtido no espectro de IR está diretamente relacionado à concentração do analito na amostra (Lei de Beer) (CONCEIÇÃO, SOUZA, MERLO *et al.*, 2014; HOLLER, SKOOG, CROUCH *et al.*, 2009).

A NIR emprega energia em comprimentos de onda na faixa de 750–2500 nm e fornece informações espectrais chamadas de bandas de combinação e sobretons. Os sobretons são bandas com valores de frequência correspondentes a múltiplos inteiros dos modos normais de vibração, e as bandas de combinação são combinações lineares de frequências normais ou seus múltiplos inteiros (PASQUINI, 2003).

Além disso, as fontes de radiação para equipamentos NIR incluem principalmente lâmpadas de tungstênio que são combinadas com um filtro variável linear (LVF) usado como um elemento dispersivo.

O LVF é um dielétrico de película fina que confere ao equipamento uma alta relação sinal-ruído para medições NIR. Este fato compensa parcialmente as menores intensidades das bandas de absorção do NIR (PASQUINI, 2003; MARQUES, DE FREITAS, PIMENTEL *et al.*, 2016). Este sistema permite o desenvolvimento de instrumentos menores que são mais rápidos na aquisição de sinal.

Um micro espectrômetro portátil na região do infravermelho próximo (microNIR) é um novo instrumento que tem garantido a confiabilidade e a

velocidade das análises, sendo uma técnica analítica compacta, sensível e não destrutiva (PASQUINI, 2003).

MicroNIR, assim como outros espectrômetros, possuem a capacidade de caracterizar e quantificar várias análises simultaneamente. Suas vantagens incluem portabilidade, análise de baixo custo e pouca ou nenhuma preparação de amostra. Nas indústrias alimentícia (ECARNOT, BACZYK, TESSAROTTO *et al.*, 2013); (PÉREZ-MARÍN, PAZ, GUERRERO *et al.*, 2010) e farmacêutica (SUN, HSIUNG, PEDERSON *et al.*, 2016), assim como em outros setores, (PEDERSON, FRIEDRICH, HSIUNG *et al.*, 2014; PAIVA, ROHWEDDER, PASQUINI *et al.*, 2015) o microNIR pode detectar possíveis adulterantes, levando a um melhor controle de qualidade, reduzindo assim o tempo e o custo da análise.

A miniaturização dos acessórios (**Figura 20a**) oferecidos pelo microNIR é estimulada pela necessidade de utilização do equipamento em aplicações regulares, como segurança pública, segurança alimentar, monitoramento de controles de processo online e detecção de produtos falsificados (O'BRIEN, HULSE, FRIEDRICH *et al.*, 2012). A portabilidade torna-se promissora em análises de laboratório, e este equipamento pode ser levado a campo com apenas uma simples conexão a um laptop, tablet ou até mesmo um smartphone (FRIEDRICH, HULSE, VON GUNTEN *et al.*, 2014), ver **Figura 20b**.



Figura 20. (a) Acessórios do equipamento MicroNIR: (1) *collar*; (2) suporte do vial; (3) vial de 5 mL; e (4) *windowed collar*. A imagem do instrumento microNIR conectado a um *tablet* é mostrada na Figura 1b (adaptado de CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018).

Ao comparar as vantagens e desvantagens do NIR portátil, a principal desvantagem do instrumento está relacionada à curta janela de aquisição

espectral (de 1676 a 908 nm) enquanto suas vantagens estão principalmente relacionadas à análise em tempo real, sem redução do seu desempenho analítico (exatidão, precisão, sensibilidade, etc.), pode ser executado no campo de trabalho.

Estudos recentes demonstraram o potencial do microNIR em análises químicas. Em 2015, PAIVA, ROHWEDDER, PASQUINI *et al.*, quantificaram adulterantes em amostras de biodiesel adulteradas com óleos vegetais. Em 2016, ZUMBA e RODGERS, 2016 verificaram a habilidade do equipamento no controle de qualidade das fibras de algodão. PASQUINI (2003) demonstrou o potencial da técnica e sua aplicação nas ciências analíticas. DA SILVA, DA SILVA, PEREIRA (2016) compararam equipamentos NIR portáteis e de bancada para a quantificação de polimorfos de mebendazol em matérias-primas farmacêuticas. A conclusão deles mostrou que esses novos métodos proporcionam flexibilidade e facilidade no controle de qualidade dentro dos laboratórios farmacêuticos. Em 2017, NETO, DE ASSIS, CASAGRANDE *et al.*, avaliaram sete variedades de manga em função do estágio de maturação. No mesmo ano, o NIR portátil foi usado para avaliar os parâmetros nutricionais da carne suína (WANG, PENG, WANG *et al.*, 2017).

Com esse contexto, o instrumento NIR tornou-se uma técnica analítica de sucesso, e tem sido amplamente empregado no controle de qualidade de cafés, exibindo seu potencial como instrumento não portátil (EBRAHIMI-NAJAFABADI, LEARDI, OLIVERI *et al.*, 2012; CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016). No Brasil, o café se tornou um dos seis principais produtos de exportação do mundo (UNICAFÉ, 2016), junto com o minério de ferro, petróleo bruto, soja, carne e açúcar. Isso demonstra a importância da produção e do comércio do café no processo de estruturação das economias dos países produtores (UNICAFÉ, 2016).

As características essenciais (sabor, aroma e pureza) de cada tipo de café dependem principalmente do nível de torra. Este processo consiste em submeter o grão de café cru a um aumento progressivo de temperatura, reduzindo sua umidade interna para 3% em peso (THIEX, RICHARDSON, 2003; ISO, 2001; MENDONÇA, FRANCA, OLIVEIRA, 2007).

Durante o processo de torra, os grãos são homogeneizados continuamente para garantir uma torra uniforme. A temperatura e o tempo de

torra influenciam na qualidade final do produto desejado, que pode ser classificado em três tipos: claro, médio e escuro (MOURA, GERMER, ANJOS *et al.*, 2007).

A preferência por uma das classes depende de ambos: local e população de consumidores. Os americanos se identificam com a torrefação leve, que torna o café mais suave devido à ausência de produtos de sabor amargo que se formam durante o processo de torra mais longo. Já os brasileiros preferem cafés de torra mais escura, pois acentua o sabor e o aroma do produto (SCHMIDT, MIGLIORANZA, PRUDÊNCIO, 2008).

O processo de torra é fundamental para a característica final do café, pois o nível de torra evidencia e/ou oculta muitas propriedades dos grãos, bem como a presença de possíveis adulterantes (milho, cevada, cascas, paus etc.) (EBRAHIMI-NAJAFABADI, LEARDI, OLIVERI *et al.*, 2012; TAVARES, PEREIRA, NUNES *et al.*, 2012).

A detecção desses ingredientes, quando adicionados no mesmo nível de torra do café, é mascarada pela absorção do óleo e pela adesão das partículas mais finas do café moído e torrado às suas superfícies. Portanto, o processo de torra é fundamental na qualidade do café e, sem o auxílio de métodos analíticos adequados, a identificação de adulteração torna-se complexa (TAVARES, PEREIRA, NUNES *et al.*, 2012).

Em 2012, SANTOS, SARRAGUÇA, RANGEL *et al.* utilizaram a técnica NIR combinada com calibrações multivariadas para determinar a qualidade dos cafés Arábica e Robusta, discriminando os grãos defeituosos dos não defeituosos com valores de erro relativo de aproximadamente 5%. No mesmo ano, EBRAHIMI-NAJAFABADI, LEARDI, OLIVERI *et al.*, (2012) monitoraram a adição de cevada (2–20 wt%) como adulterante em amostras de café e aplicaram modelos de calibração multivariada para prever o conteúdo desse adulterante. Entre 2005 e 2013, o NIR também foi aplicado na determinação da composição química dos cafés. ZHANG, LI, YIN *et al.* (2013) e HUCK, GUGGENBICHLER, BONN (2005) identificaram cafeína, teobromina e teofilina, enquanto MORGANO, FARIA, FERRÃO *et al.* (2008) quantificou a umidade dos grãos de café crus. Além dessas aplicações, a previsão de uma variedade de amostras de café (entre as espécies Arábica e Robusta) (ESTEBAN-DIEZ, GONZÁLEZ-SÁIZ, SÁENZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2007) e a detecção de café Robusta em

misturas (PIZARRO, ESTEBAN-DÍEZ, GONZÁLEZ-SÁIZ, 2007a) foram concluídas com sucesso usando o NIR.

Também é comum o uso de outras técnicas analíticas para verificar o controle da qualidade do café (RIBEIRO, BORALLE, PEZZA *et al.*, 2017; SUHANDY, YULIA, 2017). BRESSANELLO, LIBERTO, CORDERO *et al.*, (2017) correlacionou a especificação sensorial com o perfil químico volátil usando CG-MS e PCA; DEFERNEZ, WREN, WATSON *et al.* (2017) usaram RMN para verificar a autenticidade entre os grãos torrados dos cafés Arábica e Robusta.

Esses métodos sempre requerem etapas de preparação de amostra, bem como o uso de padrões internos e/ou reagentes; resultando, assim, em análises com custos elevados.

MicroNIR é uma técnica simples e rápida, exigindo mínimo ou nenhum preparo de amostra. Quando combinado com ferramentas quimiométricas, pode quantificar simultaneamente múltiplos analitos, bem como controlar a qualidade do produto final, identificando possíveis não conformidades ou adulterantes.

Aqui, microNIR foi usado com sucesso para determinar a analisar cafés café arábica através da identificação e quantificação de adulterações com café robusta (em diferentes níveis de torra), bem como milho, cascas e paus, com uma combinação de calibração multivariada PLS e PCA. O modelo desenvolvido de PCA e PLS também foi aplicado para monitorar a qualidade de dezesseis amostras comerciais de café.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Blends de café Arábica foram preparados com a) cascas/paus, b) milho e c) café Robusta em três níveis de torra (claro, médio e escuro), com concentrações variando de 1 a 100 wt%.

Posteriormente, todas as amostras produzidas foram analisadas pela técnica microNIR. Os espectros obtidos foram interpretados por meio de ferramentas quimiométricas, como PCA e PLS, a fim de construir um modelo quimiométrico para classificar e prever, em wt%, os teores de café Robusta, e outros possíveis adulterantes (milho e cascas/paus) em 16 amostras comerciais.

4.2.1. AMOSTRAS

Os grãos de café selecionados foram das espécies de café arábica (*Coffea arabica*) e robusta (*Coffea canephora*) em função do grau de maturação cereja e a safra 2015, do Espírito Santo fornecida por uma cooperativa de produtores de café (Cooperativa Agrária dos Cafeicultores de Iúna - CACIL). Os grãos foram torrados aos níveis escuro (180°C/14 min), médio (180°C/10 min) e claro (180°C/7 min). Os grãos de milho e as cascas/paus foram torrados ao nível escuro (180°C/14 min), de forma a esconder a sua presença nas misturas. Todas as amostras foram posteriormente moídas.

Em seguida, o tamanho das partículas dos grãos foi determinado por meio de microscopia óptica (café 0,324 mm; milho 0,469 mm e cascas/paus 0,544 mm).

Dezesseis amostras comerciais (das marcas Native, Carnielli, 3 Corações, Meridiano, Praça 8, Grão da Roça, Número 1, Pioca, Melita, Cafuso Premium, Cafuso Tradicional, Nonno, Glória, Pilão, Vista Linda e Caboclo) foram adquiridos no mercado local (estado do Espírito Santo, Brasil) e nomeados aleatoriamente como amostras A – P.

Tamanho do grão

As análises foram realizadas em microscópio de luz polarizada, marca Nikon, modelo Eclipse LV100POL, com objetivas CFI LU Plan Fluor EPE P 5 × da LV100 e câmera digital DS-Fi1. Para calibração do sistema óptico, foi utilizada uma lâmina micrométrica, onde as fotomicrografias obtidas foram analisadas no software NIS-Elements D versão 3.2.

4.2.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os *blends* para análise de microNIR foram feitas com 200 g. de café arábica adulterado com 13 concentrações de milho e cascas/paus (0, 1, 2, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 wt%) e 11 diferentes concentrações de café Robusta (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 wt%), em diferentes níveis de torra: claro, médio e escuro. Todas as medidas no microNIR foram realizadas

três vezes, totalizando 26 *blends* com adulterantes (milho e cascas/paus) e 99 *blends* com diferentes níveis de torra. Anteriormente, todas as amostras foram moídas em almofariz de ágata para homogeneização. Um procedimento análogo foi realizado para as amostras comerciais.

4.2.3 INSTRUMENTAÇÃO

MicroNIR

A análise microNIR foi realizada usando o MicroNIR miniatura Pro1700 da Viavi Solutions Inc. (anteriormente JDSU Corporation, Santa Rosa, CA) e software 2.1 da Viavi Solutions Inc. Os espectros microNIR foram adquiridos na faixa de 1676 a 908 nm, com 400 varreduras, tempo de integração de 14,1 ms, 125 pontos por varredura e aumento de 6,20 nm de um ponto a outro, totalizando um tempo de medição de aproximadamente 5,6 s.

Como fonte de radiação, duas lâmpadas de tungstênio ($\varnothing$ 4 mm) foram conectadas a um filtro linear variável (LVF), utilizado como elemento dispersivo. O revestimento do filtro LVF é intencionalmente posicionado em uma direção e, como resultado da variação da espessura do filme, o comprimento de onda transmitido pelo filtro muda linearmente ao longo dessa direção (O'BRIEN, HULSE, FRIEDRICH *et al.*, 2012).

4.2.4 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

Os espectros microNIR foram inicialmente pré-processados usando a primeira derivada de acordo com o algoritmo de Savitzky – Golay (SAVITZKY e GOLAY, 1964) aplicando um polinômio de segunda ordem a uma janela de 7 pontos. Após a construção dos modelos multivariados para quantificação do café Robusta em *blends* de café arábica, milho e cascas/paus, espectros microNIR de 16 amostras comerciais de café, obtidas no mercado local, foram aplicados aos modelos para verificação de conformidade.

Análise de componente principal (PCA)

Os espectros das amostras foram divididos em dois grupos: o conjunto de treinamento, utilizado para construir o modelo PCA, e o conjunto de teste, no qual os modelos foram posteriormente aplicados.

O conjunto de treinamento compreendeu espectros de 11 amostras de *blends* de café arábica e robusta e 13 amostras de blends de café Arábica e cascas/paus e café Arábica e milho. A última corresponde às misturas binárias entre o café arábica e os adulterantes, nas seguintes concentrações: 0, 1, 2, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 E 100 WT%. TODAS AS MISTURAS FORAM MEDIDAS três vezes, totalizando 375 espectros. O modelo PCA foi então construído usando o conjunto de dados pré-processado e aplicado separadamente em ambos os conjuntos.

Regressão por mínimos quadrados parciais - PLS

O conjunto de dados com 11 diferentes níveis de adulterações (wt%) dos *blends* de cafés Arábica e Robusta com distintas torras (leve, média e escura); 13 *blends* com níveis (wt%) de café arábica e cascas/paus; e mais 13 níveis (wt%) com *blends* de café arábica e milho, cada um medido três vezes, totalizando 125 amostras, foram analisados por microNIR. O algoritmo de validação *double cross validation* foi aplicado ao conjunto de amostra (SNEE, 1977). A capacidade preditiva do modelo obtido foi avaliada pelo padrão da American Society for Testing and Materials (ASTM INTERNATIONAL, 2012). A correção da variação da linha de base nos espectros microNIR foi realizada aplicando a primeira derivada com suavização de Savitzky-Golay (polinômio de segunda ordem e janela de 7 pontos (SAVITZKY e GOLAY, 1964).

O número ótimo de variáveis latentes foi determinado pela raiz quadrada do erro quadrático médio da validação cruzada (RMSECV) (SOUZA, FILGUEIRAS, COELHO *et al.*, 2016). Da mesma forma, a precisão dos modelos foi avaliada pela capacidade de prever amostras de um conjunto externo. Essas estatísticas foram avaliadas usando o parâmetro RMSEP, **Equação 5**. O uso do RMSEP é recomendado, pois produz resultados mais realistas e independentes de quaisquer dados utilizados na construção do modelo e otimização de sua dimensão (SOUZA, FILGUEIRAS, COELHO *et al.*, 2016).

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{np} \sum_{i=1}^{np} (y_i - \hat{y}_i)^2} \quad (5)$$

onde n_p é o número de previsão das amostras e y_i and $\hat{y}_i$ são os valores de referência e previsão do adulterante (teor de café Conilon, milho e cascas/paus).

Na construção do modelo PLS, coeficiente de determinação (R^2), desvio padrão relativo (DPR), limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram definidos de acordo com PORTELA, OLIVEIRA, NETO *et al.* (2016) e SOUZA, FILGUEIRAS, COELHO *et al.* (2016). Todos os cálculos foram realizados no software MATLAB 7.0 (R2013a).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

MicroNIR

Os espectros de microNIR para as amostras de café 100% arábica, milho e cascas/paus exibem bandas de absorção nas regiões de 900–1000 nm, 1100–1200 nm e 1400–1500 nm, correspondendo ao terceiro, segundo e primeiro sobretons, respectivamente, veja a **Figura 21a**.

A banda na região de 900-1000 nm, que corresponde ao terceiro sobretom dos grupos CH, CH₂ e CH₃, é mais abundante e definida nas amostras puras de cascas/paus e café arábica em comparação com a amostra de milho.

Compostos fenólicos, como os ácidos ferúlico e cumárico, estão presentes em maiores quantidades nos grãos de café crus e, portanto, a maior intensidade dessa banda pode ser atribuída às ligações CH dessas substâncias. Porém, após a torra, esses compostos podem se ligar às paredes celulares do milho, que são compostas por amido, e sofrer maior degradação na torra (LOPEZ-MARTINEZ, OLIART-ROS, VALERIO-ALFARO *et al.*, 2009).

Em contraste, a região de 1100-1200 nm, que representa o segundo sobretom do grupo funcional CH, é bem definida para café arábica puro e amostras de milho do que para as amostras de cascas/paus, consulte a **Figura 21a**.

Finalmente, a banda na região de 1400-1500 nm refere-se ao primeiro sobretom do grupo funcional OH (WORKMAN e WEYER, 2008; KASEMSUMRAN, THANAPASE, KIATSOONTHON *et al.*, 2007) de ácidos clorogênicos, água, álcoois e especialmente carboidratos presentes nas amostras de milho e café arábica (BARBIN, FELICIO, SUN *et al.*, 2014; ALESSANDRINI, ROMANI, PINNAVAIA *et al.*, 2008).

Em geral, o espectro microNIR de cascas/paus (**Figura 21a**) não tem uma banda nítida em todas as regiões microNIR. Este fato pode ser atribuído às reações de pirólise ocorridas durante o processo de torra. A casca é um filme fino e, portanto, a torra ocorre em um grau muito intenso, favorecendo a carbonização da casca e de seus componentes (TAVARES, PEREIRA, NUNES *et al.*, 2012).

A variação da linha de base dos espectros de microNIR foi corrigida usando a primeira derivada com o algoritmo de Savitzky – Golay (SAVITZKY e GOLAY, 1964), como pode ser visto na **Figura 21b-c**, que mostra os espectros de microNIR para misturas de café arábica e cascas/paus (**21b**) e café arábica e milho (**21c**). As regiões de 1400–1500 e 900–1000 nm contribuem principalmente para as diferenças entre o café arábica e os *blends* de cascas/paus em comparação com o café arábica e os *blends* de milho, respectivamente.

Em contraste, a região de 1100-1200 nm contribui, em menor relevância, destacando as diferenças entre os dois adulterantes. Um ligeiro aumento na absorbância também pode ser notado na região de cerca de 1550 nm para ambas os *blends*, o que pode estar relacionado à presença de carboidratos (ESTEBAN-DIEZ, GONZÁLEZ-SÁIZ, PIZARRO *et al.*, 2004)

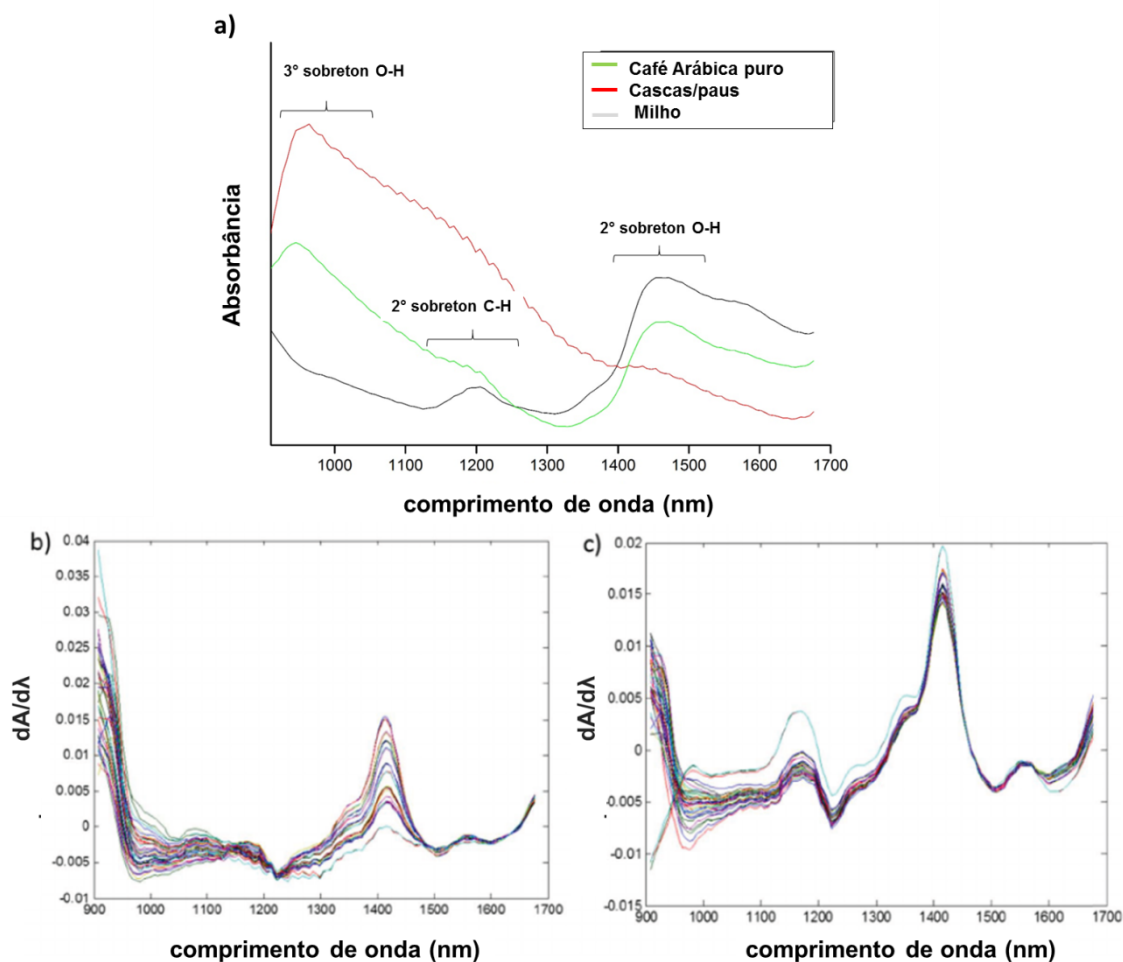


Figura 21. Espectros MicroNIR de (a) amostras puras de café arábica, cascas/paus e milho; e a primeira derivada dos espectros microNIR de misturas de (b) café arábica e cascas/paus e c) café arábica e de milho (adaptado de CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018).

Os espectros microNIR de cafés arábica e robusta puros em diferentes níveis de torra são mostrados nas **Figura 22a-b**, respectivamente. Regiões superiores a 1300 nm (1400–1600 nm, por exemplo) podem ajudar a distinguir as amostras de café em função dos níveis de torra, onde sua intensidade diminui dependendo da torra (claro-escuro).

Fica evidente que a intensidade das bandas na região do microNIR é maior para amostras de café torrado nível claro. Isso pode ser atribuído ao fato de que este nível de torra não causa degradação adicional de compostos fenólicos ou reações de caramelização (MANZOCCO, CALLIGARIS, MASTROCOLA *et al.*, 2000; NASCIMENTO, AQUINO, NASCIMENTO *et al.*, 2007). Ao contrário da torrefação leve, as amostras de café torrado médio e escuro mostram notavelmente uma banda de absorção na região de 900-1000

nm. Isso pode estar relacionado à formação de novos compostos a partir de reações de Maillard e caramelização em altas temperaturas (FRANCA, MENDONÇA, OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Uma comparação dos espectros microNIR originais entre os cafés arábica e robusta (**Figura 22a-b**) mostra que, para torrefação escura, o café arábica tem bandas relativamente mais intensas (1200 e 1450 nm) em comparação com o café robusta. A interação entre o nível de torra e as espécies de café pode variar muito devido à presença de compostos que possuem mecanismos de degradação e cinética específicos TRUGO e MACRAE, 1984; FARAH, DE PAULIS, TRUGO *et al.*, 2005).

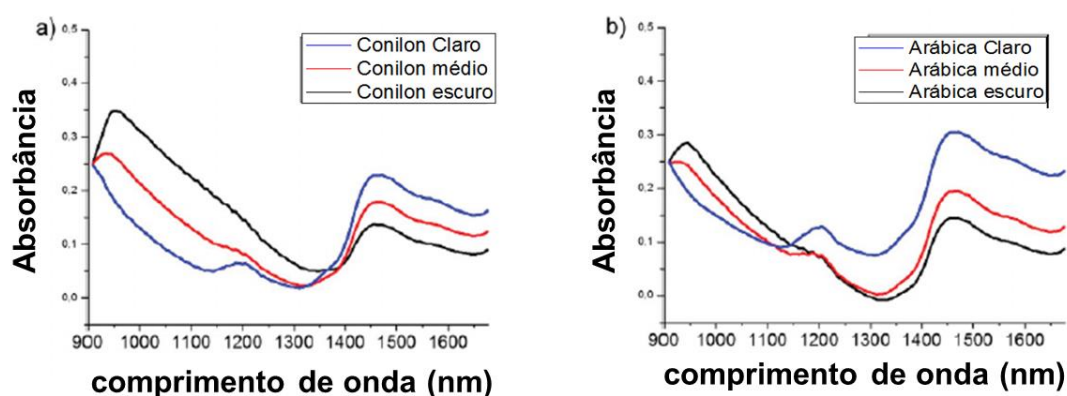


Figura 22. Espectros microNIR (sem pré-processamento) de amostras de (a) café Robusta puro e (b) café Arábica em função dos níveis de torra (claro, médio e escuro) (adaptado de CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018).

CONTROLE DE QUALIDADE

Modelos quimiométricos foram construídos com o objetivo de classificar e quantificar os *blends* formados entre o café arábica e milho, cascas/paus e o café Conilon (em diferentes níveis de torra). Os modelos foram construídos com PCA e PLS, que são amplamente utilizados em química analítica (SOUZA, RODRIGUES, SANTOS *et al.*, 2016).

Adulterantes - cascas/paus e milho

Análise de componente principal (PCA)

Para a identificação do adulterante, um modelo PCA foi construído com os *blends* de café arábica e cascas/paus, **Figura 23**, e café arábica e milho, **Figura 24**. Para *blends* de café arábica e cascas/paus, foram usados as duas primeiras componentes principais, conforme mostrado na **Figura 23a-b**.

O gráfico dos scores PC1 x PC2 para as *blends* de café arábica e cascas/paus mostra uma tendência de aumento do teor de adulterante na direção positiva de PC1, ou seja, $PC1 > 0$.

O café arábica com 100 wt% de pureza é encontrado no quadrante negativo de PC1, ou seja, $PC1 < 0$, (**Figura 23a**). Portanto, conforme o teor de adulterante na mistura aumenta, as amostras são posicionadas na direção do quadrante positivo de PC1, ou seja, $PC1 > 0$.

É importante notar que mesmo as amostras de *blends* com baixos níveis de cascas/paus foram eficientemente identificados, e os resultados concordam com o limite para quantidade máxima de impurezas no café estabelecido pela legislação brasileira (MAPA, 2016).

Em geral, as amostras com teor de cascas/paus superior a 20 wt% estão na região de $PC1 > 0$. De acordo com o gráfico dos *loadings* (**Figura 23b**), as regiões do espectro microNIR responsáveis pela variação nos dados estão localizadas a região de 1400-1500 nm para PC1 e 900-1000 nm para PC2. Portanto, os dois PCs juntos esclarecem a variância de 98% presente nos dados e são fundamentais para a determinação desse adulterante.

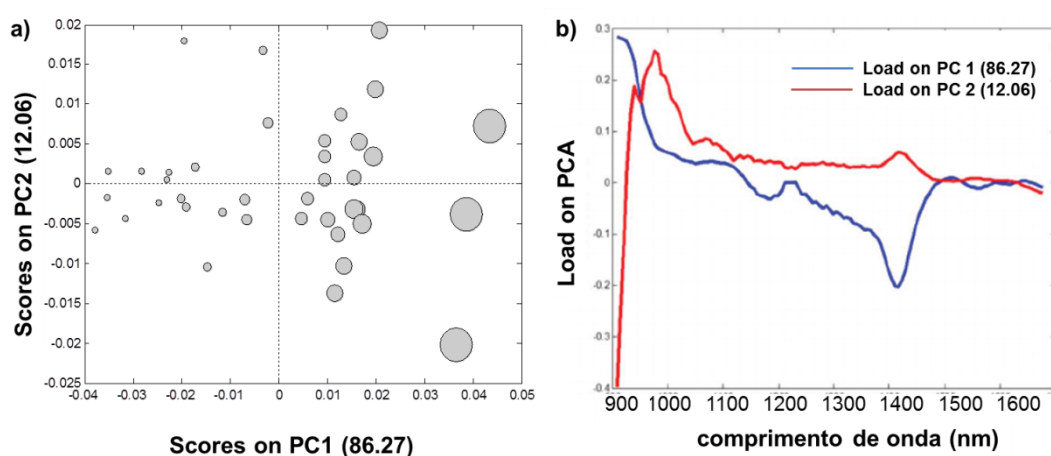


Figura 23. Gráficos de (a) scores e (b) loadings para as amostras de café Arábica adulteradas com diferentes níveis de cascas/paus. O tamanho do marcador é proporcional ao teor de adulterante nas amostras (adaptado de CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018).

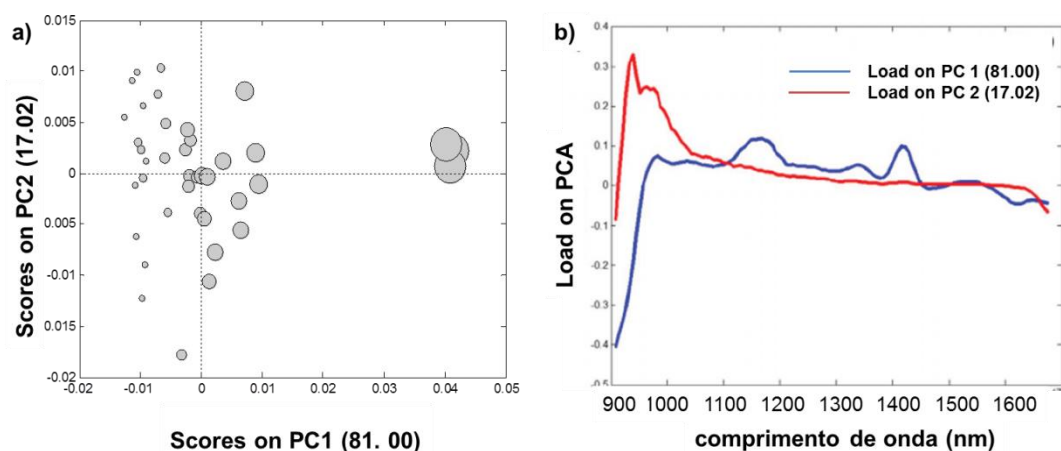


Figura 24. Gráficos de (a) scores e (b) loadings para as amostras de café Arábica adulteradas com diferentes níveis de milho. O tamanho do marcador é proporcional ao teor de adulterante nas amostras (adaptado de CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018).

Regressão de mínimos quadrados parciais – PLS

O modelo de calibração multivariado PLS foi construído para quantificar o conteúdo de cascas/paus e adulterantes de milho em *blends* de café arábica. O primeiro modelo construído, para *blends* de café arábica contendo cascas/paus, tem um número ótimo de 5 variáveis latentes e RMSEP e R² de 11,4 wt% e 0,8589, respectivamente, **Figura 25a**.

No entanto, melhores valores foram obtidos para o segundo modelo, contendo milho como adulterante, onde os valores de RMSEP = 4,0 wt% e R² = 0,9788 foram obtidos, **Figura 25b**.

Em geral, esses parâmetros indicam uma boa sensibilidade do método para detectar o teor de adulterante no café arábica. A diferença nos valores de RMSEP entre os *blends* de café arábica contendo cascas/paus e milho pode ser explicada pelo perfil químico do espectro microNIR obtido para cascas/paus puros, que possui bandas agudas menos intensas e não definidas, tornando sua quantificação/identificação no *blend* uma tarefa difícil. SÁNCHEZ, HABA, GUERRERO *et al.*, (2011) usaram um instrumento NIR portátil e encontraram RMSEP de 27 wt% em modelos quimiométricos para predição dos principais parâmetros de qualidade das nectarinas, incluindo tamanho (peso e diâmetro), firmeza da polpa e teor de sólidos solúveis totais (SST) em várias colheitas e

práticas culturais. O modelo PLS construído (ASTM International, 2012) permite estimar LD e LQ igual a 2,6 e 1,6 wt% e 8,7 e 5,2 wt% para as *blends* de café arábica contendo cascas/paus e milho, respectivamente.

Esses resultados demonstraram a capacidade do método na detecção e quantificação de baixas concentrações de adulterantes. Os valores de DPR das misturas contendo cascas/paus e milho foram 104,7 wt%. Esse resultado ruim é inerente ao conjunto de dados estudado, no qual, é composto por um sistema heterogêneo causado por alto percentual de adulterantes (milho e cascas/paus), em decorrência da ampla faixa de concentração (de 0 a 100 wt%) usado na construção do modelo PLS.

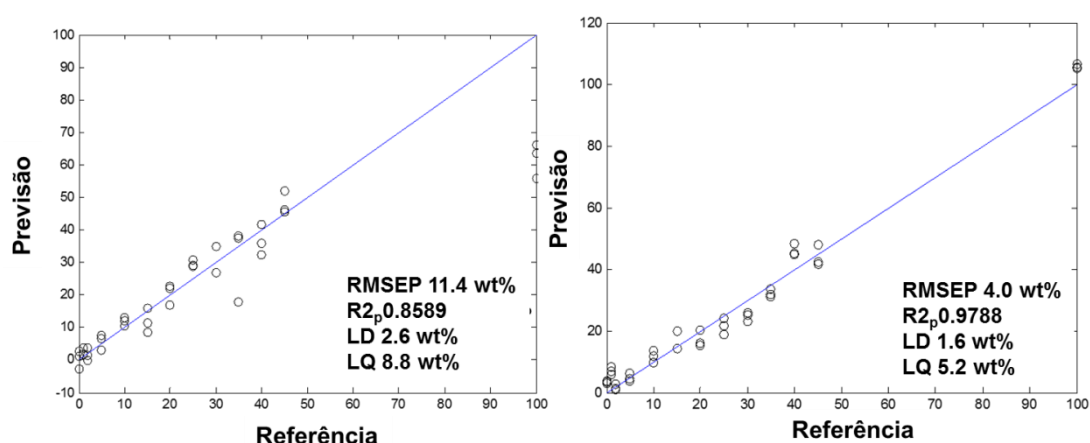


Figura 25. Relação entre os valores previstos e de referência (em wt%) para os teores de (a) cascas/paus e (b) milho nas amostras de café arábica do modelo PLS construído (adaptado de CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018).

Os gráficos dos coeficientes de regressão do modelo PLS, no **anexo C**, mostram as regiões microNIR mais relevantes para a previsão de adulterantes, que estão localizadas em 900-1000 nm e 1400-1500 nm. Entre eles, a primeira região (900-1000 nm) é usada principalmente para determinações quantitativas devido à presença dos grupos CH, CH₂ e CH₃ (WORKMAN e WEYER, 2008).

Torras de café

O aumento no consumo de bebidas de café nos últimos anos tem estimulado uma melhoria na qualidade dos produtos de café. No entanto, as características físicas do café podem favorecer a adulteração de ingredientes

fisicamente semelhantes após a produção do café. Portanto, a etapa de torrefação e moagem pode ser usada para falsificar o produto.

Neste trabalho, foram encontrados *blends* de café arábica e café Conilon, em diferentes níveis de torra. Os *blends* compreendem cafés Arábica e Conilon em diferentes graus de torra, e são denominados claro (AC e CC), médio (AM e CM) e escuro (AE e CE), onde C, M e E significam claro, médio e escuro, respectivamente, e A e R correspondente aos cafés Árabica e Conilon, respectivamente.

A concentração variou de 0 a 100 wt%, totalizando 99 *blends*, devido a ocorrência em triplicata. Os espectros microNIR são mostrados no **anexo D**, após a aplicação da primeira derivada. Observe que, em todos os casos, uma ordem de magnitude das bandas segue como: 1400–1500 nm > 1100–1200 nm > 1550 nm. A última faixa é caracterizada como carboidratos (ESTEBAN-DÍEZ, GONZÁLEZ-SÁIZ, SÁENZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2007). Entre as três regiões, aquela em 1100–1200 nm apresenta a maior variação nos dados.

Análise de componentes principais - PCA.

Duas PCs foram usados para mostrar os resultados da PCA, **Figura 26**. O modelo é considerado qualitativo e pode ser usado como uma ferramenta analítica no controle de qualidade dos níveis de torrefação. A análise dos gráficos dos *scores* revela que cinco dos nove *blends* binários de café Arábica e café Robusta apresentam tendência de agrupamento em função do aumento da concentração de café Robusta da região de $PC1 < 0$ para $PC1 > 0$.

As cinco amostras de *blends* são AC + CC, AC + CM, AM + CE, AE + CC e AE + CE. Um comportamento oposto foi observado para as amostras de *blends* AC + CE, AM + CC e AM + CM, onde é evidenciado um agrupamento no quadrante positivo para o negativo de PC1 em função da concentração de Conilon. Em contraste, as amostras do *blend* AE + CM foram diferenciadas em função do teor de adulterante (café Conilon) na região de PC2 ($PC2 < 0$ indica uma concentração inferior de café Conilon, <40 wt%).

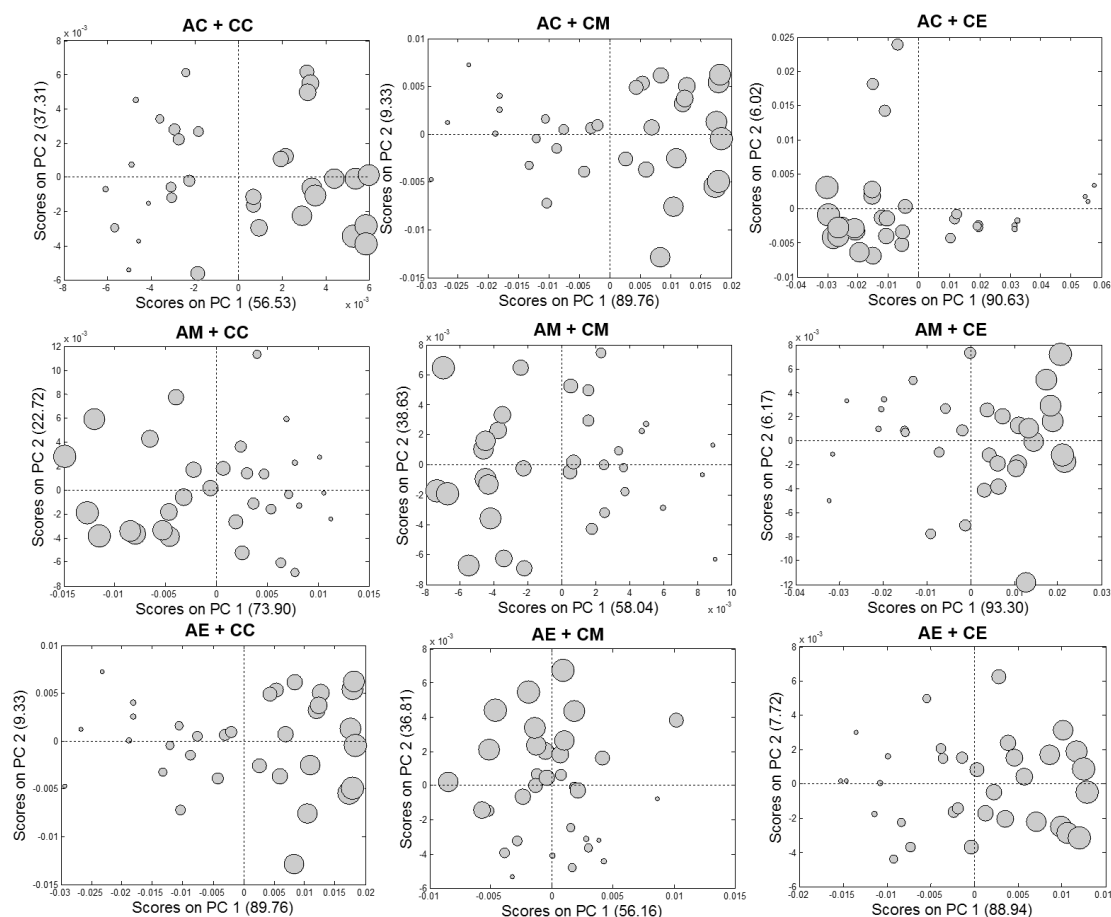


Figura 26. Gráficos dos *scores* dos modelos PCA para os blends de cafés Arábica e Conilon em função de três níveis de torra diferentes (claro, médio e escuro) (adaptado de CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018).

Regressão por mínimos quadrados parciais - PLS.

A **Tabela 8** demonstra alguns parâmetros estatísticos de desempenho (RMSEP, R², DPR, LD e LQ) adquiridos na construção dos modelos PLS para cada conjunto de amostras. Esses excelentes resultados indicam a eficiência do modelo construído a partir de dados microNIR, demonstrando sua capacidade de predição para *blends* de café.

A amostra AC + CC resultou nos melhores valores de RMSEP (2,8 wt%). Segundo RUBAYIZA e MEURENS (2005) e OLIVEIRA (2000), os principais fatores químicos responsáveis pela separação de classes dos cafés Arábica e Conilon são os diferentes teores de cafeína e lipídios presentes nos grãos.

Outros têm caracterizado ácidos e/ou açúcares como os fatores determinantes na distinção de espécies (MOURA, GERMER, ANJOS *et al.*, 2007; ESTEBAN-DIEZ, GONZÁLEZ-SÁIZ, SÁENZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2007).

Excelentes resultados de RMSEP foram obtidos para todas as *blends*, com no máximo 6,6 wt% para a amostra AM + CM, **Tabela 8**.

Os valores de R² também foram superiores a 0,9567, demonstrando a capacidade do modelo PLS em obter resultados lineares proporcionais ao teor de café Conilon. Assim, os parâmetros estatísticos de LD e LQ tiveram ótimos resultados para todos os *blends*, exceto para a amostra AE + CE.

A temperatura afeta o teor de compostos presentes nas amostras de café por sua formação ou degradação, dificultando a quantificação do café Robusta torrado em altas temperaturas. Nessa condição, essas espécies tornam-se semelhantes e, assim, facilitam a adulteração. PEDERSON, FRIEDRICH, HSIUNG *et al.*, (2014) encontraram valores de LD próximos a 15 wt% para identificação e classificação de substâncias controladas (cocaína, heroína, diazepam, etc.) em matrizes complexas (drogas de rua) usando a técnica NIR portátil. Aqui, todos os valores LD foram inferiores a 6,0 wt%. O valor DPR para misturas com diferentes níveis de torra foi de 64,23 wt%.

Tabela 8. Valores de RMSEP, R², LD e LQ, obtidos através da construção do modelo PLS.

Amostra	RMSEP (wt%)	R ²	LD (wt%)	LQ (wt%)	DPR (wt%)
AC + CC	2.8	0.9925	2.2	7.3	
AC + CM	5.6	0.9700	1.0	3.2	
AC + CE	4.9	0.9759	1.4	4.5	
AM + CC	4.3	0.9818	2.0	6.7	
AM + CM	6.6	0.9567	2.6	8.6	64.23
AM + CE	4.7	0.9813	1.4	4.6	
AE + CC	5.6	0.9700	1.0	3.2	
AE + CM	4.3	0.9841	2.5	8.2	
AE + CE	5.2	0.9732	5.5	18.4	

AC= Arábica Clara, **AM**=Arábica Média, **AE**=Arábica Escura, **CC**=Conilon Clara, **CM**=Conilon Escura e **CE**=Conilon Escura.

Em geral, entre todos os modelos PLS construídos, o *blend* de café Arábica e cascas/paus apresentou valor de RMSEP superior aos demais (*blends* de café Arábica com milho e café Conilon com diferentes níveis de torra).

TAVARES, PEREIRA, NUNES *et al.* (2012) explicaram que os resultados são atribuídos à maior similaridade entre as amostras, dificultando sua separação. As cascas são provenientes dos grãos de café e, portanto, sua composição química é semelhante à do café puro com alto teor de carboidratos, mas com menor teor de taninos e cafeína.

O selo de pureza da ABIC (Associação Brasileira da Indústria do Café) foi criado em 1987, quando uma pesquisa constatou que para o consumidor brasileiro "todos os cafés são iguais", "a maioria são *blends*", e que "o melhor produto é exportado" (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tencologia –INMETRO). Portanto, para melhor avaliar a capacidade dos modelos de classificar e estimar a concentração de adulterantes presentes no café arábica, foi construído um novo modelo de PCA, incluindo as variações citadas anteriormente. Agora, o modelo único compreende todas as amostras contendo os *blends* de café arábica, cascas/paus e milho, resultando em um modelo mais robusto.

Amostras comerciais

A **anexo E** mostra os espectros de microNIR após a correção da linha de base para as amostras contendo café Arábica adulterado com cascas/paus e milho. PC1 e PC2 explicam um total de 97% da variância do conjunto de amostra (**Figura 27a**). O modelo apresentou uma boa separação para os adulterantes, onde $PC1 < 0$ separa os *blends* de café arábica contendo cascas/ paus e $PC1 > 0$ contém as amostras com milho, conforme **Figura 27a**.

A partir do gráfico dos *loadings* (**anexo F**) de PC1, a região microNIR de maior influência nas amostras pode ser definida como sendo a região em 1400-1500 nm. Esse resultado pode ser correlacionado à diferença de concentração de ácidos, álcoois e principalmente carboidratos, entre outros compostos característicos que possuem ligação O-H nas amostras de café, milho e cascas/paus. Em contraste, PC2 é definido, principalmente, pela região em torno de 900-1000 nm (**anexo F**, onde a região $PC2 > 0$ contém o maior teor de milho de > 70 wt%), **Figura 27a**. A similaridade na concentração de carboidratos entre as amostras de café e milho devido à presença de glicose (e seus isômeros) e amido em ambas, confirmou que a área de 1400-1500 nm (PC1) não foi predominante na distinção do teor de milho nas amostras. Portanto, o aumento

do teor de milho nas misturas também é influenciado pelos *loadings* presentes na região de PC2.

Para avaliar a capacidade do modelo PCA no controle de qualidade de amostras de café comerciais, as amostras de teste de 16 marcas diferentes também foram analisadas pela técnica de microNIR, e o gráfico dos scores PC1 × PC2 é mostrado na **Figura 27b**. Observe que, na maioria dos casos, as amostras estão distribuídas na região de menor teor de adulterantes, que corresponde ao centro do eixo do gráfico dos scores, que é PC1=0. Esse resultado confirma as informações contidas em seus rótulos, que indicam amostras com 100% de café arábica.

Dentre todas as amostras, a amostra P, que é representada pelo símbolo (□), destaca-se por estar localizada na extremidade do quadrante de PC1 <0. Esse resultado indica uma possível contaminação com o adulterante de milho. A adulteração do café com cereais é uma prática comum no Brasil, sendo o milho considerado o adulterante mais utilizado, provavelmente devido ao seu baixo custo (JHAM, WINKLER, BERHOW *et al.*, 2007). O rótulo da embalagem da amostra P indica um forte nível de torra escura, comprovando a influência da temperatura na adição de adulterantes. Os adulterantes são mascarados pela absorção do óleo e adesão de partículas mais finas do café torrado e moído à sua superfície, dificultando seu reconhecimento sem o auxílio de métodos analíticos ASSAD, SANO, DA CUNHA *et al.*, 2002). Em contrapartida, a amostra A (Δ) indica maior predominância de adulteração com cascas/paus. O rótulo da embalagem indica também uma pureza de 100% do café com um forte nível de torra escura.

Para verificar a precisão dos modelos quimiométricos construídos, os teores de cascas/paus (**Anexo G**) e milho (**Anexo H**) foram avaliados em 16 amostras comerciais (denominadas amostras A – P). Os valores obtidos nos modelos PLS (**Anexo G e H**) confirmam os resultados do modelo PCA (**Figura 27**), verificando que há predominância de adulteração de milho em relação à de cascas/paus. Os valores de predição negativos do teor de cascas/paus são observados principalmente, exceto para a amostra I. Isso é atribuído à diferença no tamanho e textura do grão entre o modelo e as amostras comerciais. Este fator, portanto, influencia a variabilidade dos valores de predição do modelo PLS.

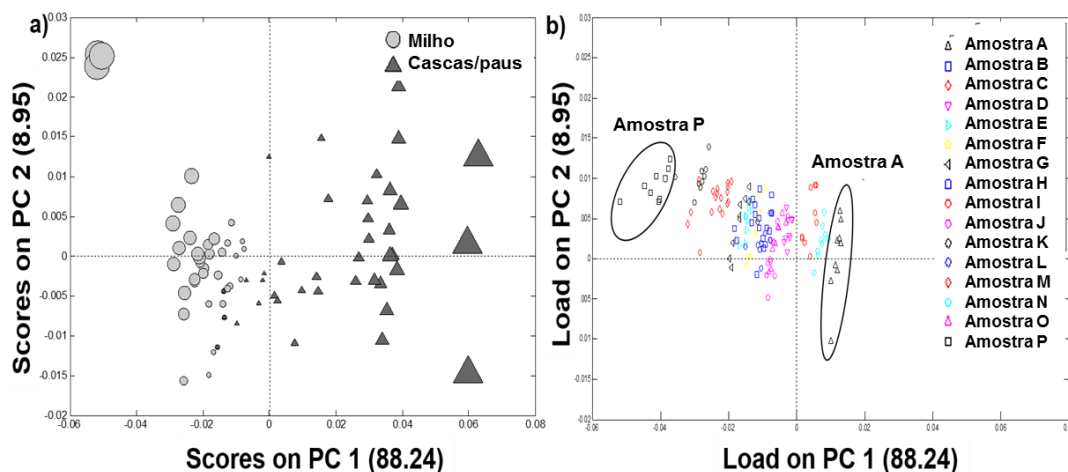


Figura 27. Gráficos dos scores para os blends de (a) café arábica/casca e paus e café arábica/milho e (b) 16 amostras comerciais (adaptado de CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018).

O método convencional para análise de café torrado e moído é a preparação de lâminas de microscópio e análise visual. As lâminas são preparadas com reagentes químicos, e a quantificação das impurezas baseia-se na comparação da porcentagem do extrato aquoso da amostra em análise com a do extrato aquoso de café puro (MENEZES, 1952). AMBONI FRANCISCO, TEIXEIRA *et al.* (1999) propuseram outro método para determinação de adulteração por microscopia eletrônica, que aumenta o contraste da imagem entre o contaminante e o café, facilitando a detecção de adulterantes. As técnicas padrão, quando comparadas ao microNIR portátil, apresentam algumas desvantagens, como a destruição das amostras por reagentes químicos, longo tempo e alto custo de análise e baixa precisão. Essas situações ocorrem, por exemplo, quando o café é misturado à soja. Além disso, por se tratar de uma análise microscópica, esse processo é um método subjetivo e, conseqüentemente, os resultados não são muito confiáveis, dependendo da experiência do analista. Outras técnicas analíticas também têm sido empregadas no controle de qualidade do café, como a espectrometria de massas com ionização por *eletrospray* (ESI-MS) e infravermelho na região do médio, MIR-FTIR. Nesse caso, os valores de mérito obtidos pela técnica microNIR (**Tabela 8 e Figura 27**) são semelhantes aos apresentados pelo MIR-FTIR (LD 1,3 wt%, LQ 4,3 wt% e R2 0,929) e ESI-MS (LD 0,2 wt%, LQ 0,3 wt% e R2 0,976)

(CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016) para detecção de adulteração usando café Robusta e milho.

4.4 CONCLUSÕES

A técnica microNIR associada à quimiometria é eficaz na identificação de adulterantes (milho e cascas/paus) e na distinção do nível de torra (claro, médio e escuro) entre os cafés Arábica e Robusta.

Os resultados obtidos com o microNIR comprovaram a capacidade do método ser eficiente e capaz de identificar adulterações em níveis mínimos, contribuindo no controle de qualidade de amostras comerciais de café. Portanto, microNIR é um método promissor para aplicações rotineiras envolvendo a detecção e/ou controle da qualidade de amostras de café. Reduz o tempo de análise, requer um mínimo de preparação da amostra e sua portabilidade garante eficiência na aquisição de dados em tempo real.

Outro desafio importante é o desenvolvimento de modelos matemáticos robustos e precisos baseados em amostras de café com composição altamente heterogênea para representar a grande variabilidade das adulterações. A alta diversidade da composição química das amostras de café demonstra a eficiência do microNIR na detecção de adulteração em matrizes complexas. Assim, uma técnica não destrutiva com equipamentos portáteis pode ser utilizada na indústria de alimentos, e em outros setores comerciais e jurídicos, auxiliando nas rotinas laboratoriais de controle de qualidade de alimentos.

5. CAPÍTULO 3

Identificação de adulteração de cafés com borra da extração usando microNIR

5.1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, portanto, existe ampla susceptibilidade de adulteração intencional (WANG, LIM, FU, 2019). Para o preparo da bebida é realizada uma extração sólido-líquido, que resulta na produção de um subproduto sólido, conhecido como borra do café (ANGELONI, GUERRINI, MASELLA *et al.*, 2019). Há uma grande quantidade de geração de borra no preparo industrial e domiciliar, sendo estimado a geração anual de 6 milhões de toneladas desse resíduo em todo mundo (SILVA, NEBRA, SILVA *et al.*, 1998). A borra é composta por alta umidade e matéria orgânica e já é comumente aproveitada como biocombustível (BISPO, BARROS, TOMASINI *et al.*, 2016; PRIMAZ, SCHENA, LAZZARI *et al.*, 2018; ROCHA, DE MATOS, DE LIMA, *et al.*, 2014), ração para animais (GIVENS e BARBER, 1986), fertilizantes (CRUZ, MENDES, TORRINHA *et al.*, 2015; GOMES, PEREIRA, RAMALHOSA *et al.*, 2013; RIBEIRO, VICENTE, GOMES *et al.*, 2017), alimentos (BALLESTEROS, RAMIREZ, ORREGO *et al.*, 2017; MARTINÉZ-SAEZ, GARCÍA, PÉREZ *et al.*, 2017), biossorventes (SAFARIK, HORSKA, SVOBODOVA *et al.*, 2012; YEUNG, CHUNG, TSANG *et al.*, 2014), dentre outros (JANISSEN e HUYNH, 2018). No entanto, há ainda o uso indevido como adulterante em *blends* de café, visando obter lucro e reduzindo sua qualidade.

Segundo a legislação brasileira (Instrução Normativa 16/2010 - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - (MAPA)), são definidos como matéria estranha os detritos vegetais não oriundos do cafeeiro, grãos ou sementes de outras espécies, corantes, açúcar e borra de café solúvel ou de infusão, ou seja, os resíduos de cafés. Dentre os adulterantes mais usados encontram-se trigo (MILANI, ROSSINI, CATELANI *et al.*, 2020; SONG, JANG, DEBNAT *et al.*, 2018), cevada (EBRAHIMI-NAJAFABADI, LEARDI, OLIVERI *et al.*, 2012; SONG, JANG, DEBNAT *et al.*, 2018), arroz (MILANI, ROSSINI, CATELANI *et al.*, 2020), soja (ARRIETA, ARRIETA, MENDONZA *et al.*, 2019; MILANI, ROSSINI, CATELANI *et al.*, 2020), milho (ARRIETA, ARRIETA, MENDONZA *et al.*, 2019;

CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018; MILANI, ROSSINI, CATELANI *et al.*, 2020), cascas/paus (CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018; MILANI, ROSSINI, CATELANI *et al.*, 2020), e até cafés de variedades e regiões diferentes (NÚÑEZ, COLLADO, MARTÍNEZ *et al.*, 2020). Neste contexto, há poucos relatos de adulteração de café por borra (REIS, FRANCA, OLIVEIRA, 2016; REIS, FRANCA, OLIVEIRA, 2013; REIS, BOTELHO, FRANCA *et al.*, 2017). Logo, o desenvolvimento de um método se faz necessário desde que não existe método normatizado para a detecção do respectivo adulterante.

As práticas de adulterações em cafés são frequentes e diversificadas e há vasta variabilidade de técnicas relatadas, conforme citado anteriormente, para suprir a necessidade de identificação de adulterantes em cafés. Segundo a Associação Brasileira da Indústria do Café (ABIC), órgão de fiscalização deste setor, os recursos padrões são as análises visual de lâminas microscópicas e a técnica de reconhecimento de padrões de cores e recursos de fotografias e de processamento digital de imagem por computador. E mais recentemente o Sistema Analisador de Alimentos e Café (Ali-C) que tem como base um espectrômetro fotoacústico. Mas de acordo com a literatura outras metodologias vêm sendo empregadas a fim de contornar obstáculos como, por exemplo, a subjetividade das análises.

Reis *et al.* (2016) avaliaram o potencial do infravermelho com transformada de Fourier utilizando um sensor de refletância total atenuada (ATR-FTIR) para detectar adulteração de café arábica com milho, cevada, cascas e também a borra do café, sendo que em alguns *blends*, os compostos estavam presentes simultaneamente. Foram encontrados valores de erro médio de previsão (RMSEP) de 2,00-2,42 wt% e coeficiente de determinação de previsão (R^2_p) de 0,99 em modelo por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), sem e com eliminação de outliers. Milani *et al.* (2020) utilizaram a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para avaliar seis adulterantes diferentes: soja, milho, cevada, cascas de café, arroz e trigo em amostras de cafés arábica, processadas em duas torrefações distintas (média e escura). Os autores consideraram a técnica sensível e seletiva, ao construírem 12 curvas de calibração, sendo uma para cada adulterante com duas torras diferentes (média e escura), e encontrarem valores de limites de detecção (LD) abaixo de 0,86 wt%, para uma faixa de trabalho de 0-50 wt% de adulterante. Outras técnicas analíticas

empregadas na identificação de adulterantes em cafés são: *mass spectrometry* (MS), (ASSIS, PEREIRA, AMADOR *et al.*, 2019; GARRETT, VAZ, HOVELL *et al.*, 2012), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (DOMINGUES, PAULI, DE ABREU *et al.*, 2014; NÚÑEZ, COLLADO, MARTÍNEZ *et al.*, 2020; SONG, JANG, DEBNAT *et al.*, 2018), *capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry* (CE-MS/MS) (DANIEL, LOPES, DOS SANTOS *et al.*, 2018), *voltammetric electronic tongue* (RRIETA, ARRIETA, MENDONZA *et al.*, 2019), entre outros (CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018a; SEZER, APAYDIN, BILGE *et al.*, 2018).

O espectrômetro portátil na região do infravermelho próximo (microNIR), é um equipamento que possui diversas vantagens, destacando tempo de análise, versatilidade (disponibilidade de diversos acessórios para análises de diferentes estados físicos da amostra), baixo custo (técnica verde), portabilidade, seletividade e sensibilidade.³⁰⁻³² O microNIR tem sido aplicado, também, em análises de explosivos (RISOLUTI, GREGORI, SCHIAVONE *et al.*, 2018b), documentos (CORREIA, DOMINGOS, TOSATO *et al.*, 2018a), drogas (CORREIA, DOMINGOS, TOSATO *et al.*, 2018b; RISOLUTI, GULLIFA, BATTISTINI *et al.*, 2019; RISOLUTI, GULLIFA, BATTISTINI *et al.*, 2020) e alimentos. (BASRI, LAILI, TUHAIME *et al.*, 2018; BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.*, 2019; NEVES, POPPI, SIESLER *et al.*, 2019; SANTOS, TOSATO, CESCO NETTO *et al.*, 2020). Em análise de adulterantes de café, Correia *et al.*, (2018) identificaram a adição de cascas/paus e milho por microNIR e encontraram, através da construção do modelo PLS, limites de quantificação (LQ) e LD na faixa de 5-8 wt% e 1-3 wt%, respectivamente.

A versatilidade da técnica NIR portátil em diferentes aplicações é um indicativo de sua potencialidade, no entanto, devido à grande quantidade de dados gerados, se faz necessário o uso de análises multivariadas a fim de melhor interpretar as informações químicas adquiridas pelo equipamento. Coerente com tais perspectivas, as técnicas quimiométricas como PCA (CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018; RISOLUTI, GREGORI, SCHIAVONE *et al.*, 2018; SANTOS, TOSATO, CESCO NETTO *et al.*, 2020; BORGHI, SANTOS, SANTOS *et al.*, 2020), PLS (CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018; BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.*, 2019; SANTOS, TOSATO, CESCO NETTO *et al.*, 2020; SANTOS, SANTOS, CUNHA *et al.*, 2021), PLS-DA (RISOLUTI, GULLIFA,

BATTISTINI *et al.*, 2020; SANTOS, SANTOS, CUNHA *et al.*, 2021; BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.* 2021a) e SIMCA (NEVES, POPPI, SIESLER, 2019) têm sido amplamente empregadas para o tratamento dos dados de NIR.

O microNIR auxilia, portanto, no controle de qualidade realizando análises *in situ*, com confiabilidade e rapidez, através da resolução de problemas analíticos aliado às ferramentas quimiométricas. O uso de ferramentas estatísticas tornou-se fundamental nas análises químicas devido a necessidade de estudos de diversas propriedades de um determinado analito que continham inúmeras variáveis, como os espectros de infravermelho. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é identificar adulterações de borra de *Coffea canephora* (Conilon) secas nas temperaturas de 45, 75 e 100°C, em diferentes níveis (0 – 100 wt% de adulterante), através da técnica analítica de NIR portátil associada a ferramentas quimiométricas: PCA, PLS-DA, SIMCA, PLS. Nesta pesquisa as borras de cafés foram secas em três temperaturas diferentes para verificar se este fator dificulta a identificação das mesmas nos *blends* de cafés.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

Amostras de cafés não comerciais

Foram usadas três amostras de café Conilon não comerciais provenientes dos municípios de Lúna (café 1) e São Gabriel da Palha (café 2 e 3) do estado do Espírito Santo, Brasil, fornecidos pela Cooperativa Agrária de Cafeicultores de Lúna (CACIL) e pelo Instituto Federal do Espírito Santo, campus Venda Nova do Imigrante.

Para o preparo da borra de café, foi adicionado água quente (0,1 g/mL), com aproximadamente 96-99 °C, nas amostras torradas e moídas inseridas em papel de filtro comum (n°103) encaixado no suporte de filtro. Posteriormente, com o objetivo de definir as condições de secagem que mantivessem as características mais favoráveis das borras para o estudo, as amostras foram secas em estufa por 60 min., em três temperaturas diferentes (45, 75 e 100 °C). Na segunda etapa, as borras secas foram adicionadas a três tipos de café Conilon não comerciais em pó (nomeados de 1, 2 e 3), resultando em *blends* com 13 níveis diferentes de adulterações (0, 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80,

90 e 100 wt% de adulterante) com três respectivas temperaturas de secagem, totalizando 117 amostras. A escolha da faixa de concentração de adulteração de 0-100 wt% foi baseada nos termos da legislação brasileira, que preconiza baixos níveis de material adicionado, cujo limite estabelecido por lei é de 1 wt% (Instrução Normativa 16/2010 - MAPA).

5.2.2. INSTRUMENTAÇÃO

Amostras de cafés comerciais

Posteriormente, 31 marcas de cafés foram adquiridas no comércio local do estado do Espírito Santo, Brasil. São elas: Café Falqueto[®], Mogiana[®], 3 Corações Rituais[®], Nº1 Prime[®], 3 Corações (Cerrado Mineiro)[®], Carnielli[®] (Café do Nonno), Carnielli[®] (Cereja Descascada), Café Del Mont Artesanal[®], Del Mont 82[®], Nº1 Extra Forte[®], Nº1 Tradicional[®], 3 Corações Tradicional[®], Liberdade (Café Especial)[®], Liberdade Extra Forte[®], Venda Nova Extra Forte[®], Grão da Roça[®], Café do Ponto Safra Especial[®], Cafuso Tradicional[®], Cafuso Extra Forte[®], 3 Corações Extra Forte[®], 3 Corações Tradicional[®], 3 Corações Tribos[®], Pilão Tradicional[®], Caboclo[®], Meridiano Extra Forte[®], Melita Tradicional[®], Melita Extra Forte[®], Glória, 3 Corações Forte[®], Vista Linda[®] e Praça Oito[®]. Todas as marcas foram nomeadas aleatoriamente como amostras A-XE. Para este conjunto de amostras, borras de café foram produzidas e secas à 75°C. Posteriormente, todas as amostras comerciais foram divididas em autênticas, que são amostras sem adição de borra (amostras comerciais puras) 0 wt%, **Anexo I**, e seus *blends*: 25:75, 50:50, 75:25 e 100:0 wt% (**Anexo J**), totalizando 100 amostras. O outro grupo foi identificado como amostras comerciais não autênticas, ou seja, adulteradas com borra, que são preparadas com adição de 1, 2, 5, 10, 20, 50 e 100 wt% de borra (**Anexo K**), totalizando 112 amostras.

Por fim, todas as amostras foram inseridas em vials e submetidas a análise por microNIR. Todas as análises foram triplicadas e de forma randomizada.

NIR portátil

As análises de NIR portátil foi realizada usando um instrumento modelo miniatura microNIR™ Pro 1700 da Viavi Solutions Inc. Os dados foram obtidos

pelo software 2.1 da Viavi Solutions Inc. Espectros de MicroNIR foram adquiridos na faixa de 908–1676 nm, com 100 scans de varredura, e aumento de 6.20 nm de um ponto para outro, resultando num tempo total de medição de aproximadamente 8s por amostra (CORREIA, DOMINGOS, TOSATO *et al.*, 2018a; CORREIA, DOMINGOS, TOSATO *et al.*, 2018b; SANTOS, TOSATO, CESCO NETTO *et al.*, 2020; BORGHI, SANTOS, SANTOS *et al.*, 2020, SANTOS, SANTOS, CUNHA *et al.*, 2021; SILVA, FOLLI, SANTOS *et al.*, 2020; O'BRIEN, HULSEA, FRIEDRICH *et al.*, 2012).

5.2.3 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

Neste trabalho, foram construídas matrizes X com dados de NIR portátil das amostras, originando nove matrizes de tamanho 39x125 cada, para as amostras não comerciais, e uma matriz $X_{(636,125)}$ composta por espectros das amostras comerciais autênticas e não autênticas. O primeiro conjunto foi usado para construção dos modelos PCA, PLS e PLS com seleção de variáveis usando o Algoritmo Genético (GA-PLS) e para os modelos de classificação PLS-DA e SIMCA, foi usado o segundo conjunto citado. Os resultados das amostras não comerciais também foram avaliados pelos modelos PCA e PLS após agrupamentos das 9 matrizes mencionadas ($X_{351 \times 125}$).

Anteriormente à construção dos modelos, os espectros NIR foram pré-tratados usando a primeira derivada com suavização pelo algoritmo Savitzky – Golay (SAVITZKY e GOLAY, 1964) com polinômio de segunda ordem e uma janela de sete pontos. Os espectros médios da amostra em triplicata foram usados para construir os modelos qualitativos e quantitativos. Ademais, antes da construção dos modelos os dados foram centrados na média.

Modelos Qualitativos

O método de reconhecimento de padrões não supervisionado PCA, é uma técnica exploratória (WOLD, 1987) e foi usado com objetivo de verificar o comportamento dos dados no espaço multidimensional. Já a modelagem por PLS-DA possui como base a aplicação de um modelo de regressão PLS sobre variáveis que são indicadores dos grupos e o SIMCA a construção de modelos PCA disjuntos utilizados para atribuir uma observação a um ou vários das

classes disponíveis,⁴⁷ desta maneira, estas ferramentas foram usadas classificar as amostras de acordo com a probabilidade de pertencer a uma determinada classe.

Para a construção dos modelos PLS-DA e SIMCA, a seleção das amostras foi realizada dividindo-as entre os conjuntos de treino e teste. Aproximadamente 70% das amostras de cada classe (70 e 78 amostras comerciais autênticas e não autênticas, respectivamente) foram previamente selecionadas para o conjunto de treino, enquanto que os 30% restantes foram utilizadas para o conjunto de teste na validação externa, garantindo representatividade das classes. O número ideal de variáveis latentes foi determinado pelo método de validação cruzada *k-fold*, com k igual a 5 para o modelo PLS-DA e o número de variáveis latentes (nvl) usado foi 6. Para o modelo SIMCA, foram usados 2 componentes para as amostras comerciais autênticas e 5 componentes para as amostras comerciais não autênticas.

Os modelos foram avaliados pela exatidão (**Equação 6**), sensibilidade (**Equação 7**), especificidade (**Equação 8**), e taxas de acerto e erro. Por fim, com objetivo de avaliar os modelos construídos em relação a discriminação das amostras foi aplicada a matriz de espectros NIR, $\mathbf{X}_{(117,125)}$, amostras não comerciais.

$$\text{EXATIDÃO} = \frac{\text{TP} + \text{TN}}{\text{TP} + \text{TN} + \text{FP} + \text{FN}} \cdot 100 \quad (6)$$

$$\text{SENSIBILIDADE} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}} \quad (7)$$

$$\text{ESPECIFICIDADE} = \frac{\text{TN}}{\text{TN} + \text{FT}} \quad (8)$$

sendo FP e FN o número de amostras falso-positivo e falso-negativo, respectivamente; TP e TN são o número de amostras verdadeiros positivos e negativos verdadeiros, respectivamente.

Modelos quantitativos

Para verificar a capacidade do modelo e da técnica de NIR portátil em quantificar borra em café Conilon foram construídos modelos PLS (RIBEIRO, FERREIRA, SALVA, 2011; CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, 2016; GELADI e KOWALSKI, 1986). O número ideal de variáveis latentes foi determinado pelo método análogo ao usado no PLS-DA (DE SOUZA, FILGUEIRAS, COELHO *et al.*, 2016). Na construção do modelo PLS, erro médio de calibração (RMSEC), RMSEP, R^2 e viés foram definidos de acordo com os autores (PORTELA, OLIVEIRA, NETO *et al.*, 2016; DE SOUZA, FILGUEIRAS, COELHO *et al.*, 2016)

O LOD e LOQ foram calculados de duas maneiras, usando como parâmetro a metodologia da Agência Nacional de Vigilância sanitária (ANVISA, 2003) e a metodologia preconizada pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2003) - **Equação 9** e **Equação 10**:

$$LD = 3.3\delta_x \|b_k\| \quad (9)$$

$$LQ = 10\delta_x \|b_k\| \quad (10)$$

em que b_k é o vetor com os coeficientes de regressão do modelo PLS para k -variável com base no modelo de regressão e δ_x corresponde a estimativa do ruído instrumental, determinado como a variância média da matriz de resíduos instrumental (SANTOS, TOSATO, CESCO NETTO *et al.*, 2020). De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (ALLEGRI NI e OLIVIERI, 2014; OLIVIERI, 2018) - **Equação 11** e **Equação 12**,

$$LD_{min} = 3.3[SEN^{-2} var(x) + h_{0min} SEN^{-2} var(x) + h_{0min} var(y_{cal})]^{1/2} \quad (11)$$

$$LD_{max} = 3.3[SEN^{-2} var(x) + h_{0max} SEN^{-2} var(x) + h_{0max} var(y_{cal})]^{1/2} \quad (12)$$

onde h_0 é o *leverage* do branco e $var(x)$ e $var(y_{cal})$ são as variâncias do sinal do instrumento e concentração de calibração, respectivamente. Para o cálculo do LQ, a fórmula é similar a **Equação 11** e **12**, entretanto, o valor 3.3 é substituído por 10, porque se a concentração do analito é dez vezes a incerteza da previsão,

então a última é 10% em relação à concentração prevista (ALLEGRIINI e OLIVIERI, 2014; OLIVIERI, 2018). A IUPAC define o LD como a menor quantidade de uma substância que pode ser distinguida da ausência dessa substância (um valor em branco) dentro de um limite de confiança, e o LQ como a concentração de analito para a qual o erro de predição relativo é no máximo 10% (OLIVIERI, 2018). A partir deste conceito estima-se uma faixa de valores ao invés de um valor único, sendo eles valores máximos e mínimos (LD_{min} , LD_{max} , LQ_{min} e LQ_{max}).

Para realizar a seleção de variáveis, foi realizada otimização dos parâmetros do GA a fim definir os melhores resultados para os cafés secos a 75°C e 100°C. A população depende do problema e tem relação direta com o tempo de convergência do algoritmo. Já as n gerações definidas neste trabalho resultaram nos melhores valores para os subconjuntos de variáveis selecionadas. A configuração final do GA foi definida como **1**- tamanho da população, 200, **2** - quantidade de gerações 100, e **3** - probabilidade de mutação, 0.01. O GA foi executado calculando 100 repetições.

A precisão intermediária e repetibilidade também foram calculadas usando os espectros de microNIR Café 2 seco a 75°C (amostras não comerciais), em duas concentrações de adulteração, sendo elas caracterizadas como baixa e alta (10 wt% e 90 wt%), com objetivo de verificar a precisão do método, levando em consideração o desvio padrão relativo (DPR), segundo a *International Organization for Standardization* (ISO) 5725, conforme **Equação 13**:

$$DPR = \frac{s}{x_m} \cdot 100 \quad (13)$$

sendo s o desvio padrão e x_m a média dos dados do Café 2 com temperatura de secagem à 75°C.⁵⁷

De acordo com a ISO 5725, deve haver variação em uma das condições de análise e portanto, foram realizados para cálculo de precisão intermediária, 3 medições (n) por dia, totalizando 7 dias consecutivos. A precisão do método determina as circunstâncias específicas da análise e sua variabilidade, em que a proximidade dos resultados é avaliada em uma série de medições para a mesma amostra. E para a repetitividade, foram realizadas seis medições no

mesmo dia, usando um intervalo curto de tempo (30 min.). Todos os cálculos foram realizados usando o MATLAB Software 7.0 (R2013a).

Por fim, a estabilidade da borra dos cafés não comerciais foi avaliada levando em conta o armazenamento da mesma na geladeira a 8°C (caracterizado como média no termostato). Para isso, foi realizado acompanhamento desde o preparo da borra por análise visual durante este período.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros de NIR portátil das amostras não comerciais dos *blends* de café Conilon/borra de café após pré-tratamento de derivada primeira e centrar na média (café 1 – **Figura 28** café 2 e 3 – **Figura L**) foram mostrados em função da temperatura de secagem da borra (45°C, 75°C e 100°C). Os espectros foram apresentados em degradê de cor, onde o maior teor da borra no *blend* corresponde a tonalidade do espectro mais escuro. A presença das bandas nas regiões de 1100-1200 nm, 1350-1450 nm e 1500-1600 nm foram identificadas em todos os conjuntos de amostras (**Figura 28 e anexo L**), no entanto, nota-se que a intensidade das bandas varia conforme a adição de adulterante no *blend*.

A região de 1100-1200 nm, que caracteriza o segundo sobretom dos grupos CH, CH₂ e CH₃ (SANTOS, TOSATO, CESCO NETTO *et al.*, 2020), apresentou maior intensidade para amostras com maior teor de adulterante. SANTOS, TOSATO, CESCO NETTO *et al.* (2020) citam que esta região é atribuída aos ácidos graxos insaturados e apesar de amostras de cafés serem normalmente adulteradas com outros componentes como milho, cevada, dentre outros (MILANI, ROSSINI, CATELANI *et al.*, 2020; CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, 2018; REIS, FRANCA, OLIVEIRA, 2016), a borra é derivada da própria amostra e portanto, possui teores significativos de ácidos que são compostos majoritários nos grãos deste fruto. Isso ocorre devido a relação da polaridade e o tamanho das cadeias carbônicas dos principais ácidos, como palmítico, oléico, esteárico, dentre outros (BYLESJO, RANTALAINEN, CLOAREC *et al.*, 2006), pois os mesmos não são solubilizados no processo de extração com água (e.g: solubilidade (~20°C) do ácido esteárico = 0.05mg/100mL, ácido palmítico e oleico = insolúvel (PubChem)), portanto, concentrados na composição química da borra.

Independentemente da temperatura e da origem das amostras, houve maior intensidade das bandas na região de 1350-1500 nm para amostras com maiores níveis de borra de café. Essa região caracteriza o grupo funcional OH (segundo sobretom) e está relacionada a dois fatores: 1) a presença da molécula de H₂O (SANTOS, TOSATO, CESCINETTO *et al.*, 2020) devido ao teor de umidade da borra e 2) a presença de outros compostos, como os polissacarídeos (exemplo a galactose e arabinose) e proteínas (MUSSATTO, MACHADO, MARTINS *et al.*, 2011), que por não serem solúveis tem sua maior concentração no sólido residual, afetando a intensidade desta banda de absorção. MUSSATTO, MACHADO, MARTINS *et al.* (2011) caracterizaram quimicamente a borra de café, e relataram a alta presença de açúcares hemicelulósicos nesse subproduto, alcançando níveis de 45,35 % (w/w) da composição.

Já região de 1500-1600 nm, refere-se ao 1° sobretom de OH e mostra que quanto menor o nível de adulteração maior intensidade da banda. Segundo BARBIN, FELICIO, SUN *et al.*, (2014) existe uma relação desta faixa de comprimento de onda com os açúcares, sendo eles os carboidratos solúveis como frutose, glicose, sacarose, dentre outros (e.g: solubilidade (~20°C) da frutose = 79 g/100mL, sacarose = 197g/mL e glicose = 47g/mL (PubChem)), assim durante o processo de extração com água, uma alta parcela destes componentes são extraídos, fazendo com que haja menor teor destes na borra de café.

No que diz respeito à temperatura (45, 75 e 100°C), os espectros de microNIR obtidos (**Figura 28 e anexo L**) sugerem que cafés secos a 100°C possuem menor variação na intensidade das bandas, independente do teor de borra, em todas as regiões do espectro ao compararmos às secagens à 45°C e 75°C. Este resultado mostra que a alta temperatura de secagem da borra e consequentemente, o teor de água influencia na similaridade dos espectros NIR, dificultando a identificação dos cafés puros e adulterados. Isto pode ser claramente observado principalmente na região de 1350-1500 nm. MEI E OLIVEIRA (2017) realizaram estudos de degradação térmica da borra de café e constataram, através da análise termogravimétrica (TGA), que ocorre perda de massa após aumento da temperatura de secagem desse resíduo. Os autores afirmaram que essa perda está relacionada a compostos voláteis presentes na amostra, tais como moléculas de água que evaporam nesta faixa de

temperatura. Outros compostos que caracterizam esta região são as proteínas e em maioria, sua degradação pode ocorrer na faixa de 40 a 80°C (TODA, 2016).

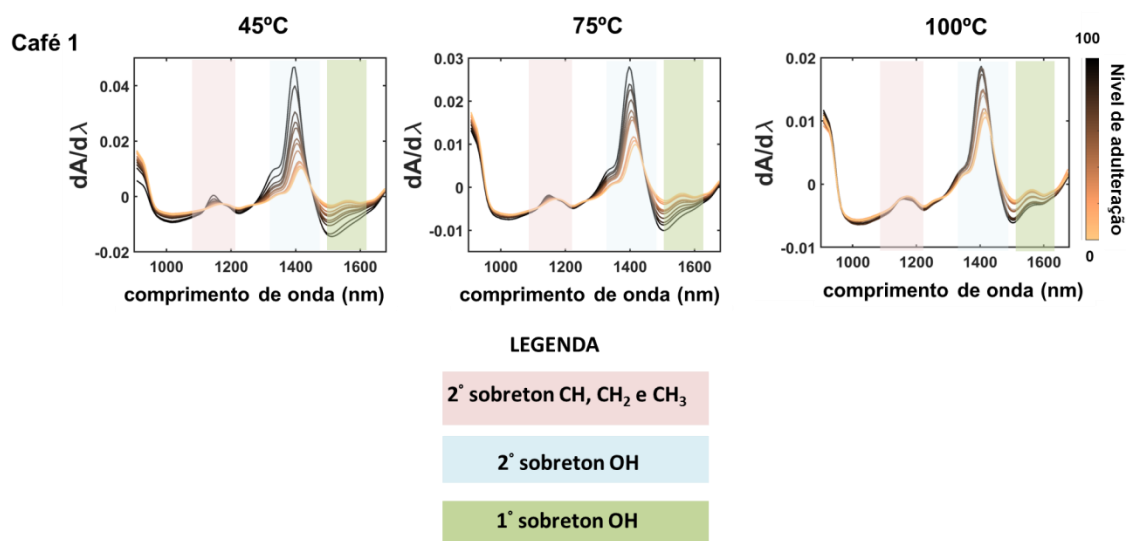


Figura 28. Espectros NIR depois do pré-tratamento com a primeira derivada de *blends* de café Conilon 1/borra de café secas a 45, 75 e 100 °C (amostras não comerciais).

Análise de componente principal (PCA)

Modelos PCA foram construídos e os gráficos dos scores para os *blends* dos três conjuntos de amostras não comerciais de café Conilon (1, 2 e 3) e suas respectivas borras em função das temperaturas de secagem são apresentados nas **Figura 29 a-c**. A média da soma das variâncias explicadas das componentes PC1 e PC2 de cada café em função da temperatura de secagem das borras, foram igual a 99,73 (45°C), 99,79 (75°C), e 97,70 (100 °C) com desvio padrão de $\pm 0,14$, $\pm 0,04$ e $\pm 1,07$, respectivamente. Estes resultados demonstram que os modelos contêm elevado nível de informação usando PC1xPC2, pois são superiores a 99%, exceto à temperatura de secagem de 100°C.

Ao observar a **Figura 29a-c**, verificamos que houve um melhor gradiente de separação na componente PC1 em função da concentração do adulterante presente nas *blends* de café Conilon/borra de café. Logo, as amostras seguem um aumento do teor de adulterante que é linear ao longo de uma única componente, isto é, a PC1. Desta forma, em todos os modelos PCA, os cafés puros (0 wt%) e/ou baixos níveis de adulteração foram perfeitamente discriminados no quadrante negativo da PC1 ($PC1 < 0$), enquanto que as amostras adulteradas com maiores teores de borra, a partir de 40-50 wt%, se encontraram na região da $PC1 > 0$.

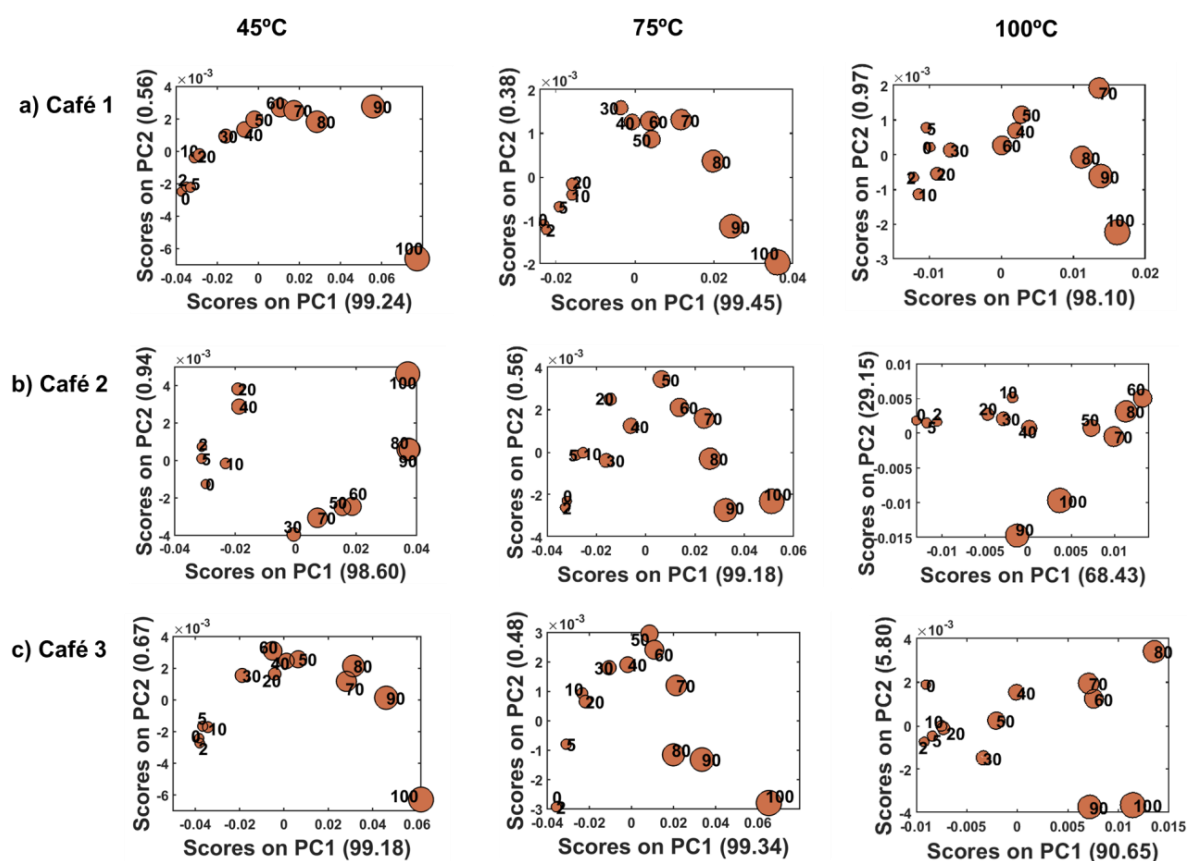


Figura 29. Gráficos dos scores dos modelos de PCA para os *blends* (amostras não comerciais) de café Conilon a) café 1, b) café 2 e c) café 3, e borra em função dos diferentes níveis de adulteração.

A partir do gráfico de *loadings* (**Figura 30**) de PC1, a região de maior influência nas amostras para todos os modelos construídos é a de 1350-1500 nm. Este resultado está correlacionado à diferença na concentração de H₂O, mostrando que os espectros de microNIR são sensíveis à presença da umidade nos *blends* proveniente das borras adicionadas e a outros compostos característicos que apresentam a ligação O-H.

Ao estudar as blendas de café/borra produzidas em função de distintas condições de temperatura de secagem e, conseqüentemente umidade (RIBAS, CÁNOVAS, GARZA *et al.*, 2000; OETTERER, D'ARCE, SPOTO, 2006) nota-se que essas propriedades influenciaram nas intensidades das bandas de absorção, principalmente, aquelas relacionadas ao grupo funcional OH. Portanto, é possível afirmar que o conjunto de amostras que proporcionou maiores informações para a construção do modelo PCA foram os *blends* preparados com as borras secas à 75°C. CARDOSO (2013) analisou também três temperaturas de secagem da borra de café expresso a fim de verificar o

comportamento higroscópico (capacidade de absorver a água) das amostras e assim ajustar o melhor processo de conservação para posterior transporte, armazenamento e uso do resíduo. Os autores constataram que o nível mínimo ideal de secagem foi a partir de (45°C, conforme utilizado neste estudo. Benicá (2019) construíram modelos estatísticos relacionando o processo de torrefação dos cafés, a temperatura de secagem da borra e seu reaproveitamento em muffins e concluíram que a faixa de 70-80°C foi ideal para cafés classificados como torra clara e escura.

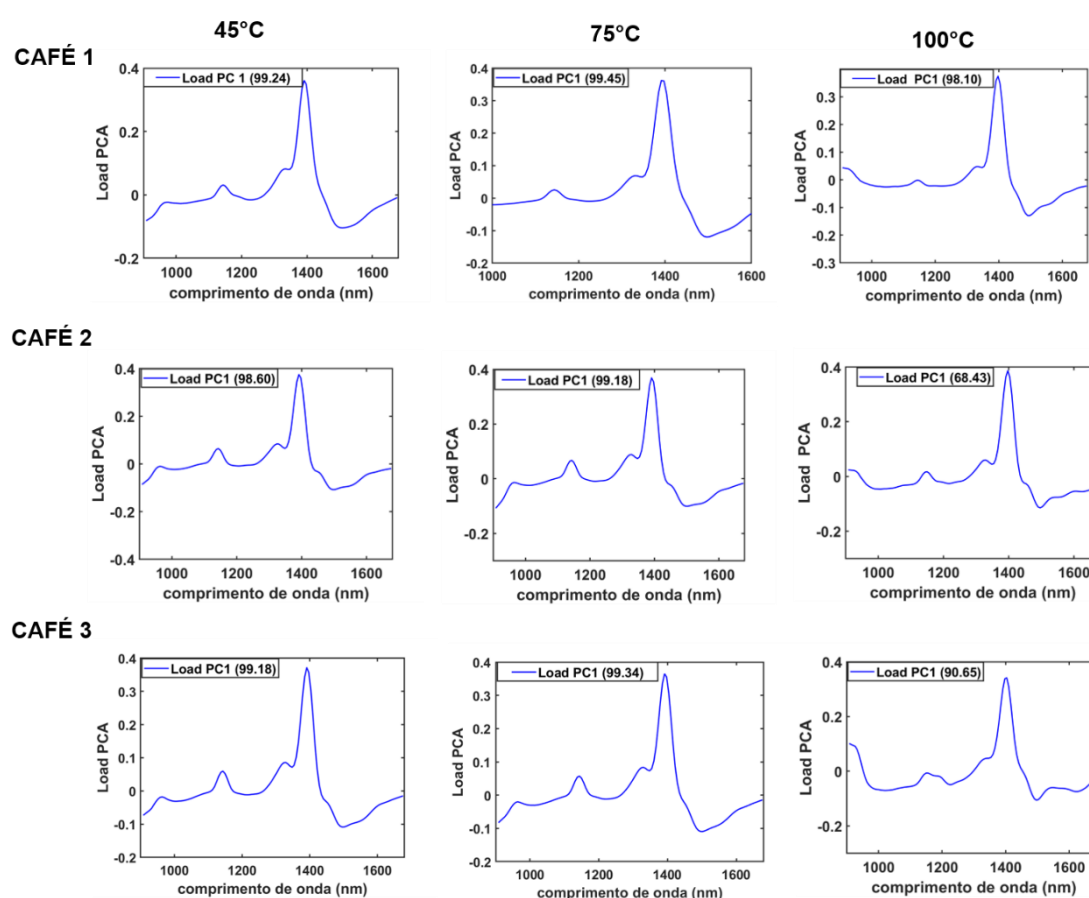


Figura 30. Gráfico dos *loadings* de PC1 do modelo PCA para as amostras de café adulteradas com diferentes concentrações de borra de café de acordo com a temperatura de secagem.

Um novo modelo PCA foi construído contendo as amostras não comerciais de *blends* de Conilon (cafés 1-3) e suas respectivas borras obtidas na temperatura de secagem de 75 °C. A **Figura 31a** mostra que o gráfico de *scores* apresenta uma variância explicada pela PC1 e PC2 de 99.35%, onde novamente a tendência de adulteração aumenta em função da PC1. Já ambas

as PCs, PC1 vs. PC2 conseguem separar as amostras entre Café 1 - Iúna e Cafés 2-3, ambos de São Gabriel da Palha. Este resultado mostra que é possível reconhecer os municípios de origem.

Com objetivo de avaliar a qualidade das amostras dos cafés comerciais, espectros NIR dessas amostras e seus *blends* foram adquiridos (**Figura 31b**) e um novo modelo de PCA foi construído. Os gráficos de *scores* e *loadings* são apresentados nas **Figuras 31c e 31d**, respectivamente.

Analisando os espectros NIR, as amostras adulteradas (não comerciais e comerciais), apresentam uma maior intensidade de absorção na região de 1350-1500 nm (**Figura 31b**). O gráfico de *scores* da PC1 x PC2, **Figura 31c**, mostra que as amostras comerciais autênticas (sem adição de borra), estão bem agrupadas e distribuídas na região da $PC1 < 0$ e $PC2 \sim 0$. Próximo desta região, há a presença de um conjunto de amostras comerciais não autênticas contendo menores níveis de adulterante, isto é, concentração de borra na faixa de 1 a 20 wt%. As demais amostras comerciais não autênticas com concentração de borra de 50 a 100 wt%, estão dispersas ao longo da PC1. O gráfico de *loadings* (**Figura 31d**) mostra que a região de maior importância na construção do modelo foi em 1350-1500 nm nas duas PCs, mas em direções opostas das PCs ($PC1 > 0$ e $PC2 < 0$).

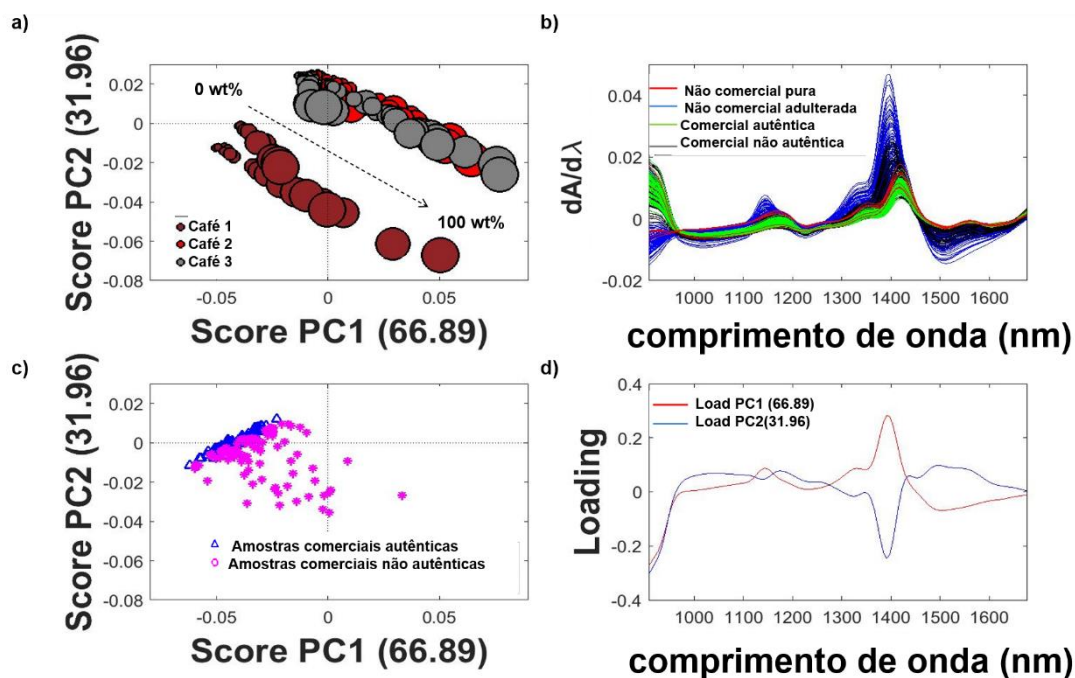


Figura 31. a) gráfico dos *scores* do modelo PCA para as amostras não comerciais. O tamanho do marcador é proporcional ao teor de adulterante nas amostras; b) espectros microNIR, após pré-tratamento com a primeira derivada, de cafés não comerciais puros e adulterados e amostras comerciais autênticas e não autênticas; c) gráfico dos *scores* para amostras comerciais (amostras comerciais autênticas ($n = 100$) são representadas pelo símbolo (Δ) e as amostras comerciais não autênticas ($n = 112$) são representadas pelo símbolo (*)); d) gráfico dos *loadings* do modelo PCA para os *blends* de café.

Modelos por análise discriminante por mínimos quadrados parciais modelagem suave independente de analogia de classe - PLS-DA e SIMCA

A partir dos espectros de NIR portátil dos cafés comerciais, foram construídos modelos de classificação (autênticas e não autênticas), sendo PLS-DA e SIMCA, a fim de comparação dos resultados. As matrizes de confusão dos modelos PLS-DA e SIMCA são representadas na **Tabela 9** e mostram a probabilidade de uma determinada amostra pertencer a cada classe (BORGHI, SANTOS, SANTOS *et al.*, 2020; SANTOS, SANTOS, CUNHA *et al.*, 2021). A classe alvo para a construção do modelo é o conjunto de amostras autênticas, ou seja, sem a presença de borra.

Ao observar os resultados do conjunto de treino dos modelos PLS-DA (**Tabela 9** e **Fig 32**), verifica-se que das 70 amostras caracterizadas como autênticas, somente três foram classificadas incorretamente e entre as 78 amostras não pertencentes a classe alvo, ou seja, não autênticas, o modelo classificou 72 corretamente, três incorretamente, não sendo capaz de classificar

apenas três amostras. Os resultados para o conjunto de teste também foram excelentes com, por exemplo, somente uma amostra classificada incorretamente no grupo das autênticas.

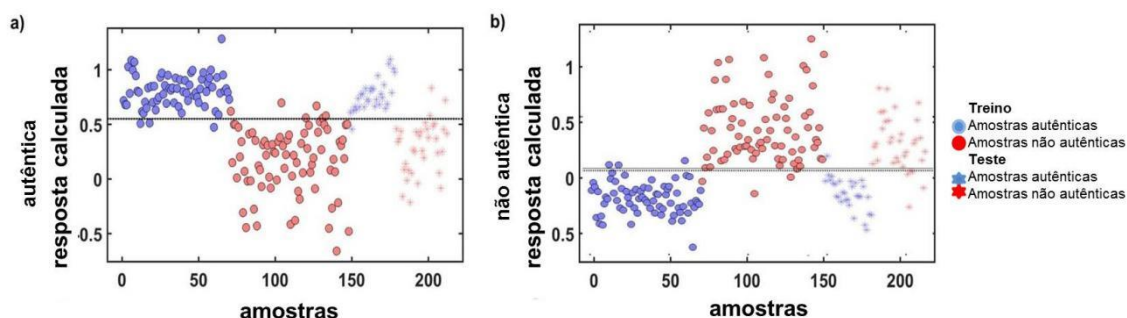


Figura 32. Resposta calculada para o modelo PLS-DA para a probabilidade de as amostras pertencerem a determinada classe. a) autêntica e b) não autêntica.

Para o modelo SIMCA, observa-se a partir do gráfico dos *scores* (**Anexo M**) da classe alvo, ou seja, amostras autênticas, que a variância total explicada com duas componentes principais foi de 99,91% e que houve agrupamento das amostras de treino e teste em torno de PC1. O modelo classificou corretamente todas as amostras não autênticas do conjunto de treino e teste (**Tabela 9**), mostrando resultados ao nível de significância acima de 99% para este grupo. Para o grupo das amostras autênticas, foram classificadas incorretamente 25 e 9 amostras de *blends* nos conjuntos de treino e teste, respectivamente.

Os resultados mostram que a modelagem por PLS-DA classificou corretamente maior quantidade de amostras em relação ao modelo SIMCA.

Os parâmetros de desempenho do modelo PLS-DA e SIMCA também são mostrados na **Tabela 9**. Foram realizados testes de exclusão de algumas amostras para detecção de *outliers*, no entanto, não houve ganho nos parâmetros de desempenho e, portanto, as amostras não são prejudiciais à qualidade dos modelos. A nível de comparação, é possível observar que o modelo PLS-DA apresentou valores de exatidão e taxa de acerto acima de 93% para o conjunto de treino e maior que 90% para o conjunto de teste. As taxas de erro (na faixa de 4-6%) mostram a consistência da técnica em classificar amostras de cafés autênticos e não autênticos pelo modelo PLS-DA. NÚÑEZ, COLLADO, MARTÍNEZ *et al.*, (2020) usaram a técnica de HPLC acoplada ao ultravioleta (UV) e construíram modelos PLS-DA para discriminar amostras de cafés de diferentes regiões e torras para fins de autenticação de fraudes, e

encontraram valores de taxa de acerto a partir de 89.3% para o conjunto de treinamento. BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO, *et al.* (2021a) analisaram misturas de cafés com torras e classificações diferentes (duro e rio) usando NIR portátil, na mesma faixa de comprimento de onda (906-1676 nm), e encontraram taxa de erros entre 1,9 – 8%, através da construção do modelo PLS-DA. Com relação a especificidade e sensibilidade do conjunto de treino, os autores encontraram sensibilidade: café duro/rio torra média (classe 1) – 0,98; café duro/rio torra escura (classe 2) – 1.0 e café rio/rio torra média/escuro (classe 3) – 0,91; especificidade: classe 1 – 0,97; classe 2 – 0,97 e classe 3 – 0,92, valores similares aos obtidos neste trabalho, conforme **Tabela 9**.

O modelo SIMCA apresenta valores acima de 82% de exatidão e taxa de acerto para os conjuntos de treino e teste. Apesar deste último ter apresentando valores inferiores aos obtidos no modelo PLS-DA, os resultados foram satisfatórios, alcançando alta sensibilidade para amostras não autênticas (**Tabela 9**), mostrando-se eficiente em identificar amostras com a presença da borra. Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) os métodos tradicionais de análise, como a análise visual de lâminas microscópicas, possuem dificuldade ou não conseguem detectar este subproduto, pois o café é uma matriz complexa e a borra é um dos resíduos do próprio café. Outro parâmetro que comprova a eficácia do modelo SIMCA é especificidade para as amostras autênticas, ou seja, os negativos verdadeiros, mostrando a capacidade do método em identificar corretamente as amostras que não apresentam a presença do adulterante.

A diferença entre os resultados do PLS-DA e SIMCA deste estudo, está principalmente nos resultados de sensibilidade das amostras autênticas e na especificidade das amostras não autênticas de ambos os conjuntos, além da menor exatidão e taxa de acerto do modelo SIMCA, uma vez que a classe alvo são as amostras autênticas. BYLESJO, RANTALAINEN, CLOAREC *et al.*, (2006) afirma que em relação à taxa de classificação, desde que a variabilidade dentro da classe seja baixa, modelos PLS-DA superam a modelagem SIMCA.

Tabela 9. Classificação de referência e parâmetros de desempenho para os conjuntos de treino (n=70) e teste (n=30) dos modelos PLS-DA e SIMCA.

Modelo	Conjunto de classificação	Autênticas	Não autênticas	Não classificadas	Especificidade	Sensibilidade	Exatidão	Taxa de acerto	Taxa de erro
Treino (n= 70)									
PLS-DA	Autênticas	67	3	0	0,96	0,96			
	Não autênticas	3	72	3	0,96	0,92	0,94	0,96	0,04
SIMCA	Autênticas	45	25	0	1,0	0,64			
	Não autênticas	0	78	0	0,64	1,0	0,83	0,82	0,18
Teste (n= 30)									
PLS-DA	Autênticas	29	1	0	0,91	0,97			
	Não autênticas	3	29	2			0,91	0,94	0,06
SIMCA	Autênticas	21	9	0	1,0	0,7			
	Não autênticas	0	34	0	0,7	1,0	0,86	0,85	0,15

A partir dos resultados dos modelos construídos, é possível mostrar o bom desempenho da técnica de microNIR associada a modelos de classificação para a discriminação entre amostras autênticas de cafés e amostras que não pertencem a essa classe (não autênticas) com baixo erro de resposta calculado. Neste sentido, o conjunto de amostras não comerciais (n= 117) foram aplicadas nos modelos SIMCA e PLS-DA construídos. Os melhores resultados foram obtidos pelo modelo SIMCA, que classificou 92.3% das amostras corretamente. Este resultado está relacionado ao conjunto de amostras aplicadas ao modelo, uma vez que, dos 117 cafés, 98 não pertencem à classe alvo, ou seja, não são autênticas, e como visto anteriormente, o modelo SIMCA obteve maior taxa de acerto para a classificação deste conjunto. Concentrações baixas (2 wt%) de borra nos *blends* foram classificadas corretamente. Já o modelo PLS-DA classificou corretamente 81.2% do conjunto de amostras não comerciais, identificando teores acima de 10 wt% de borra.

Por fim, pode-se afirmar que o modelo PLS-DA foi melhor para a classificação de amostras autênticas e não autênticas e o modelo SIMCA foi melhor na classificação das amostras não autênticas e do conjunto aplicado (amostras não comerciais) ao modelo.

Regressão de mínimos quadrados parciais – PLS

Os resultados médios de RMSEP, R^2_p , LD, LQ, e erro sistemático (viés) e número de variáveis latentes (nvl) dos nove modelos PLS construídos a partir das amostras não comerciais foram apresentados na **Tabela 10**. Uma variável latente foi utilizada para a construção do modelo PLS, sendo estabelecida a melhor relação de RMSEC x RMSEP para que não houvesse super ajuste do modelo. Outra justificativa sobre o uso de apenas uma variável latente está relacionada a boa separação em PC1 (**Figura 29**).

A partir da **Tabela 10**, observa-se também que o RMSEP foi de 7,93 wt%, 6,13 wt% e 13,53 wt% para as temperaturas de secagem da borra em 45°C, 75°C e 100°C, respectivamente. E o menor valor médio de RMSEP foi para as amostras secas à 75 °C, provando que este resultado mostra que todas as amostras (Cafés 1, 2 e 3) nesta temperatura apresentaram RMSEP abaixo de 7

wt%, e assim o conjunto de dados que exibiu excelentes valores para a modelagem em torno da exatidão foram os cafés secos à 75°C. REIS, FRANCA, OLIVEIRA (2016) usaram dados obtidos por ATR-FTIR para construção de modelos PLS a fim de identificar adulterantes simultâneos em amostras de café, sendo um deles a borra. Os autores usaram uma faixa de trabalho de 0 a 66% de adulteração, faixa menos ampla do que usada no presente estudo (0-100 wt%) e aplicaram seleção de variáveis ao conjunto de dados, encontrando valores de RMSEP entre 2,4-3,6 wt%. Em estudo anterior os autores encontraram por espectroscopia na região do infravermelho por reflectância difusa (DRIFT-IV), RMSEP de 3,7 wt% usando conjunto de amostras e parâmetros similares (REIS, FRANCA, OLIVEIRA, 2016).

O R^2p também foi avaliado e este parâmetro permite uma estimativa da qualidade da curva obtida de acordo com o percentual de variação total do sinal analítico explicado pela variação da concentração do analito (RIBANI, BOTTOLI, COLLINS *et al.*, 2004). A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação igual ou maior que 0,99, portanto, os dados espectrais fornecidos por NIR portátil para as amostras secas a temperatura de 75°C alcançaram um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. Analisando alguns dados da literatura provenientes de análises de café por microNIR é possível perceber que os resultados de R^2 obtidos foram excelentes. Em 2018, CORREIA, TOSATO, DOMINGOS *et al.*, (2018) obtiveram valores de 0,97 para *blends* de café arábica e milho. BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.*, em 2019 encontraram valores de R^2 na faixa de 0,73 a 0,84 ao prever parâmetros de controle da qualidade de cafés como granulometria, umidade, cor e tempo de infusão dos grãos torrados. Já no estudo de TUGNOLO, BEGHI, GIOVEZANA *et al.*, (2019) aplicaram a ferramenta quimiométrica PLS e obtiveram R^2 na faixa de 0,18 a 0,84 ao prever o teor de umidade, densidade compactada e granulometria de pó no café moído e para estimar a umidade no grão torrado com visualização de medições em tempo real.

A viés, ou erro sistemático foi calculado, para o conjunto de previsão (viés_p). Observa-se que foram encontrados para todos os cafés (75°C e 45°C), exceto à 100°C, valores que indicam a ausência destes erros para o modelo PLS ao nível de significância de 5%.

O LD e LQ são indicadores numéricos simples, confiáveis e de fácil interpretação para verificar a qualidade do modelo de calibração (OLIVIERI,

2018). De acordo com ALLEGRINI E OLIVIERI (2014) ainda não há estimador destes limites geralmente aceito para estudos PLS, portanto, neste estudo foram realizados dois cálculos diferentes para identificar o LD e LQ das amostras de cafés Conilon adulteradas com a borra, **Tabela 10**.

Seguindo a metodologia da ANVISA/INMETRO foram encontrados resultados a partir de 0.7 wt% e 2.4 wt% de LD e LQ, respectivamente, para os cafés secos à 75 °C. Ao comparar estes resultados aos valores de exatidão pode-se afirmar que estão superestimados, mas pode-se levar em consideração o fato de serem amostras sólidas que podem sofrer efeito de espalhamento, devido a possível não uniformidade de amostras neste estado físico. Outros autores encontraram, LD e LQ, usando NIR portátil em análises de cafés, de 4,15 e 12,59%, respectivamente, ao prever a granulometria (BAQUETA, COQUEIRO, MARÇO *et al.*, 2019).

Os valores de $LD_{\min-\max}$ e $LQ_{\min-\max}$ (IUPAC) foram superiores aos definidos pela ANVISA⁵³/INMETRO⁵⁴, conforme **Tabela 10**. Este resultado possivelmente tem relação com os valores de h_0 (*leverage*), que é caracterizado como a distância da amostra até o centro do conjunto de dados medido no subespaço das variáveis latentes, ou seja, quando a concentração do analito é zero. Nesta investigação o branco usado nos cálculos foram as amostras caracterizada como 0%, sem a presença de adulterante. No entanto, o café é uma matriz complexa, que possui muitos componentes contribuindo para seu espectro que podem provocar efeito de matriz, pois são analisados os espectros inteiros.

O $LD_{\min-\max}$ e $LQ_{\min-\max}$ levam em consideração dois possíveis erros, tipo I e tipo II, enquanto os resultados obtidos por cálculos de LD e LQ, segundo a ANVISA e INMETRO, usam somente a possibilidade do erro tipo I. O erro tipo I caracteriza-se probabilidade de rejeitar H_0 uma vez que ela é verdadeira e o tipo II probabilidade de aceitar H_0 uma vez que ela é falsa. Os resultados obtidos conforme cálculo da IUPAC, onde foram encontrados valores médios entre 5,6-8,9 wt% de LD e 17-26,8 wt% para LQ na temperatura de 75°C, por exemplo, vão de acordo com os valores encontrados de RMSEP, mostrando ser promissora a metodologia da IUPAC.

Após avaliação dos resultados de exatidão, LD, LQ e R^2_p é possível inferir que a secagem da borra afeta a qualidade do modelo e que há uma tendência

na excelência dos resultados na ordem crescente de 100°C, 45°C e 75°C, além de que os resultados do modelo PCA corroboram com estas afirmações. Apesar da exatidão à 100°C ser maior (13,53 wt%) e o limite de detecção de borra em café Conilon ser na faixa de 8,5 - 13,2 (IUPAC), conforme **Tabela 10**, foram encontrados bons resultados para todos os conjuntos de amostras.

Tabela 10. Resultados do modelo PLS.

AMOSTRAS	Modelo PLS								TEMPERATURA
	Média dos valores de RMSEP (em wt%)	Média dos valores de R^2_p	viés _p	Nvl	Média dos valores de LD	Média dos valores de LQ	Média dos valores de LD _{min-máx}	Média dos valores de LQ _{min-máx}	
CAFÉ 1 CAFÉ 2 CAFÉ 3	7,93	0,958	$3,1 \times 10^{-1}$ $-3,4 \times 10^0$ $-6,5 \times 10^0$	1	1,1	3,6	7,7 – 11,1	21,8 – 33,5	45°C
CAFÉ 1 CAFÉ 2 CAFÉ 3	6,13	0,9917	$1,6 \times 10^0$ $-9,1 \times 10^{-1}$ $1,9 \times 10^0$	1	0,7	2,4	5,6 – 8,9	17 – 26,8	75°C
CAFÉ 1 CAFÉ 2 CAFÉ 3	13,53	0,870	$5,8 \times 10^{-1}$ $6,5 \times 10^0$ $1,2 \times 10^1$	1	1,8	5,9	8,5 – 13,2	25,8 – 40,3	100°C
AGRUPAMENTO	13,2	0,8452	$1,75 \times 10^{-2}$	6	12,82	42,7	-	-	75°C
Modelo GA-PLS									
CAFÉ 1 CAFÉ 2 CAFÉ 3	3,2	0,933	-	30 20 15		-		-	75°C
CAFÉ 1 CAFÉ 2 CAFÉ 3	7,9	0,9648	-	30 75 10		-		-	100°C

Legenda: LD_{min-máx} e LQ_{min-máx} – De acordo com IUPAC

Para verificar a exatidão dos modelos quimiométricos foi construído também um modelo PLS agrupando os espectros de microNIR dos três cafés e as três temperaturas de secagem da borra. Os resultados de RMSEP e R^2_p do modelo foram 13.2 wt% e 0.8452, respectivamente. Posteriormente foi avaliado o conjunto de amostras comerciais autênticas e não autênticas (n= 212) preparadas a partir das 31 marcas adquiridas no comércio local. Os valores previstos obtidos para as amostras comerciais autênticas, **Anexo N**, mostram que as amostras obtiveram, predominantemente, resultados negativos. Este resultado está dentro da faixa de erro do modelo e comprova a ausência de adulterante nas amostras.

Já os resultados para as amostras comerciais não autênticas **Anexo O**, apresentaram variabilidade ($>$ desvio padrão = 17 wt%) quanto aos valores de previsão sendo alguns iguais e/ou próximos aos valores de referência, levando em consideração a faixa de erro do modelo PLS, como por exemplo, os *blends* V, W e Y. Em contrapartida, outros conjuntos apresentaram maior variabilidade nos valores de referência *versus* previsão. Estes resultados podem estar relacionados a 3 fatores sendo a) o LQ de 42.7 wt%, segundo a ANVISA; b) à origem e variedade das amostras, conforme apresentado pelos modelos PCA e c) a influência da temperatura de secagem das borras, observado nos demais modelos PLS construídos.

O próximo passo foi avaliar se a seleção de uma faixa específica do comprimento de onda auxiliaria na melhora dos resultados. Alguns trabalhos usam a seleção de variáveis para melhorar a capacidade preditiva dos modelos PLS (GOMES, 2012; ZHANG, JIANG, LIU *et al.*, 2016; ASSIS, OLIVEIRA, SENA 2017; DE ASSIS, DE FUSCO, COSTA *et al.*, 2018; ZAREEF, HASSAN, ARSLAN *et al.*, 2020). Dentre os métodos disponíveis, este trabalho usou o Algoritmo Genético (GA), proposto por John H. Holland na década de 60 (COSTA FILHO e POPPI, 1999).

A **Tabela 10** também mostra os valores médios de RMSEP e R^2_p para os Cafés 1, 2 e 3, bem como a quantidade de variáveis selecionadas pelo modelo para os cafés secos à 75°C e 100°C. Levando em consideração os fatores RMSEP, tempo de processamento e R^2 observa-se excelentes valores para todas as amostras, sendo os resultados abaixo de RMSEP <8 wt% do GA-PLS. Observa-se também que os resultados para borras secas à 100°C, prevalecem

maiores que a temperatura de 75°C, portanto, há um limite de detecção de adulteração dos cafés nesta temperatura, apresentado no modelo através da menor exatidão.

Ao comparar os resultados de RMSEP obtidos pelos modelos anteriores (**Tabela 10**) é possível constatar que houve a promoção de melhorias em relação ao método *full scan* e após a aplicação da seleção de variáveis por GA, sendo que para o último foram encontrados, aproximadamente metade dos valores em relação a primeira metodologia para as duas temperaturas. Contudo, independentemente do método utilizado os valores de predição foram excelentes.

A precisão do método foi definida através dos parâmetros de repetibilidade e precisão intermediária. Os valores de RDS para repetibilidade foram de 1.0 para o nível de 90 wt% e 1.7 para 10 wt% de adulterante. Já para a precisão intermediária os valores encontrados foram 3.4 e 1.1 wt% para baixa e alta concentração, respectivamente. CORREIA, LOUREIRO, RODRIGUES *et al.*, (2016) de café arábica e Conilon por Espectrometria de Massas com ionização por *eletrospray* (ESI(-)FT-ICR MS) e 1.7 wt%, em ambas figuras de mérito, por ATR-FTIR. Outros autores analisaram amostras de cafés e encontraram valores de repetibilidade 7-27,9% usando um microscópio estereoscópico (MENDES, SANTOS, CORRÊA *et al.*, 2016), 1.65% por HPLC (LIMA, SALVA, BARBOZA *et al.*, 2019), e 1.7 - 3.3% também por HPLC (MACHEINER, SCHMIDT, SCHREINER *et al.*, 2019), e 1.6-3.5% por RMN.

Segundo as agências responsáveis por verificarem as competências dos ensaios de laboratório, o valor limite a ser alcançado é 5%. Desta maneira, os resultados obtidos neste estudo demonstram a confiabilidade da técnica de microNIR em análises de adulterações de café Conilon com borra de café, sendo mínima a variabilidade observada em intervalos de tempos diferentes.

Por fim, foi realizada uma análise qualitativa, a fim de identificar o tempo de conservação dos *blends* sem que haja interferências de microorganismos, devido ao alto teor de umidade presente nas borras de café. O estudo foi delineado através do tempo (em dias) *versus* análise visual, levando em consideração que ao armazenar as misturas o indivíduo só poderá usar estes parâmetros. Observou-se que o tempo estimado de conservação foi de 137 dias.

A EMBRAPA considera que esta prática além de lesar o consumidor, pode proporcionar o crescimento de fungos e bactérias nocivas à saúde. RIBANI, BOTTOLI, COLLINS *et al.*, (2004) cita que em certos tipos de amostras, faz-se necessário avaliar a estabilidade da substância para determinar o tempo de estocagem das amostras. Os autores exemplificam ao discutir que tempos longos de estocagem de amostras biológicas aumentam a probabilidade de degradação dos compostos de interesse, com subsequente formação de metabólitos. Portanto, identificar a estabilidade, ajuda no processo de análises, pois as mesmas podem ser completadas antes de ocorrer a degradação.

5.4 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi desenvolvida a primeira metodologia usando microNIR, como ferramenta analítica, associado a quimiometria (PCA, PLS, PLS-DA e SIMCA) para determinação de adulteração de café Conilon com borras, com excelentes resultados.

O modelo PCA mostrou a sensibilidade da técnica à presença de borra como adulterante em amostras de cafés, e através dos *loadings*, podemos concluir que a região de 1350-1500 nm, caracterizada pelo grupo funcional OH, é importante nesta discriminação,

A partir do modelo PLS e das figuras de mérito obteve-se maior e menor exatidão para as borras secas a 75 e 100°C, respectivamente, usando o método full scan. Os modelos construídos com os *blends* de cafés secos à 75°C obtiveram RMSEP médio de 6,1 wt%. No entanto, mesmo com valores superiores às demais temperaturas, às amostras secas à 100°C podem ser detectadas na faixa de 1,8-8,5 wt% de adulterante, com erro de predição médio na faixa de 13,5 wt%, sendo menores ao utilizar seleção de variáveis (7,9 wt%), o que mostra a eficácia da técnica.

Os modelos obtidos por PLS-DA e SIMCA tiveram boa performance de discriminação entre os cafés autênticos e não autênticos, resultando na obtenção de valores de taxa de acerto e exatidão acima de 90% e 82%, respectivamente. O modelo SIMCA classificou corretamente 92.3% do conjunto

de amostras externas e a partir de níveis mínimos (2 wt%) de adulterante no *blend*.

O DPR (<4 wt%) calculado para precisão intermediária e repetibilidade, corroborou com os demais resultados confirmando a confiabilidade da técnica de microNIR. Observou-se também que o tempo máximo de armazenamento na geladeira das borras para análise é de 137 dias sem que haja degradação das amostras.

6. REFERÊNCIAS

ABREU, G. F.; BORÉM, F. M.; OLIVEIRA, L. F. C.; ALMEIDA, M. R.; ALVES, A. P. C. Raman spectroscopy: A new strategy for monitoring the quality of green coffee beans during storage. *Food Chemistry*, **287**, 241–248, 2019.

ADHIKARI, J.; CHAMBERS, E.; KOPPEL, K. Impact of consumption temperature and additions (milk and/or sugar) on sensory properties of hot brewed coffee. *Food Research International*, **115**, 95–104, 2019.

ADNAN, A.; NAUMANN, M.; MORLEIN, D.; PAWELZIK, E. Reliable discrimination of green coffee beans species: A comparison of UV-Vis-based determination of caffeine and chlorogenic acid with non-targeted near-infrared spectroscopy. *Foods*, **9**(6), 788, 2020

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), RE no 899, de 29 de maio de 2003, Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.

AGUIAR, M. I.; RIBEIRO, L. P. D.; RAMOS, A. P.; CARDOSO, E. L. Soil characterization by near-infrared spectroscopy and principal component analysis. *Revista Ciência Agronômica*, **52**(1), e20196825, 2021.

ALBERICI, R. M.; SIMAS, R. C.; DE SOUZA, V.; DE SÁ, G. F.; DARODA, R. J.; EBERLIN, M. N. Analysis of fuels via easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, **659**, 15–22, 2010.

ALCALÀ, M.; BLANCO, M.; MOYANO, D.; BROAD, N.; O'BRIEN, N.; FRIEDRICH, D.; SIESLER, H. (2013). Qualitative and quantitative pharmaceutical analysis with a novel handheld miniature near-infrared spectrometer. *Journal Near Infrared Spectroscopy*, **21**(6), 445– 457, 2013.

ALESSANDRINI, L.; ROMANI, S.; PINNAVAIA, G.; ROSA, M. D. Near infrared spectroscopy: An analytical tool to predict coffee roasting degree. *Analytica Chimica Acta*, **625**, 95–102, 2008.

ALLEGRI, F., OLIVIERI, A. C. IUPAC-Consistent Approach to the Limit of Detection in Partial Least-Squares Calibration. *Analytical Chemistry*, **86**, 7858–7866, 2014.

ALVES, A. L.; PESSOA, M. S.; DE SOUZA, P. E. N.; PARTELLI, F. L.; MOSCON, P. S.; DA SILVA, E. C.; GUIMARÃES, A. O.; MUNIZ, E. P.; PINHEIRO, P. F.; BORÉM, F. M.; MORAIS, P. C. Influence of Environmental and Microclimate Factors on the Coffee Beans Quality (*C. canephora*): Correlation between Chemical Analysis and Stable Free Radicals. *Agric. Sci.*, **09**(9), 1173–1187, 2018.

ALVES, R. P.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; LIÃO, L. M.; FLORES, I. S. Evaluation of the Metabolic Profile of Arabica Coffee via NMR in Relation to the Time and Temperature of the Roasting Procedure. *Journal Brazilian Chemical Society*, **32**(1), 123-136, 2021.

AMAECHI, N. C.; OKONKWO, U. Identification of compounds in *Garcinia kola* (Heckel) Fruit Pulp Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Archives of Current Research International*, **10**(4), 1-10, 2017.

AMBONI, R. D. M. C.; FRANCISCO, DE A.; TEIXEIRA, E. Utilização de microscopia eletrônica de varredura para detecção de fraudes em café torrado e moído. *Ciência e tecnologia de alimentos*, **19** (3), 1999.

AMIRVARESI A.; NIKOUNEZHAD N.; AMIRAHMADI M.; DARAEI B.; PARASTARR H. Comparison of near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR)

spectroscopy based on chemometrics for saffron authentication and adulteration detection, *Food Chemistry*, **344**, 2021,

AMORIM H. V.; GUERCIO, M. A.; CORTEZ, J. G.; MALAVOLTA, E. Métodos de análise orgânica do café. I. Comparação entre métodos de determinação do ácido clorogênico. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, **30**, 281-291, 1973.

AMORIM, A. C. L.; HOVELL, A. M. C.; PINTO, A. C.; EBERLIN, M. N.; ARRUDA, N. P.; PEREIRA, E. J.; BIZZO, H. R.; CATHARINO, R. R.; MORAIS FILHO, A. B.; REZENDE, C. M. Green and Roasted Arabica Coffees Differentiated by Ripeness, Process and Cup Quality via Electrospray Ionization Mass Spectrometry Fingerprinting. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **20**(2), 313-321, 2009.

ANGELONI, G.; GUERRINI, L.; MASELLA, P.; BELLUMORI, M.; DALUIO, S.; PARENTI, A.; INNOCENTI, M. What kind of coffee do you drink? An investigation on effects of eight different extraction methods. *Food Research International*, **116**, 1327 – 1335, 2019.

AQUINO, F.J.T.; AUGUSTI, R.; ALVES, J.O.; DINIZ, M.E.R.; MORAIS, S.A.L.; ALVES, B.H.P.; NASCIMENTO, E.A.; SABINO, A.A.; 2014. Direct infusion electrospray ionization mass spectrometry applied to the detection of forgeries: Roasted coffees adulterated with their husks. *Microchemical Journal*, **117**, 127–132.

ARANA, V. A.; MEDINA, J.; ESSEIVA, P.; PAZOS, D.; WIST, J. Classification of Coffee Beans by GC-C-IRMS, GC-MS, and ¹H-NMR. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1–11, 2016. DOI:10.1155/2016/8564584.

ARAÚJO, A. S.; DA ROCHA, L. L.; TOMAZELA, D. M.; SAWAYA, A. C. H. F.; ALMEIDA, R. R.; CATHARINO, R. R.; EBERLIN, M. N. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of beer. *Analyst*, **130**, 884–889, 2005.

ARRIETA, A. A.; ARRIETA, P. L.; MENDONZA, J. M. Analysis of coffee adulterated with roasted corn and roasted soybean using voltammetric electronic tongue. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, **18**(1), 35–41, 2019.

ARYA, M.; RAO, L. J. M. An Impression of Coffee Carbohydrates. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **47**, 51–6, 2007.

ASSIS, C.; PEREIRA, H. V.; AMADOR, V.S.; AUGUSTI, R.; DE OLIVEIRA, L. S.; SENA, M. M. Combining mid infrared spectroscopy and paper spray mass spectrometry in a data fusion model to predict the composition of coffee blends. *Food Chemistry*, **281**, 71–77, 2019.

ASSIS, C.; OLIVEIRA, L.S.; SENA, M.M. Variable Selection Applied to the Development of a Robust Method for the Quantification of Coffee Blends Using Mid Infrared Spectroscopy. *Food Analytical Methods*, **11**(2), 578-588, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ - ABIC. Os primeiros cultivos do café. (2009) Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=38> Acesso em 20/02/20.

ASTM International. ASTM Standard E1655-12: Standard practices for infrared multivariate quantitative analysis; ASTM International: West Conshohocken, PA, 2012.

BABUDRI, F. Novel synthetic approach to (S)-coriolic acid. *Tetrahedron*, **56**(2), 327-331, 2000.

BADMOS, S.; LEE, S.-H.; KUHNERT, N. Comparison and quantification of chlorogenic acids for differentiation of green Robusta and Arabica coffee beans, *Food Research International*, **126**, 108544, 2019.

BALLABIO, D. A MATLAB toolbox for Principal Component Analysis and unsupervised exploration of data structure. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, **149**, 1–9, 2015.

BALLABIO, D.; CONSONNI, V. Classification tools in chemistry. Part 1: linear models PLS-DA. *Analytical Methods*, **5**, 3790-3798, 2013.

BALLESTEROS, L. F.; RAMIREZ, M. J.; ORREGO, C. E.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. *Food Chemistry*, **237**, 623–631, 2017.

BAQUETA M.R.; COQUEIRO A.; MARÇO P.H.; MANDRONE M.; POLI F.; VALDERRAMA P.; Integrated ¹H NMR fingerprint with NIR spectroscopy, sensory properties, and quality parameters in a multi-block data analysis using ComDim to evaluate coffee blends. *Food Chemistry*, **355**, 129618, 2021b.

BAQUETA, M. R.; COQUEIRO, A.; VALDERRAMA, P. Brazilian Coffee Blends: A Simple and Fast Method by Near-Infrared Spectroscopy for the Determination of the Sensory Attributes Elicited in Professional Coffee Cupping. *Journal of Food Science*, **84**, 1247-1255, 2019

BAQUETA, M. R.; COQUEIRO, A.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Quality Control Parameters in the Roasted Coffee Industry: a Proposal by Using MicroNIR Spectroscopy and Multivariate Calibration. *Food Analytical Methods*, **13**, 50-60, 2019

BAQUETA, M. R., COQUEIRO, A., MARÇO, P. H., VALDERRAMA, P. Multivariate classification for the direct determination of cup profile in coffee blends via handheld near-infrared spectroscopy. *Talanta*, **222**, 121526, 2021a.

BARBIN, D. F.; FELICIO, A. L. S. M.; SUN, D. W.; NIXDORF, S. L.; HIROOKA, E. Y. Application of infrared spectral techniques on quality and compositional attributes of coffee: An overview. *Food Research International*, **61**, 23-32, 2014.

BARRIOS-RODRÍGUEZ, Y.; COLLAZOS-ESCOBAR, G.A.; GUTIÉRREZ-GUZMÁN, N. ATR-FTIR for Characterizing and Differentiating Dried and Ground Coffee Cherry Pulp of Different Varieties (*Coffea Arabica* L.). *Engenharia Agrícola*, **41**(1), 70-77, 2021b

BARRIOS-RODRIGUEZ, Y.F.; CALDERON, K.T.S.; HERNÁNDEZ, J.G. Comparison of sensory attributes and chemical markers of the infrared spectrum between defective and non-defective colombian coffee samples, *Coffee Science*, **15**(1), e151659, 1-10, 2020.

BARRIOS-RODRÍGUEZ, Y.F.; ROJAS REYES, C.A.; TRIANA CAMPOS, J.S.; GIRÓN-HERNÁNDEZ, J.; RODRÍGUEZ-GAMIR, J. Infrared spectroscopy coupled with chemometrics in coffee post-harvest processes as complement to the sensory analysis. *LWT*, **145**, 111304, 2021a.

BASRI K. N.; LAILI A. R.; TUHAIME N. A.; HUSSAIN M. N.; BAKAR J.; SHARIF Z.; KHIR, A. M. F.; ZOOLFAKAR A. S. FT-NIR, MicroNIR and LED- MicroNIR for Detection of Adulteration in Palm Oil via PLS and LDA. *Analytical Methods*, **10**, 4143-4151, 2018.

BEC, K.; GRABSKA, J.; HUCK, C. W. Principles and applications of miniaturized near-infrared (NIR) spectrometers. *Chemistry - A European Journal*, **27**(5), 1514-1532, 2020.

BECKER, M.; DEGELMANN, P.; HERDERICH, M. SCHREIER, P.; HUMPF, H.-U. Column liquid chromatography–electrospray ionisation–tandem mass spectrometry for the analysis of ochratoxin. *Journal of Chromatography A*, **818**(2), 260–264, 1998.

BELCHIOR, V.; FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S. Potential of diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy and chemometrics for coffee quality evaluation. *International Journal of Food Engineering*, **2**, 1-8, 2016.

BENES, E.; FODOR, M.; KOVÁCS, S.; GERE, A., Application of detrended fluctuation analysis and yield stability index to evaluate near infrared spectra of green and roasted coffee samples. *Processes*, **8**(8),913, 2020.

BENICÁ, D. B. **Caracterização físico-química e capacidade antioxidante de borras de café oriundas de torras clara e escura e estudo do aproveitamento em muffins**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2019. 89p

BERTONE, E.; VENTURELLO, A.; GIRAUDO, A.; PELLEGRINO, G.; GEOBALDO, F. Simultaneous determination by NIR spectroscopy of the roasting degree and Arabica/Robusta ratio in roasted and ground coffee. *Food Control*, **59**, 683-689, 2016.

BERTRAND, B.; VILLARREAL, D.; LAFFARGUE, A.; POSADA, H.; LASHERMES, P.; DUSSERT, S. Comparison of the effectiveness of fatty acids, chlorogenic acids, and elements for the chemometric discrimination of coffee (*Coffea arabica* L.) varieties and growing origins. *J Agric Food Chem.*, **56**(6), 2273-2280, 2008.

BISPO, M.; BARROS, J.; TOMASINI, D.; PRIMAZ, C.; CARAMÃO, E.; DARIVA, C.; KRAUSE, L. Pyrolysis of Agroindustrial Residues of Coffee, Sugarcane Straw and Coconut-Fibers in a Semi-pilot Plant for Production of Bio-oils: Gas Chromatographic Characterization. *Journal of Earth Science and Engineering*, **6**, 235-244, 2016.

BONA, E.; MARQUETTI, I.; LINK, J.V.; MAKIMORI, G.Y.F.; DA COSTA A. V.; LEMES, A.L.G.; FERREIRA, J.M.G.; SCHOLZ, M.B.S.; VALDERRAMA, P.; POPPI, R.J. Support vector machines in tandem with infrared spectroscopy for geographical classification of green arabica coffee. *LWT - Food Science and Technology*, Part B **76**, 330-336, 2017.

BOREUXA, V.; KUSHALAPPAB, C. G.; VAASTC, P.; GHAZOU, J. Interactive effects among ecosystem services and management practices on crop production: Pollination in coffee agroforestry systems. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **110**, 21, 8387-8392, 2013.

BORGHI F.T.; SANTO, P.C.; SANTOS F.D.; NASCIMENTO, M.H.C.; CORRÊA T.; CESCONETTO, M.; PIRES A.A.; RIBEIRO, A.V.F.N.; LACERDA, V. Jr.; ROMÃO, W.; FILGUEIRA, P. R. Quantification and classification of vegetable oils in extra virgin olive oil samples using a portable near-infrared spectrometer associated with chemometrics. *Microchemical Journal*, **159**, 105544, 2020.

BOSELDMANN, A. S.; DONS, K.; OBERTHUR, T.; OLSEN, C. S.; RAEBILD, A.; USMA, H. The influence of shade trees on coffee quality in small holder coffee

agroforestry systems in Southern Colombia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 129, 253–260, 2009.

BRASIL. Instrução normativa nº8, de 11 de junho de 2003. Regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru.

BRIANDET, R.; KEMSLEY, E. K.; Wilson, R. H. Approaches to Adulteration Detection in Instant Coffees using Infrared Spectroscopy and Chemometrics,. *J Sci Food Agric.*, 71,359-366, 1996.

BRIOSCHI, JR., D.; GUARÇONI, R. C.; DA SILVA, M. C. S.; VELOSO, T. G. R.; KASUYA, M. C. M.; OLIVEIRA, E.C.S.; DA LUZ, J.M. R.; MOREIRA, T.R.; DEBONA, D.G.; PEREIRA, L. L. Microbial fermentation affects sensorial, chemical, and microbial profile of coffee under carbonic maceration. *Food Chemistry*, **342**,128296, 2020.

BRO, R.; SMILDE, A. K. Principal component analysis. *Analytical Methods*, **6**, 2812, 2014.

BRONDI, A.M.; TORRES, C.; GARCIA, J.S.; TREVISAN, M.G. Differential scanning calorimetry and infrared spectroscopy combined with chemometric analysis to the determination of coffee adulteration by corn. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **28**, 1308–1314, 2017.

BROWN, S. C.; KRUPPA, G.; DASSEUX, J. L. Metabolomics applications of FT-ICR MS. *Mass Spectrom. Rev.*, **24**, 223–231, 2005.

BRUM, V. J. **Café conilon em sombreamento com pupunheira**. Dissertação de mestrado. Universidade do Espírito Santo, 2007, 127p.

BURNS, D. T.; WALKER, M. J. Critical Review of Analytical and Bioanalytical Verification of the Authenticity of Coffee. *Journal of AOAC International*, **102**, 1–12, 2019.

BURTON, I.W.; FARINA, C.F.M.; RAGUPATHY, S.; ARUNACHALAM, T.; NEWMASER, S.; BERRUÉ, F. Quantitative NMR Methodology for the

Authentication of Roasted Coffee and Prediction of Blends. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **68**, 49, 14643-14651, 2020.

BYLESJO, M.; RANTALAINEN, M.; CLOAREC, O.; NICHOLSON, J. K.; HOLMES, E.; TRYGG, J. OPLS discriminant analysis: combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification. *Journal of Chemometrics*, **20**, 341–351, 2006.

CAMPS.; C. SIMONÉ, C.; C. GILLI. Assessment of Tomato Quality Using Portable NIR Spectroscopy and PLSR with Wavelengths Selection. In: xxviii International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People. 437-442, 10.17660/ActaHortic.2012.936.58

C. M.; POPPI, R. J. Evaluation of trends in residuals of multivariate calibration models by permutation test. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, **133**, 33–41, 2014.

CAFEICULTURA, 2005 Disponível em <https://revistacafeicultura.com.br/?mat=3904> Acesso em 22/02/20

CAI, T.; TING, H.; JIN-LAN, Z. Novel identification strategy for ground coffee adulteration based on UPLC-HRMS oligosaccharide profiling. *Food Chemistry*, **190**, 1046–1049, 2016.

CAMPANHA, F.G.; DIAS, R.C.E.; BENASSI, M. T. Discrimination of coffee species using kahweol and cafestol: Effects of roasting and of defects. *Coffee Science*, **5**(1), pp. 87-96, 2010.

CARDOSO B. T. Caracterização química e estudo da secagem da borra de café espresso. Universidade Tiradentes, Sergipe, 2013. 65p.

CARDOSO K G V.; POPPI J. R. Non-invasive identification of commercial green tea blends using NIR spectroscopy and support vector machine, *Microchemical Journal*, **164**, 2021.

CARDOSO, I. M.; DER MEER, P. V.; OENEMA, O.; JANSSEN, B. H., KUYPER, T. W. Analysis of phosphorus by ³¹P NMR in Oxisols under agroforestry and conventional coffee systems in Brazil. *Geoderma*, **112**, 51– 70, 2003.

CARVALHO, T. C.; TOSATO, F.; SOUZA, L. M.; SANTOS, H.; MERLO, B. B.; ORTIZ, R. S.; RODRIGUES, R. R. T.; FILGUEIRAS, P. R.; FRANCA, H. S.; AUGUSTI, R.; ROMÃO, W.; VAZ, B. G. Thin layer chromatography coupled to paper spray ionization mass spectrometry for cocaine and its adulterants analysis. *Forensic Sc. Int.*, **262**, 56–65, 2016.

CATANI, R.A.; PELLEGRINO, D.; BERGAMIN FILHO, H. A absorção de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre pelo cafeeiro, Coffee arábica, variedade mundo novo, aos dez anos de idade. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, **22**, 81-93, 1965.

CATELANI, T.A.; SANTOS, J.R.; PÁSCOA, R.N.M.J.; PEZZA, L.^a, PEZZA, H.R.; LOPES, J.A.; Real-time monitoring of a coffee roasting process with near infrared spectroscopy using multivariate statistical analysis: A feasibility study, *Talanta*, **179**, 292-299, 2018.

CAYUELA, J.A.; WEILAND, C. Intact Orange Quality Prediction with Two Portable NIR Spectrometers. *Postharvest Biol. Technol.*, **58**(2), 113-12, 2010.

CENTRO DO COMÉRCIO DE CAFÉ DE VITÓRIA (CCCV). Disponível em <http://www.cccv.org.br/institucional/historia-cafe>. Acessado em 20 de fevereiro de 2020.

CHAPKO, M. J.; SEO, H-S. Characterizing product temperature-dependent sensory perception of brewed coffee beverages: Descriptive sensory analysis, *Food Res Int*, **121**, 612-621, 2018.

CHAULFON, S. M.; FERNANDES, A. P. Efeitos da fermentação na qualidade da bebida do café. *Visão agrícola*, **12**, 105-108, 2013.

CHEAH, W.L.; FANG, M. HPLC-based chemometric analysis for coffee adulteration, *Foods*, **9**(7),9070880, 2020.

chemical ingredients. *Food Chemistry*, 331, 127329, 2020.

CHEN, S.-Y.; CHANG, C.-Y.; OU, C.-S.; LIEN, C.-T. Detection of insect damage in green coffee beans using VIS-NIR hyperspectral imaging. *Remote Sensing*, **12**(15), 2348, 2020

CHEN, X.-M.; XI, X.-L.; PAN, B.-Z.; LIANG, R.-T.; SHAO, S.-P.; LI, S.; HE, J.-Z. Study of the Rapid Identification Method of Coffee Adulteration Based on Near-infrared Spectroscopy. *Modern Food Science and Technology*, **34**(10), 253-257 e 290, 2017.

CLARKE, R. J., VITZTHUM, O.G. Coffee Recent Developments, Osney Mead, Oxford, 2001.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids. In *Coffee 1. Chemistry*; CLARKE, R. J., MACRAE, R.. Elsevier Applied Science: London, **5**, 153-202, 1985.

CLIFFORD, M. N.; JOHNSTON, K. L.; KNIGHT, S.; KUHNERT, N. Hierarchical scheme for LC-MSⁿ identification of chlorogenic acids. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 2900–291, 2003.

CLIFFORD, M. N.; KNIGHT, S.; SURUCU, B.; KUHNERT, N. Characterization by LC-MSⁿ of Four New Classes of Chlorogenic Acids in Green Coffee Beans: Dimethoxycinnamoylquinic Acids, Diferuloylquinic Acids, Caffeoyl-dimethoxycinnamoylquinic Acids, and Feruloyl-dimethoxycinnamoylquinic Acids. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 1957–1969, 2006.

COLE R. B. Some tenets pertaining to electrospray ionization mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, **35**, 763-772, 2000.

CONCEIÇÃO, V. N.; SOUZA, L. M.; MERLO, B. B.; FILGUEIRAS, P. R.; POPPI, R. J.; ROMÃO, W. Estudo do teste de scott via técnicas espectroscópicas: um método alternativo para diferenciar cloridrato de cocaína e seus adulterantes. *Quim. Nova*, **37** (9), 1538-1544, 2014.

CONG, S.; DONG, W.-J.; ZHAO, J.-P.; CHI, X.-X.; CHEN, Z.-H.; JIANG, K.-L.; SHAN, Y.-H. Changing Trend of the Volatile Compounds in Robusta Green Coffee Beans during an Accelerated Storage Analyzed by HS-SPME-GC/MS and

Electronic Nose Technology. *Modern Food Science and Technology*, **36**(7), 250-262, 2020.

CONSONNI, R.; CAGLIANI, L.R.; COGLIATI, C. NMR based geographical characterization of roasted coffee. *Talanta*, **88**, 420-426, 2012.

CORREIA, R. M.; ANDRADE, R. ; TOSATO, F.; NASCIMENTO, M. T.; PEREIRA, L. L.; ARAÚJO, J. B. S.; PINTO, F. E.; ENDRINGER, D. C.; PADOVAN, M. P.; CASTRO, E. V. R.; PARTELLI, F. L.; FILGUEIRAS, P. R.; LACERDA JR, V.; ROMÃO, W. Analysis of Robusta coffee cultivated in agroforestry systems (AFS) by ESI-FT-ICR MS and portable NIR associated with sensory analysis, *Journal of Food Composition and Analysis*, **94**, 103637, 2020.

CORREIA, R. M.; DOMINGOS E.; TOSATO, F.; AQUINO, L. F.; FONTES, A. M.; CÁO, W.; FILGUEIRAS, P. R.; ROMÃO, W. Banknote analysis by portable near infrared spectroscopy. *Forensic Chemistry*, **8**, 57-63, 2018a.

CORREIA, R. M.; DOMINGOS, E.; CÁO, V. M.; ARAUJO, B. R. F.; SENA, S.; PINHEIRO, L. U.; FONTES, A. M.; AQUINO, L. F. M.; FERREIRA, E. C.; FILGUEIRAS, P. R.; ROMÃO, W. Portable near infrared spectroscopy applied to fuel quality control. *Talanta*, **176**, 26-33, 2018.

CORREIA, R. M.; DOMINGOS, E.; TOSATO, F.; SANTOS, N. A.; LEITE, J. A.; SILVA, M.; MARCELO, M. C. A.; ORTIZ, R. S.; FILGUEIRAS, P. R.; ROMÃO, W. Portable near infrared spectroscopy applied to abuse drugs and medicines analyses, *Analytical methods*, **10**(6), 593–603, 2018b.

CORREIA, R. M.; LOUREIRO, L. B.; RODRIGUES, R. R. T.; COSTA, H. B.; OLIVEIRA, B. G.; FILGUEIRAS, P. R.; THOMPSON, C. J.; LACERDA JR, V.; ROMÃO, W. Chemical Profile of Robusta and Arabica Coffee by ESI(-)FT-ICR MS and ATR-FTIR: a Quantitative Approach. *Analytical Methods*, **8**, 7678-7688, 2016.

CORREIA, R. M.; TOSATO, F.; DOMINGOS, E.; RODRIGUES, R. R. T.; AQUINO, L. F. M.; FILGUEIRAS, P. R.; LACERDA JR., V.; ROMÃO, W. Portable

near infrared spectroscopy applied to quality control of Brazilian coffee. *Talanta*, **176**, 59–68, 2018.

COSTA FILHO C. A., POPPI R. J. Algoritmo Genético em química. *Química Nova*, **22**, 405-411, 1999.

COVRE, A. M.; RODRIGUES, W. P.; VIEIRA, H. D.; BRAUN, H.; RAMALHO, J. C.; PARTELLI, F. L. Acúmulo de nutrientes em feijão e frutas irrigadas e não irrigado *Coffea canephora* cv. Conilon. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, **28**(6), 402-409, 2016.

CRAIG, A.P.; BOTELHO, B.G.; OLIVEIRA, L.S.; FRANCA, A.S. Mid infrared spectroscopy and chemometrics as tools for the classification of roasted coffees by cup quality. *Food Chemistry*, **245**, 1052-1061, 2018.

CRUZ, R.; MENDES, E.; TORRINHA, Á.; MORAIS, S.; PEREIRA, J.; BAPTISTA, P.; CASAL, S. Revalorization of spent coffee residues by a direct agronomic approach. *Food Research International*, **73**, 190–196, 2015.

CZECH, H.; HEIDE, J.; EHLERT, S.; KOZIOROWSKI, T.; ZIMMERMANN, R. Smart online coffee roasting process control: Modelling coffee roast degree and brew antioxidant capacity for real-time prediction by resonance-enhanced multi-photon ionization mass spectrometric (REMPI-TOFMS) monitoring of roast gases. *Foods*, **9**(5), 627, 2020

DA SILVA N.C.; CAVALCANTI C.J.; HONORATO F.A.; AMIGO J.M.; PIMENTEL M.F. Standardization from a benchtop to a handheld NIR spectrometer using mathematically mixed NIR spectra to determine fuel quality parameters. *Analytica Chimica Acta*, **954**, 32-42, 2017.

DANIEL, D.; LOPES, F. S.; DOS SANTOS, V. B.; LAGO, C. L. Detection of coffee adulteration with soybean and corn by capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, **243**, 305-310, 2017.

DE ABREU, G. F.; DA ROSA, S. D. V. F.; CIRILLO, M. A.; MALTA, M. R.; CLEMENTE, A. C. S.; BORÉM, F. M., Simultaneous optimization of coffee quality

variables during storage. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*, **21**(1), 56-60, 2017.

DE ALMEIDA, C. M.; PINTO, F. E.; DOS SANTOS, N. A.; DE SOUZA, L. M.; MERLO, B. B. ; THOMPSON, C. J.; ROMÃO, W. Designer drugs analysis by LDI(+), MALDI(+) and MALDI(+) imaging coupled to FT-ICR MS. *Microchemical Journal*, **149**, 104002, 2019.

DE ASSIS M. W.; DE FUSCO D. O.; COSTA R. C.; DE LIMA K. M.; CUNHA JÚNIOR L. C.; TEIXEIRA G. H. DE A. PLS, iPLS, GA-PLS models for soluble solids content, pH and acidity determination in intact dovyalis fruit using near-infrared spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **98**, 5750-5755, 2018.

DE FREITAS, A. F.; NADALETI, D. H. S.; SILVEIRA, H. R. O.; CARVALHO, G. R.; VENTURIN, R. P.; SILVA, V. A. Productivity and beverage sensory quality of arabica coffee intercropped with timber species. *Pesquisa agropecuária brasileira*, **55**, e02240, 2020.

DE LIMA V. B.; SALVA T. DE J. G.; BARBOZA F. R.; ZAGO C. DE M. C., ZANINI B. S. Validação de metodologia analítica para a quantificação de Teobromina em grão cru de café. In: X Simpósio de pesquisa dos Cafés do Brasil, ISSN: 1984-9249, 2019.

DE LIMA, G.F.; ANDRADE, S.A.C.; DA SILVA, V.H. Multivariate classification of UHT Milk as to presence of Lactose using benchtop and portable NIR spectrometers. *Food Analytical Methods*, **11**, 2699-2706, 2018.

DE LUCA, S.; DE FILLIPIS, M.; BUCCI, R.; MAGRÌ, A.D.; MAGRÌ, A.L.; MARINI, F., Characterization of the effects of different roasting conditions on coffee samples of different geographical origins by HPLC-DAD, NIR and chemometrics. *Microchemical Journal*, **129**, 348-361, 2016.

DE MORAIS, T.C.B.; RODRIGUES, D.R.; SOUTO P.C, U.T.; LEMOS, S.G.. A simple voltammetric electronic tongue for the analysis of coffee adulterations. *Food Chemistry*, **273**, pp. 31-38, 2019.

DE ROSSO, M.; COLOMBAN, S.; FLAMINI, R.; NAVARINI, L. UHPLC-ESI-QqTOF-MS/MS characterization of minor chlorogenic acids in roasted coffea arabica from different geographical origin. *Journal of Mass Spectrometry*, **53**(9), 763-771, 2018.

DE SOUZA, A.M.; FILGUEIRAS, P.R.; COELHO, M.R.; FONTANA, A.; WINKLER, T.C.B.; VALDERRAMA, P.; POPPI, R.J. Validation of the near infrared spectroscopy method for determining soil organic carbon by employing a proficiency assay for fertility laboratories. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **24**, 293–303, 2016.

DEFERNEZ, M.; WREN, E; WATSON, A. D.; GUNNING, Y.; COLQUHOUN, I. J.; LE GALL, G.; WILLIAMSON, D.; KEMSLEY, E. K. Low-field ¹H NMR spectroscopy for distinguishing between arabica and robusta ground roast coffees. *Food Chemistry*, **216**, 106-113, 2017.

DELAROZZA, F.; RAKOCEVIC, M.; MALTA, G. B.; SANCHEZ P. M.; BRUNS, R. E.; SCARMINIO, I. S. Factorial design effects of plant density, pattern and light availability on the caffeine, chlorogenic acids, lipids, reducing sugars and ash contents of Coffea arabica L. beans and leaves. *Analytical Methods*, **9**, 3612-3618, 2017.

DIXIT Y.; PHAM H.Q.; REALINI C.E., AGNEW M.P.; CRAIGIE C.R.; REIS M.M. Evaluating the performance of a miniaturized NIR spectrophotometer for predicting intramuscular fat in lamb: A comparison with benchtop and hand-held Vis-NIR spectrophotometers. *Meat Science*, **162**, 108026, 2020.

DOMINGUES, D. S.; PAULI, E. D.; DE ABREU, J. E. M.; MASSURA, F. W.; CRISTIANO, V.; SANTOS, M. J.; NIXDORF, S. L. Detection of roasted and ground coffee adulteration by HPLC and by amperometric and by post-column derivatization UV-Vis detection. *Food Chemistry*, **146**, 353-362 2014.

DOS SANTOS, H.; BOFFO, E. F. O café para além da xícara: técnicas analíticas usadas na investigação da composição química: uma revisão. *Química Nova*, 2019.

DOS SANTOS, H.D.; ALVARENGA, Y.A; BOFFO, E.F. ¹H NMR metabolic fingerprinting of Chapada Diamantina/Bahia (Brazil) coffees as a tool to assessing their qualities. *Microchemical Journal*, **152**,104293, 2020

DOWNEY, G.; BOUSSION, J. Authentication of Coffee Bean Variety by Near-infrared Reflectance Spectroscopy of Dried Extract. *Journal of the Science Food Agriculture*, **71**, 41-49, 1996.

DUANGSODSRI, T.; VILLAIN, L.; VESTALYS, I. R.; MICHALET, S.; ABDALLAH, C.; BREITLER, J. C.; BORDEAUX, M.; VILLEGAS, A. M.; RAHERIMANDIMBY, M.; LEGENDRE, L.; ETIENNE, H.; BERTRAND, B.; CAMPA, C. 5-CQA and Mangiferin, Two Leaf Biomarkers of Adaptation to Full Sun or Shade Conditions in *Coffea arabica* L. *Metabolites*, **10**, 1-22, 2020.

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

EBRAHIMI-NAJAFABADI, H., LEARDI, R., OLIVERI, P., CASOLINO, M. C., JALALI-HERAVI, M., LANTERI, S. Detection of addition of barley to coffee using near infrared spectroscopy and chemometric techniques. *Talanta*, **99**, 175–179, 2012.

ECARNOT, M.; BACZYK, P.; TESSAROTTO, L.; CHERVIN, C. Rapid phenotyping of the tomato fruit model, Micro-Tom, with a portable VIS-NIR spectrometer. *Plant Physiology and Biochemistry*, **70**, 159-163, 2017.

ELHALIS, H.; COX, J.; FRANK, D.; ZHAO, J. The role of wet fermentation in enhancing coffee flavor, aroma and sensory quality. *European Food Research and Technology*, **247**(2), 485-498, 2021.

ELMACI, I.; GOK, E. Effect of three post-harvest methods and roasting degree on sensory profile of Turkish coffee assessed by Turkish and Brazilian panelists. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021. DOI: 10.1002/jsfa.11185

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, (2019). Resultados Pesquisa Cafeeira - Pesquisa_Safra_Cafeeira_2019_CNA.pdf. Disponível em: www.embrapa.br. Acessado em 02 de dezembro de 2020.

ESTEBAN-DIEZ I.; GONZÁLEZ-SÁIZ J.M.; PIZZARO C. An evaluation of orthogonal signal correction methods for the characterisation of *arabica* and *robusta* coffee varieties by NIRS. *Analytica Chimica Acta*, **514** (1), 57-67, 2005.

ESTEBAN, I.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M; PIZARRO, C. Prediction of sensory properties of espresso from roasted coffee samples by near-infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, **525**, 171–182, 2004.

ESTEBAN-DIEZ, I.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M.; SÁENZ-GONZÁLEZ, C.; PIZARRO, C. Coffee varietal differentiation based on near infrared spectroscopy. *Talanta*, **71**, 221–229, 2007.

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

FARAH, A.; MONTEIRO, M.; DONANGELO, C.M.; LAFAY, S. Chlorogenic Acids from Green Coffee Extract are Highly Bioavailable in Humans. *J Nutr.*, **138**(12), 2309-2315, 2008.

FARAH, A.; DE PAULIS, T.; TRUGO, L. C.; MARTIN, P. R. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1505-1513, 2005.

FASSIO, L. H.; DA SILVA, A. E. S. Café Conilon - Importância econômica e social do café Conilon. 2007 Disponível em <http://biblioteca.incaper.es.gov.br> Acessado em 27 de fevereiro de 2020.

FEBVAY, L.; HAMON, E.; Recht, R.; Andres, N.; Vincent, M.; Aoudé-Werner, D.; This, H. Identification of markers of thermal processing (“roasting”) in aqueous

extracts of *Coffea arabica* L. seeds through NMR fingerprinting and chemometrics. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **57**, 9, 589-602, 2019.

FERIA-MORALES A. M. Assessment of Brazilian coffee quality with a near-infrared spectrometer calibrated using sensory evaluation data from an expert coffee taster and a trained panel. *Food Quality and Preference*, **4**(1-2), 85, 1993.

FERRÃO, R. G.; DA FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. **Café Conilon**. 2º Ed. atual. e ampl. 2a reimpressao - Vitoria, ES: Incaper, 2017.

FERREIRA, D. S.; DO AMARAL, J. F. T.; PEREIRA, L. L.; FERREIRA, J. M. S.; GUARÇONI, R. C.; MOREIRA, T. R.; DE OLIVEIRA, A. C.; RODRIGUES, W. N.; DE ALMEIDA, S. L. H.; RIBEIRO, W. R.; TOMAZ, M. A.; CASTANHEIRA, D. T.; LIMA FILHO, T. Physico-chemical and sensory interactions of arabica coffee genotypes in different water regimes. *Journal of Agricultural Science*, **158**, 1-9, 2021.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. *Quím. Nova*, **22**(5), 1999.

FERREIRA, T.; FARAH, A., OLIVEIRA, T.C.; LIMA, I.S.; VITÓRIO, F.; OLIVEIRA, E.M.M. Using Real-Time PCR as a tool for monitoring the authenticity of commercial coffees. *Food Chemistry*, **199**, 433-438, 2016

FIGUEIREDO, L. P.; MEIRA, F. B.; CARMANINI, F. R.; SIMONE, G.; JOSE, H. S. T.; MALTA, M. Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions. *African Journal of Agricultural Research*, **10**(35), 3484-3493, 2015.

FIGUEIREDO, L.P.; BORÉM, F.M.; ALMEIDA, M.R.; OLIVEIRA, L.F.C.; ALVES, A.P.D.C.; SANTOS, C.M.D. Raman spectroscopy for the differentiation of Arabic coffee genotypes. *Food Chemistry*, **288**, 262-267, 2019.

FILHO, J. F. A.; SANTOS, N. A.; BORGES, K. B.; LACERDA JR., VALDEMAR; Romão, W. Fiber Spray Ionization Mass Spectrometry in Forensic

Chemistry - A Screening of Drugs of Abuse and Direct Determination of Cocaine in Urine. *Rapid communications in mass spectrometry*,. **1**, 8747, 2020.

FIORESI, D.B.; PEREIRA, L.L.; OLIVEIRA, E. C. S.; MOREIRA, T.R.; RAMOS, A.C. Mid infrared spectroscopy for comparative analysis of fermented arabica and robusta coffee. *Food Control*, **121**, 107625, 2021.

FLORES-VALDEZ, M.; MEZA-MÁRQUEZ, O.G.; OSORIO-REVILLA, G.; GALLARDO-VELÁZQUEZ, T. Identification and Quantification of Adulterants in Coffee (*Coffea arabica* L.) Using FT-MIR Spectroscopy Coupled with Chemometrics. *Foods*, **9**(7), 851, 2020.

FOLLI G. S.; SOUZA L. M.; ARAÚJO B. Q.; ROMÃO W.; FILGUEIRAS P.R.; Estimating the intermediate precision in petroleum analysis by (±)electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **34**, Suppl (3), 2020 doi:10.1002/rcm.8861

FRANCA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; OLIVEIRA, S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *LWT*, **38**, 709–715, 2005

FRIEDRICH, D. M.; HULSE, C. A.; VON GUNTEN, M.; WILLIAMSON, E. P.; PEDERSON, C. G.; O'BRIEN, N. A. Miniature Near-Infrared Spectrometer for Point-of-Use Chemical Analysis. *Proc. of SPIE.*, 8992, 899203 2014.

DOWNEY, G.; BOUSSION, J.; BEAUCHÊN, D. Authentication of whole and ground coffee beans by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal Near Infrared Spectroscopy*, **2**, 85–92, 1994.

GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z. M.; NAMIESNIK, J. Moving your laboratories to the field – Advantages and limitations of the use of field portable instruments in environmental sample analysis. *Environmental Research*, **140**, 593–603, 2015.

GAO, C.; TELLO, E.; PETERSON, D. G. Identification of coffee compounds that suppress bitterness of brew. *Food Chemistry*, **350**(15), 129225, 2021.

GARCIA, L.M.Z.; PAULI, E.D., CRISTIANO, V., CAMARA, C.A .P.; SCARMINIO, I.S., NIXDORF, S.L.. Chemometric evaluation of adulteration profile in coffee due to corn and husk by determining carbohydrates using HPAEC-PAD. *Journal of Chromatographic Science*, **47**(9), pp. 825-832, 2009.

GARRETT, R.; REZENDE C. M.; IFA, D. R. Coffee origin discrimination by paper spray mass spectrometry and direct coffee spray analysis. *Analytical Methods*, **5**, 5944-5948, 2013.

GARRETT, R.; REZENDE, C. M.; IFA, D. R. Revealing the spatial distribution of chlorogenic acids and sucrose across coffee bean endosperm by desorption electrospray ionization-mass spectrometry imaging. *LWT*, **65**, 711–717, 2016.

GARRETT, R.; SCHMIDT, E. M.; PEREIRA, L. F. P.; KITZBERGER, C. S. G.; SCHOLZ, M. B. S.; EBERLIN, M. N.; REZENDE, C. M. Discrimination of arabica coffee cultivars by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry and chemometrics. *Food Science Technology*, **50**, 496–502, 2013.

GARRETT, R.; VAZ, B. G.; HOVELL, A. M. C.; EBERLIN, M. N.; REZENDE, C. M. Arabica and Robusta Coffees: Identification of Major Polar Compounds and Quantification of Blends by Direct-Infusion Electrospray Ionization–Mass Spectrometry. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **60**, 4253–4258, 2012.

GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial least squares regression (PLS): a tutorial. *Analytica Chimica Acta*, **185**, 1-17, 1986.

GENIS H. E.; DURNA S.; BOYACI I. H. Determination of green pea and spinach adulteration in pistachio nuts using NIR spectroscopy, *LWT*, **136**, Part 1, 2021.

GERBIG, S.; NEESE, S.; PENNER, A.; SPENGLER, B.; SCHULZ, S. Real-Time Food Authentication Using a Miniature Mass Spectrometer. *Analytical Chemistry*, **89**(20), 10717-10725, 2017.

GIACALONE, D.; DEGN, T. K.; YANG, N.; LIU, C.; FISK, I.; MÜNCHOW, M. Common roasting defects in coffee: Aroma composition, sensory characterization and consumer perception. *Food Quality and Preference*, **71**, 463-474, 2019.

GIVENS, D. I., BARBER, W. P. In vivo evaluation of spent coffee grounds as a ruminant feed. *Agricultural Wastes*, **18**, 69–72, 1986.

GLOESS, A.N.; YERETZIAN, C.; KNOCHENMUSS, R.; GROESSL, M. On-line analysis of coffee roasting with ion mobility spectrometry–mass spectrometry (IMS–MS). *International Journal of Mass Spectrometry*, **424**, 49-57, 2018.

GOMES A. A. Algoritmo das projeções sucessivas aplicada à seleção de variáveis em regressão PLS. Dissertação de mestrado. Universidade Federal da Paraíba, 2012. 121p.

GOMES, L. C.; BIANCHI, F. J. J. A.; CARDOSO, I. M.; FERNANDES, R. B. A.; FERNANDES FILHO, E. I.; SCHULTE, R. P. O. Agroforestry systems can mitigate the impacts of climate change on coffee production: A spatially explicit assessment in Brazil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **294**, 106858, 2020.

GOMES, T.; PEREIRA, J. A.; RAMALHOSA, E.; CASAL, S.; BAPTISTA, P. Effect of fresh and composted spent coffee grounds on lettuce growth, photosynthetic pigments and mineral composition. In: VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas, Madrid, 1-5, 2013.

GOMES, W. S.; PARTELLI, F. L.; OLIVEIRA, E. C. S.; FILGUEIRAS, P. R.; DE CASTRO, E. V. R.; MORELI, A. P.; DEBONA, D. G.; MOREIRA, T. M.; ALTOÉ, C. F.; PEREIRA, L. L. ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PARA CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DE CLONES DE *Coffea Canephora*. *Revista Ifes Ciência*, **6**, 3, 35-44, 2020.

GRENHA, P. A. M. Transformações do consumo alimentar na época contemporânea. Universidade de Coimbra. Dissertação de mestrado, 2011, 132p.

GUILLEMOT, J.; LE MAIRE, G.; MUNISHAMAPPA, M.; CHARBONNIER, F.; VAAST, P. Native coffee agroforestry in the Western Ghats of India maintains higher carbon storage and tree diversity compared to exotic agroforestry. *Agriculture, Ecosystems and Environment.*, **265**, 461–469, 2018.

GUNNING, Y.; DEFERNEZ, M.; WATSON, A.D.; BEADMAN, N.; COLQUHOUN, I.J.; LE GALL, G.; PHILO, M.; GARWOOD, H.; WILLIAMSON, D.; DAVIS, A.P.; KEMSLEY, E.K. 16-O-methylcafestol is present in ground roast Arabica coffees: Implications for authenticity testing. *Food Chemistry*, **248**, 52-60, 2019.

HAPPYANA, N.; HERMAWATI, E.; SYAH, Y.M.; HAKIM, E.H. Metabolite profile evaluation of Indonesian roasted robusta coffees by 1h nmr technique and chemometrics. *Indonesian Journal of Chemistry*, **20**(4), 850-857, 2020.

HEIDE, J.; CZECH, H.; EHLERT, S.; KOZIOROWSKI, T.; ZIMMERMANN, R. Toward Smart Online Coffee Roasting Process Control: Feasibility of Real-Time Prediction of Coffee Roast Degree and Brew Antioxidant Capacity by Single-Photon Ionization Mass Spectrometric Monitoring of Roast Gases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **68**(17), 4752-4759, 2020.

HENN R.; SCHWAB A.; HUCK W.C. Evaluation of benchtop versus portable near-infrared spectroscopic method combined with multivariate approaches for the fast and simultaneous quantitative analysis of main sugars in syrup formulations. *Food Control*, **68**, 97-104, 2016.

HOFFMANN E; STROOBANT V. **Mass Spectrometry: Principles and Applications**. 3^o Ed. London, John Wiley & Sons, 85-164, 2007.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. *Princípios de Análise Instrumental*, 6^a ed.; Bookman: Porto Alegre, 2009.

HU, G.; PENG, X.; GAO, Y.; HUANG, Y.; LI, X.; SU, H.; QIU, M. Effect of roasting degree of coffee beans on sensory evaluation: Research from the perspective of major chemical ingredients. *Food chemistry*, 331, 127329, 2020.

HUCK, C. W.; GUGGENBICHLER, W.; BONN, G. K. Analysis of caffeine, theobromine and theophylline in coffee by near infrared spectroscopy (NIRS) compared to high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled to mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, **538**, 195–203, 2005.

ICO (2017) Market Reports, The International Coffee Organisation (ICO), http://www.ico.org/documents_e.asp. Acessado em 06 de Junho de 2018.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, 2003.

ISO International Standard, 2001. Green coffee — Determination of moisture (basic reference method). ISO 1446:2001.

JANISSEN, B.; HUYNH, T. Chemical composition and value-adding applications of coffee industry byproducts: A review. *Resour. Conserv. Recy.* **128**, 110-117, 2018.

JESZTL, B.; BENES, E.L.; FODOR, M. FT-NIR origin identification of coffee samples. *Elelmiszervizsgalati Kozlemenyek*, **65**(1), 2372-2376, 2019.

JHAM, G.N.; BERHOW, M.A.; MANTHEY, L.K.; PALQUIMIST, D.A.; VAUGHN, S.F. The use of fatty acid profile as a potential marker for Brazilian coffee (*Coffea arabica* L.) for corn adulteration. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **19**(8), 1462-1467, 2008.

JOET, T.; LAFFARGUE, A.; DESCROIX, F.; DOULBLEAU, S.; BERTRAND, B.; KOCHKO, A.; DUSSERT, S. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. *Food Chemistry*, **118**, 693–701, 2010.

KARUNA, R.; ECKARDSTEINA, A. V.; RENTSCH, K. M. Dopant assisted atmospheric pressure photoionization (DA-APPI) liquid chromatography–mass spectrometry for the quantification of 27 hydroxycholesterol in plasma. *Journal Chromatography. B*, **877**, 261–268, 2009.

KASEMSUMRAN, S.; THANAPASE, W.; KIATSOONTHON, A. Feasibility of Near-Infrared Spectroscopy to Detect and to Quantify Adulterants in Cow Milk. *Analytical Sciences*, **23**, 907-910, 2007.

KEMSLEY, E. K.; RUAULT, S.; WILSON, R. H. Discrimination between *Coffea arabica* and *Coffea canephora* variant *robusta* beans using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, **54**, 321-326, 1995.

KILL, J. B.; OLIVEIRA, I. F.; TOSE, L. V.; COSTA, H. B.; KUSTER, R. M.; MACHADO, L. F.; CORREIA, R. M.; RODRIGUES, R. R. T.; VASCONCELLOS, G. A.; VAZ, B. G.; ROMÃO, W. Chemical characterization of synthetic cannabinoids by electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry. *Forensic Science International*, **266**, 474–487, 2016.

KIM, S. J.; LEE, S.; BANG, E.; LEE, S.; RHEE, J. K.; NA, Y. C. Comparative evaluation of flavor compounds in fermented green and roasted coffee beans by solid phase microextraction-gas chromatography/mass spectrometry, *Flavour and Fragrance Journal*, **34**, 5, 365-376, 2019.

KLEIN, A. M.; STEFFAN-DEWENTER, I.; BUCHORI, D.; TSCHARNTKE, T. Effects of Land-Use Intensity in Tropical Agroforestry Systems on Coffee Flower-Visiting and Trap-Nesting Bees and Wasps. *Conservation Biology*, **16**(4), 1003–1014, 2002

KLITZE, C. F. Aplicações da espectrometria de massas de altíssima resolução e da mobilidade iônica acoplada a espectrometria de massas em estudos de geoquímica orgânica. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2012, 140p.

KRUG, H.P. Cafés duros. *Revista do Instituto do Café*, Campinas, 37, p.1393--1394, 1940.

KUCHA C.T.; NGADI M.O. *Journal of Food Measurement and Characterization*, **14**, 1105–1115, 2020.

KUMAGAI, M.; OHISA, N.; AMANO, T.; OGAWA, N. 'Canonical Discriminant Analysis of Cadmium Content Levels in Unpolished Rice Using a Portable Near-Infrared Spectrometer. *Anal. Sci.*, **19**(11), 1553-1555, 2003.

LACHENMEIER, D.W.; TEIPEL, J.; SCHARINGER, A.; KUBALLA, T.; WALCH, S.G.; GROSCH, F.; BUNZEL, M.; OKARU, A.O.; SCHWARZ, S. Fully automated identification of coffee species and simultaneous quantification of furfuryl alcohol using NMR spectroscopy. *Journal of AOAC International*, **103**(2), 306-314. 2020.

LAU, B. P.-Y.; SCOTT, P. M.; LEWIS, D. A.; KANHERE, S. R. Quantitative determination of ochratoxin A by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, **35**(1), 23–32, 2000.

LEMOS, M. F.; PEREZ, C.; DA CUNHA, P.H.; FILGUEIRAS, P. R.; PEREIRA, L. L.; FONSECA, A. F. A.; IFA, D. R.; SCHERER, R. Chemical and sensory profile of new genotypes of Brazilian *Coffea canephora*. *Food Chemistry*, **310**, 125850, 2019.

LI, H.; TAKAHASHI, Y.; KUMAGAI, M.; FUJIWARA, K.; KIKUCHI, R.; YOSHIMURA, N.; AMANO, T.; LIN, J.; OGAWA, N. A Chemometrics Approach for Distinguishing Between Beers Using Near Infrared Spectroscopy. *Journal Near Infrared Spectroscopy*, **17**(2), 69-76, 2009.

LI, N.; DONG, J.; DONG, C.; HAN, Y.; LIU, H.; DU, F.; NIE, H. Spatial Distribution of Endogenous Molecules in Coffee Beans by Atmospheric Pressure Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Imaging, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **31**(12), 2503–2510, 2020.

LIU N.; PARRA H.A.; PUSTJENS A.; HETTINGA K.; MONGONDY P.; VAN RUTH S.M. *Talanta*, **184**, 128–135, 2018.

LOPEZ-MARTINEZ, L. X.; OLIART-ROS, R. M.; VALERIO-ALFARO, G.; LEE, C. H.; PARKIN, L. K.; GARCIA, H. S. Antioxidant activity, phenolic compounds and

anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *Lebensm-Wiss Technol.*, **42**, 1187–1192, 2009.

LOVATTI, B. P. O.; NASCIMENTO, M. H. C.; RAINHA, K. P.; OLIVEIRA, E. C. S.; NETO, A. C.; CASTRO, E. V. R.; FILGUEIRAS, P. R. Different strategies for the use of random forest in NMR spectra. *J. Chem.*, 2020. DOI 10.1002/cem.3231

LUNA, A.S.; DA SILVA, A.P.; DA SILVA, C.S.; LIMA, I.C.A.; DE GOIS, J.S. Chemometric methods for classification of clonal varieties of green coffee using Raman spectroscopy and direct sample analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, **76**, 44-50, 2019

MACHEINER L.; SCHMIDT A., SCHREINER M., MAYER H. K. (2019). Green coffee infusion as a source of caffeine and chlorogenic acid. *J. Food Composition and Analysis*, 103307. doi:10.1016/j.jfca.2019.103307

MANZOCCO, L.; CALLIGARIS, S.; MASTROCOLA, D.; NICOLI, M. C.; LERICI, C. R. Microstructure and nutritional. *Trends in Food Science and Technology*. 2000, 340-346.

MARQUETTI, I.; LINK, J.V.; LEMES, A.L.G.; SCHOLZ, M.B.S.; VALDERRAMA, P.; BONA, E. Partial least square with discriminant analysis and near infrared spectroscopy for evaluation of geographic and genotypic origin of arabica coffee. *Computers and Electronics in Agriculture*, **121**, 313-319, 2016.

MARQUEZ, K.P.; MOJICA, R.M. Profiling of the volatile compounds of the different local coffee cultivars through headspace-gas chromatography-mass spectrometry. *Philippine Agricultural Scientist*, **103**(4), 349-356, 2020

MARSHALL, A. G.; HENDRICKSON, C. L.; JACKSON, G. S. Fourier Transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: A primer. *Mass Spectrom. Rev.*, **17**(1), 1-35, 1998.

MARTÍN, M. J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A.G.; VALDENEBRO, M.S.; CAMACHO, M.L. Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffee varieties differentiation. *Talanta*, **54**(2), 291-297, 2001.

MARTINEZ-SAEZ, N.; GARCÍA, A. T.; PÉREZ, I. D.; REBOLLO-HERNANZ, M. MESÍAS, M.; MORALES, F. J.; MARTÍN-CABREJAS, M. A.; DEL CASTILLO, M. D. Use of spent coffee grounds as food ingredient in bakery products. *Food Chemistry*, **216**, 114–122, 2017.

MARTINS, P. M. M.; BATISTA, N. N.; MIGUEL, M. G. C. P.; SIMÃO, J. B. P.; SOARES, J. R.; SCHWAN, R. F. Coffee growing altitude influences the microbiota, chemical compounds and the quality of fermented coffees. *Food Research International*, **129**, 108872, 2020.

MARTINS, V.C.; GODOY, R.L.O.; GOUVEÂ, A.C.M.S.; SANTIAGO, M.C.P.A.; BORGUINI, R.G.; BRAGA, E.C.O.; PACHECO, S.; NASCIMENTO, L.S.M. Fraud investigation in commercial coffee by chromatography. *Food Quality and Safety*, **2**(3), 121-133, 2018.

MARUO, K.; TSURUGI, M.; TAMURA, M.; OZAKI, Y. *In Vivo* Noninvasive Measurement of Blood Glucose by Near-Infrared Diffuse-Reflectance Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, **57**(10), 1236-1244, 2003.

MEDINA, J.; CARO RODRÍGUEZ, D.; ARANA, V. A.; BERNAL, A.; ESSEIVA, P.; WIST, J. Comparison of Attenuated Total Reflectance Mid-Infrared, Near Infrared, and ¹H-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopies for the Determination of Coffee's Geographical Origin. *International Journal of Analytical Chemistry*, **7210463**, 1-8, 2017.

MEES, C.; SOUARD, F.; DELPORTE, C.; DECONINCK, E.; STOFFELEN, P.; STÉVIGNY, C.; KAUFFMANN, J. M.; DE BRAEKELEER, K. Identification of coffee leaves using FT-NIR spectroscopy and SIMCA. *Talanta*, **177**, 4-11, 2018.

MEI, L. H.; OLIVEIRA, N. (2017). Caracterização de um compósito polimérico biodegradável utilizando Poli (ε-caprolactona) e borra de café. *Polímeros*, **27**, 99-109.

MENDES L. C., J. C. F. SANTOS, J. A. CORRÊA, DE ALKIMIM FILHO J. F., DA SILVA D. V. R., DE JESUS L. N., DIBAI W. L. S. Validação de método para

determinação das impurezas cascas e paus em café torrado e moído. *Brazilian Journal of Food Technology*. **19** (2016) 1-7.

MENDONÇA, J. C. F.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. A comparative evaluation of methodologies for water content determination in green coffee. *LWT*, **40**, 1300–1303, 2007.

MENDONÇA, J.C.F., FRANCA, A. S., OLIVEIRA, L. S., NUNES, M. Chemical characterisation of non-defective and defective green arabica and robusta coffees by electrospray ionization-mass spectrometry (ESI-MS). *Food Chemistry*, **111**, 490–497, 2008.

MENEZES Jr, J. B. F. Fraudes do café. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. **12**, 111-114, 1952.

MILANI, M.I.; ROSSINI, E.L.; CATELANI, T.A.; PEZZA, L.; TOCI, A.T., PEZZA, H.R Authentication of roasted and ground coffee samples containing multiple adulterants using NMR and a chemometric approach, *Food Control*, **112**, 107104, 2020.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br> Acessado em 20 de dezembro de 2019.

Ministério da Agricultura, agropecuária e Abastecimento - MAPA Disponível em: http://www.mp.sp.gov.br/portal/page/portal/cao_consumidor/legislacao/leg_produtos_humano/IN-16-2010-MAPA.pdf. Acessado em Julho 2016.

MOLLER, J. K. S.; CATHARINO, R. R.; EBERLIN, M. N. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of whisky:immediate proof of origin and authenticity. *Analyst*, **130**, 890–897, 2005.

MONTEIRO, P.I.; SANTOS, J.S.; BRIZOLA, V.R.A.; PASINI DEOLINDO, C.T.; KOOT, A.; BOERRIGTER-EENLING, R.; VAN RUTH, S.; GEORGOULI, K.; KOIDIS, A.; GRANATO, D. Comparison between proton transfer reaction mass spectrometry and near infrared spectroscopy for the authentication of

Brazilian coffee: A preliminary chemometric study. *Food Control*, **91**, 276-283, 2018.

MORAES . M. C. B.; LAGO, C. L. Espectrometria de Massas com ionização por “electrospray” aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas, *Química Nova*, **26**(4), 556-563, 2003.

MORGANO, M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F.; BRAGAGNOLO, N.; FERREIRA, M. M. C. Determinação de umidade em café cru usando espectroscopia NIR e regressão multivariada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **28**(1), 12-17, 2008.

MOURA, S. C. S. R.; GERMER, S. P. M.; ANJOS, V. D. A.; MORI, E. E. M.; MATTOSO, L. H. C.; FIRMINO, A.; NASCIMENTO, C. J. F. Influência dos Parâmetros de Torração nas Características Físicas, Químicas e Sensoriais do Café Arábica Puro. *Braz. J. Food Technol.*, **10**(1), 17-25, 2007.

MUNIZ, G. I. B.; MAGALHÃES, W. L. E.; CARNEIRO, M. E.; VIANA, L. C. Fundamentos e estado da arte da espectroscopia no infravermelho próximo no setor de base florestal. *Ciência Florestal*, **22**(4), 865-875, 2012.

MUSA A M.; YANG S. Detection and quantification of cow milk adulteration using portable near-infrared spectroscopy combined with chemometrics. *African Journal of Agricultural Research*, **17**(2), 198-207, 2021.

MUSCHLER, R.G. Shade improves coffee quality in a sub-optimal coffee-zone of Costa Rica. *Agrofor. Syst.*, **85**, 131–139, 2001.

MUSSATTO S. I.; MACHADO E. M. S.; MARTINS S.; TEIXEIRA J. A. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, **4**(5), 661–672, 2011.

NASCIMENTO, E. A.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO P. M.; CHANG, R.; MORAIS, S. A. L. Composição química do café conillon em diferentes graus de torração. *Ciência & Engenharia.*, **16**, 17-21, 2007.

NESPER, M.; KUEFFER, C.; KRISHNAN, S.; KUSHALAPPA, C. G.; GHAZOUL, J. Shade tree diversity enhances coffee production and quality in agroforestry systems in the Western Ghats. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **247**, 172–181, 2017.

NEVES, M. D. G.; POPPI, R. J.; SIESLER, H. W. Rapid Determination of Nutritional Parameters of Pasta/Sauce Blends by Handheld Near-Infrared Spectroscopy. *Molecules*, **24**, 3-11, 2019

NOGUEIRA T., D, C.L. Detection of adulterations in processed coffee with cereals and coffee husks using capillary zone electrophoresis. *Journal of Separation Science*, **32**(20), pp. 3507-3511, 2009.

NOPONEN, M. R. A.; HAGGAR, J. P.; EDWARDS-JONES, G.; HEALEY, J. R. Intensification of coffee systems can increase the effectiveness of REDD mechanisms. *Agric. Syst.*, **119**, 1–9, 2013.

NOPONEN, M. R. A.; HEALEY, J. R.; SOTO, G.; HAGGAR, J. P. Sink or source—The potential of coffee agroforestry systems to sequester atmospheric CO₂ into soil organic carbon. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **175**, 60– 68, 2013.

NÚÑEZ, N.; COLLADO, X.; MARTÍNEZ, C.; SAURINA, J.; NÚÑEZ, O. Authentication of the Origin, Variety and Roasting Degree of Coffee Samples by Non-Targeted HPLC-UV Fingerprinting and Chemometrics. Application to the Detection and Quantitation of Adulterated Coffee Samples. *Foods*, **9**, 378, 2020.

NÚÑEZ, N.; MARTÍNEZ, C.; SAURINA, J.; NÚÑEZ, O. High-performance liquid chromatography with fluorescence detection fingerprints as chemical descriptors to authenticate the origin, variety and roasting degree of coffee by multivariate chemometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **101**(1), 65-73, 2021a.

NÚÑEZ, N.; SAURINA, J.; NÚÑEZ, O. Non-targeted HPLC-FLD fingerprinting for the detection and quantitation of adulterated coffee samples by chemometrics. *Food Control*, **124**, 107912, 2021b.

O'BRIEN, N. A.; HULSE, C. A.; FRIEDRICH, D. M.; VAN MILLIGEN, F. J.; VON GUNTEN, M. K.; PFEIFER, F.; SIESLER, H. W. Miniature Near-Infrared (NIR) Spectrometer Engine for Handheld Applications. *Proc. of SPIE.*, **8374**, 837404, 2012.

O'NEIL, A J.; JEE, R.D.; LEE, G.; CHARVILL, A.; MOFFAT, A.C. Use of a Portable near Infrared Spectrometer for the Authentication of Tablets and the Detection of Counterfeit Versions. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **16**(3), 327-333, 2008.

OBEIDAT, S. M.; HAMMOUDEH, A. Y.; ALOMARYB, A. A. Application of ftir spectroscopy for assessment of green coffee beans according to their origin. *Journal of Applied Spectroscopy*, **84**(6), 1051-1055, 2018.

OETTERER M.; D'ARCE M. A. B. R.; SPOTO M. Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos. 1ed. Barueri: Manole, 2006. 632p.

Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. (2016). 20th Edition.

OGAWA, E. M.; COSTA, H. B.; VENTURA, J. A.; CAETANO, L. C.; PINTO, F. E.; OLIVEIRA, B. G.; BARROSO, M. E. S.; SCHERER, R.; ENDRINGER, D.; ROMÃO, W. Chemical profile of pineapple cv. Vitória in different maturation stages using electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **98**(3), 1105–1116, 2018.

OKARU, A.O.; SCHARINGER, A.; DE REZENDE, T.R.; TEIPEL, J.; KUBALLA, T.; WALCH, S.G.; LACHENMEIER, D.W. Validation of a quantitative proton nuclear magnetic resonance spectroscopic screening method for coffee quality and authenticity (NMR coffee screener). *Foods*, **9**(1), 47, 2020.

OKUBO, N.; KURATA, Y. Nondestructive Classification Analysis of Green Coffee Beans by Using Near-Infrared Spectroscopy. *Foods*, **8**(2), 1-7, 2019.

OLIVEIRA, B. G.; TOSATO, F.; FOLLI, G. S.; LEITE, J. A.; VENTURA, JOSÉ A; ENDRINGER, D. C.; FILGUEIRAS, P. R.; Romão, W. . Controlling the quality

of grape juice adulterated by apple juice using ESI(-)FT-ICR mass spectrometry. *Microchemical Journal*, **149**, 104033, 2019.

OLIVEIRA, B.G.; COSTA, H.B.; VENTURA, J.A.; KONDRATYUK, T.P.; BARROSO, M.E.S.; CORREIA, R. M.; PIMENTEL, E.F.; PINTO, F.E.; ENDRINGER, D.C.; ROMÃO, W. Chemical profile of mango (*Mangifera Indica* L.) using *electrospray* Ionisation Mass Spectrometry (ESI MS). *Food Chemistry*, **204**, 37–45, 2016.

OLIVEIRA, C. F. Discrimination of arabica and robusta coffee by near infrared spectroscopy. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **44**, 170-174, 2000.

OLIVEIRA, E. C. S.; GUARÇONI, R. C.; DE CASTRO, E. V. R.; DE CASTRO, M.G.; PEREIRA, L. L. Chemical and sensory perception of robusta coffees under wet processing. *Coffee Science*, **e151672**, 2020.

OLIVEIRA, E. M. M.; FARAH, A.; FREITAS-SILVA, O.; DE SOUZA, A. M.; DOS SANTOS, M. T. F.; SANTIAGO, M. C. P. A. Chapter 105: Overview of currently applied techniques for detection of adulterants in coffee and potential use of DNA-based methods as promising new analytical tools. In: Preedy V. R. (ed.) *Coffee in Health and Disease Prevention*. *Academic Press*,. 953–961, 2015.

OLIVIERI, A. C. Analytical Figures of Merit. Introduction to Multivariate Calibration, 159–177, 2018. doi:10.1007/978-3-319-97097-4_10

ORTIZ, A. L G.; BERTI, F.; SÁNCHEZ, W. S.; NAVARINI, L.; COLOMBAN, S.; CRISAFULLI, P.; FORZATO, C. Distribution of p-coumaroylquinic acids in commercial *Coffea* spp. of different geographical origin and in other wild coffee species. *Food Chemistry*. **286**, 459-466, 2019.

ORTIZ, R. S.; MARIOTTI, K. C.; ROMÃO, W.; EBERLIN, M. N.; LIMBERGER, R. P.; MAYORGA, P. Chemical Fingerprinting of Counterfeits of Viagra and Cialis Tablets and Analogues via Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *American Journal Analytical Chemistry*, **2**, 919-928, 2011.

PAIVA, E. M.; ROHWEDDER, J. J. R.; PASQUINI, C.; PIMENTEL, M. F.; PEREIRA, C. F. Quantification of biodiesel and adulteration with vegetable oils in diesel/biodiesel blends using portable near-infrared spectrometer. *Fuel*, **160**, 57–63, 2015

PARASTARA H.; KOLLENBURG G.; WEESEPOEL Y., DOEL A.; BUYDENS L.; JANSEN J. *Food Control*, **112**, 107149, 2020.

PARTELLI, F.L. **História de Vila Valério – colonização, desenvolvimento e café Conilon**. 1ªed. 2016. 164p.

PARTELLI, F.L.; OLIOSI, G.; DALAZEN, J. R.; DA SILVA, C. A.; VIEIRA, H. D.; ESPINDULA, M. C. Proportion of ripe fruit weight and volume to green coffee: differences in 43 genotypes of *Coffea canephora*. *Agronomy Journal*, 1–9, 2021. DOI: 10.1002/agj2.20617

PASQUINI C. Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives - A review. *Analytica Chimica Acta*, **1026**, 8-36, 2018.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **14**(2), 198-219, 2003.

PAULI, E.D.; BARBIERI, F.; GARCIA, P.S.; MADEIRA, T.B.; ACQUARO JR., V.R.; SCARMINIO, I.S.; DA CAMARA, C.A.P.; NIXDORF, S.L. Detection of ground roasted coffee adulteration with roasted soybean and wheat. *Food Research International*, **61**, 112-119, 2014.

PAULI, E.D.; CRISTIANO, V.; NIXDORF, S.L. Method for determination of carbohydrates employed in the selection of adulterations in coffee. *Quimica Nova*, **34**(4), 689-694, 2011.

PAULINO, G. M.; ALVES B. J. R.; BARROSO, D. G.; URQUIAGA, S.; ESPINDOLA J. A. A. Fixação biológica e transferência de nitrogênio por leguminosas em pomar orgânico de mangueira e graviola. *Pesquisa agropecuária brasileira*, **44**, 12, 1598-1607, 2009.

PAVIA, D.; LAMPMAN, G.; KRIZ, G. **Introdução à Espectroscopia**. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PAZMIÑO-ARTEAGA, J. D.; CHAGOLLA, A.; GALLARDO-CABRERA, C.; RUIZ-MÁRQUEZ, A. F.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A. T.; CAMARGO-ESCALANTE, M. O.; TIESSEN, A.; WINKLER, R. Screening for Green Coffee with Sensorial Defects Due to Aging During Storage by MALDI-ToF Mass Fingerprinting. *Food Analytical Methods*, **12**, 1571–1576, 2019.

PEDERSON, C. G.; FRIEDRICH, D. M.; HSIUNG, C.; VON GUNTEN, M.; O'BRIEN, N. A.; RAMAKER, H. J.; VAN SPRANG, E.; DREISCHOR, M. Pocket-Size Near-Infrared Spectrometer for Narcotic Materials Identification. *Proc. of SPIE*, **9101**, 91010O-1, 2014.

PEREIRA , L. L.; MORELI, A. P.; MOREIRA , T. R.; TEN CATEN, C. S.; MARCATE, J. P. P.; DEBONA, D. G.; GUARÇONI, R. C. Improvement of the Quality of Brazilian Conilon through Wet Processing: A Sensorial Perspective. *Agricultural Sciences*, **10**, 395-411, 2019.

PEREIRA S.V.E.; FERNANDES S.D.D.; ARAÚJO E.C.M.; DINIZ D.G.H.P, MACIEL S.I.M, In-situ authentication of goat milk in terms of its adulteration with cow milk using a low-cost portable NIR spectrophotometer. *Microchemical Journal*, **163**, 2021

PEREIRA, L. L. Novas abordagens para produção de cafés especiais a partir do processamento via-úmida. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017. 197 p.

PEREIRA, L. L.; CARDOSO, W. S.; GUARÇONI, R. C. FONSECA, A. F. A.; MOREIRA, T. R.; TEN CATEN, C. S. The consistency in the sensory analysis of coffee using Q-graders. *European Food Research and Technology*, **243**, 545-1554, 2017.

PEREIRA, L. L.; GUARÇONI, R. C.; CARDOSO, W. S.; TAQUES, R. C.; MOREIRA, T. R.; FERREIRA, S.; SCHWENGBER, C. Influence of Solar Radiation and Wet Processing on the Final Quality of Arabica Coffee. *J. Food*

Qual., **2**, 1-9, 2018a

PEREIRA, L. L.; GUARÇONI, R. C.; DE SOUZA, G. S.; BRIOSCHI JR., B.; MOREIRA, T. R.; TEN CATEN, C. S. Propositions on the Optimal Number of Q-Graders and R-Graders. *Journal of Food Quality*, 1-7, 2018b. DOI:10.1155/2018/3285452.

PEREIRA, L.L.; GUARÇONI, R.C.; PINHEIRO, P.F.; OSÓRIO, V.M.; PINHEIRO, C.A.; MOREIRA, T.R.; TEN CATEN, C.S. New propositions about coffee wet processing: Chemical and sensory perspectives. *Food Chemistry*, **310**, 125943, 2020.

PÉREZ-MARÍN, D.; PAZ, P.; GUERRERO, J. E.; GARRIDO-VARO, A.; SÁNCHEZ, M. T. Miniature handheld NIR sensor for the on-site non-destructive assessment of post-harvest quality and refrigerated storage behavior in plums. *J. Food Eng.*, **99**, 294–302, 2010.

PÉREZ-MARTÍNEZ, M.; SOPELANA, P.; PEÑA. M. P.; CID, C. Effects of refrigeration and oxygen on the coffee brew composition. *European Food Res. Technol.*, **227**(6), 1633-1640, 2008.

PÉREZ-MÍGUEZ, R.; SÁNCHEZ-LÓPEZ, E.; PLAZA, M.; CASTRO-PUYANA, M.; MARINA, M.L. A non-targeted metabolomic approach based on reversed-phase liquid chromatography–mass spectrometry to evaluate coffee roasting process, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **410**(30), 7859-7870, 2018.

PEZZOPANE, J. R. M.; MARSETTI, M. M.; SOUZA, J.M.; PEZZOPANE, J. E. M. Condições microclimáticas em cultivo de café conilon a pleno sol e arborizado com nozeira macadamia. *Ciência Rural*, **40**, 1-7, 2010.

PIZARRO C.; ESTEBAN-DÍEZ I.; GONZALÉZ-SÁIZ J.M. Mixture resolution according to the percentage of *robusta* variety in order to detect adulteration in roasted coffee by near infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, **585** (2), 266-276, 2007a.

PIZARRO C.; ESTEBAN-DÍEZ I.; NISTAL A.J, GONZÁLEZ-SÁIZ A.J. Influence of data pre-processing on the quantitative determination of the ash content and lipids in roasted coffee by near infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, **509**(2), 217-227, 2004.

PIZARRO, C.; ESTEBAN-DÍEZ, I.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M.; FORINA M. Use of near-infrared spectroscopy and feature selection techniques for predicting the caffeine content and roasting color in roasted coffees. *Journal of agricultural and food chemistry*, **55**(18), 7477-7488, 2007b.

PORTALURI, V.; THOMAS, F.; GUYADER, S.; JAMIN, E.; BERTRAND, B.; REMAUD, G.S.; SCHIEVANO, E.; MAMMI, S.; GUERCIA, E.; NAVARINI, L. Limited genotypic and geographic variability of 16-O-methylated diterpene content in *Coffea arabica* green beans. *Food Chemistry*, **329**, 127129, 2020.

PORTELA, N. A.; OLIVEIRA, E. C. S.; NETO, A. C.; RODRIGUES, R. R. T.; SILVA, S. R.C.; CASTRO, E. V. R.; FILGUEIRAS, P. R. *Fuel*, **2016**, 166, 12–18.

PRADANA-LÓPES, S.; PÉREZ-CALABUIG, A.M.; CANCELLIA, J.C.; LOZANO, M. A.; RODRIGO, C.; MENA, M.L.; TORRECILLA, J.S. Deep transfer learning to verify quality and safety of ground coffee. *Food Control*, **122**, 107801, 2021.

PRIMAZ, C.; SCHENA, T.; LAZZARI, E.; CARAMÃO, E.; JACQUES, R. Influence of the temperature in the yield and composition of the bio-oil from the pyrolysis of spent coffee grounds: Characterization by comprehensive two dimensional gas chromatography. *Fuel*, **232**, 572-580, 2018.

PRODOLLIET, J.; BRUELHART, M.; BLANC, M. B.; LELOUP, V.; CHERK, G.; DONNELLY, C.M.; VIANI, R. tem outros autores. Adulteration of soluble coffee with coffee husks and parchments. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, **78**(3), 761-767, 1995.

PubChem - Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acessado em 10 de Janeiro 2021.

REIS N.; FRANCA A.S.; OLIVEIRA L. S. Quantitative evaluation of multiple adulterants in roasted coffee by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS) and chemometrics. *Talanta*, **115**, 563–568, 2013a.

REIS, N. Detecção de adulteração de café torrado e moído com cascas de café e milho por espectroscopia no infravermelho. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, 2012. 123p

REIS, N.; BOTELHO, B.G.; FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S. Simultaneous Detection of Multiple Adulterants in Ground Roasted Coffee by ATR-FTIR Spectroscopy and Data Fusion. *Food Analytical Methods*, **10**, 2700–2709, 2017.

REIS, N.; FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S. Concomitant use of fourier transform infrared attenuated total reflectance spectroscopy and chemometrics for quantification of multiple adulterants in roasted and ground coffee. *Journal of Spectroscopy*, **4974173**, 2016.

REIS, N.; FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S. Discrimination between roasted coffee, roasted corn and coffee husks by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy. *LWT - Food Science and Technology*, **50**(2), 715-722, 2013b.

RIBANI M.; BOTTOLI C. B. G.; COLLINS C. H.; JARDIM I. C. S. F.; MELO L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quimica Nova*, **27**(5), 771-780, 2004.

RIBEIRO, J. P.; VICENTE, E. D.; GOMES, A. P.; NUNES, M. I.; ALVES, C.; TARELHO, L. A. C. Effect of industrial and domestic ash from biomass combustion, and spent coffee grounds, on soil fertility and plant growth: experiments at field conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, **24**, 15270-15277, 2017.

RIBEIRO, J. S.; FERREIRA, M. M. C.; SALVA, T. J. G. Chemometric models for the quantitative descriptive sensory analysis of Arabica coffee beverages using near infrared spectroscopy. *Talanta*, **83**, 1352–1358, 2011.

RIBEIRO, M.V.M.; BORALLE, N.; PEZZA, H.R.; PEZZA, L.; TOCI, A. T. Authenticity of roasted coffee using ^1H NMR spectroscopy, *Journal of Food Composition and Analysis*, **57**, 24-30, 2017.

RICCI, M, S. F.; COCHETO JR., D. G.; ALMEIDA, F. F. D. Condições microclimáticas, fenologia e morfologia externa de cafeeiros em sistemas arborizados e a pleno sol. *Coffee Science*, **8**(3), 379-388, 2013.

RISOLUTI R.; GREGORI A.; SCHIAVONE S.; MATERAZZI S. “Click and Screen” technology for the detection of explosives on human hands by a portable MicroNIR-chemometrics platform. *Analyst*, **90**(7), 4288–4292, 2018.

RISOLUTI, R.; GULLIFA, G.; BATTISTINI, A.; MATERAZZI, S. Monitoring of cannabinoids in hemp flours by MicroNIR/Chemometrics. *Talanta*, **211**, 120672, 2020.

RISOLUTI, R.; GULLIFA, G.; BATTISTINI, A.; MATERAZZI, S. Coupling MicroNIR/Chemometrics for the On-Site Detection of Cannabinoids in Hemp Flours. *Analytical Chemistry*, 2019 doi: 10.20944/preprints201907. 0235.v1.

RISOLUTI, R.; MATERAZZI, S.; TAU, F.; RUSSO, A; ROMOLO, F. S. Towards innovation in paper dating: a MicroNIR analytical platform and chemometrics. *The Analyst*, **143**, 18, 4394-4399, 2018.

ROCHA, M. V. P.; DE MATOS, L.; DE LIMA, L. P.; FIGUEIREDO, P. M. D.; LUCENA, I. L.; FERNANDES, F. A. N.; GONCALVES, L. R. B. Ultrasound-assisted production of biodiesel and ethanol from spent coffee grounds. *Bioresour. Technol.*, **167**, 343–348, 2014.

RODRIGUES, H. L.; DIAS, F. D.; TEIXEIRA N. C. A Origem do Café no Brasil: A Semente Que Veio Para Ficar. *Revista Pensar Gastronomia*, **1**(2), 2015.

ROSA, J.S.D.; FREITAS-SILVA, O.; ROUWS, J.R.C.; MOREIRA, G.D.S.; NOVAES, F.J.M.; AZEVEDO, D.D.A.; SCHWAB, N.; GODOY, R.L.D.O.; EBERLIN, M.N.; REZENDE, C.M.D. Mass spectrometry screening of Arabica

coffee roasting: A non-target and non-volatile approach by EASI-MS and ESI-MS. *Food Research International*, **89**, 967-975, 2016.

RUBAYIZA, A. B.; MEURENS, M. Chemical discrimination of arábica and robusta coffee by Fourier transform Raman spectroscopy. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 4654-4659, 2005.

WOLD, S.; SJOSTROM, M. SIMCA: a method for analyzing chemical data in terms of similarity and analogy. *Chemometrics: Theory and Application*, **52**, 243–282, 1977.

SAFARIK, I.; HORSKA, K.; SVOBODOVA, B.; SAFARIKOVA, M. Magnetically modified spent coffee grounds for dyes removal *Eur. Food Res. Technol.*, **234**, 345–350, 2012.

SAFRIZAL, S.; MARDJAN, S.; P E N, L.; AHMAD, U.; SAMSUDIN, S. Estimation of Sensory Analysis Cupping Test Arabica Coffee Using NIR Spectroscopy. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, **147**, 012008, 2018.

SALAMANCA-NETO, C. A. R.; MARCHEAFAVE, G. G; SCREMIN, J.; BARBOSA, E.C.M.; CAMARGO, P. H. C.; DEKKER, R. F. H.; SCARMÍNIO, I. S.; BARBOSA-DEKKER, A. M.; SARTORI, E. R. Chemometric-assisted construction of a biosensing device to measure chlorogenic acid content in brewed coffee beverages to discriminate quality. *Food Chemistry*, **315**, 126306, 2020.

SÁNCHEZ, M. T.; HABA, M. J. H.; GUERRERO, J. E.; GARRIDO-VARO, A.; PÉREZ-MARÍN, D. Testing of a local approach for the prediction of quality parameters in intact nectarines using a portable NIRS instrument. *Postharvest Biology and Technology*. **60**, 130-135, 2011.

SANTOS D.F.; SANTOS P. L.; DA CUNHA, P.H.; BORGHI, F.T.; ROMÃO W.; CASTRO E.V.R.; DE OLIVEIRA, E.C.; FILGUEIRAS, P.R. Discrimination of oils and fuels using a portable NIR spectrometer. *Fuel*, **283**,118854, 2021.

SANTOS, J. R.; LOPO, M.; RANGEL, A. O. S. S.; LOPES, J. A. Exploiting near infrared spectroscopy as an analytical tool for on-line monitoring of acidity during coffee roasting. *Food Control*, **60**, 408–415, 2016.

SANTOS, J. R.; SARRAGUÇA, M. C.; RANGEL, A. O. S. S.; LOPES, J. A. Evaluation of green coffee beans quality using near infrared spectroscopy: A quantitative approach. *Food Chemistry*, **135**, 1828–1835, 2012.

SANTOS, J.R.; VIEGAS, O.; PÁSCOA, R.N.M.J.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O.; RANGEL, A.O.S.S.; LOPES, J.A., In-line monitoring of the coffee roasting process with near infrared spectroscopy: Measurement of sucrose and colour. *Food Chemistry*, **208**, 103-110, 2016

SANTOS, N. A.; MACRINO, C. J.; A. FILHO, J. F.; GONCALVES, F. F.; ALMEIDA, C. M.; AGOSTINI, F.; GUIZOLFI, T.; MOURA, S.; Junior, V. L. ; FILGUEIRAS, P. R.; ORTIZ, RAFAEL S ; Romão, W. . Exploring the chemical profile of designer drugs by ESI(+) and PSI(+) mass spectrometry - an approach on the fragmentation mechanisms and chemometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, **55**, 4596, 2020.

SANTOS, P. C.; TOSATO, F.; CESCO NETTO, M.; CORRÊA, T.; SANTOS, F.; LACERDA JR. V.; PIRES A.; RIBEIRO, A., FILGUEIRAS, P., ROMÃO, W. Determinação da autenticidade de amostras de azeite comerciais apreendidas no estado do espírito santo usando um espectrofotômetro portátil na região do NIR. *Química Nova*, **43**, 891-900, 2020.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M. J. E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chemistry*, **36**, 1627–1639, 1964.

SCAA - Specialty Coffee Association of America, SCAA Protocols (2014) Disponível em <http://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf> Acessado em 20 de dezembro de 2019.

SCHMIDTI, C. A. P.; MIGLIORANZAI, É.; PRUDÊNCIO, S. H. Interação da torra e moagem do café na preferência do consumidor do oeste paranaense. *Ciência Rural*, **38**(4), 1111-1117, 2008.

SENINDE, D. R.; CHAMBERS, E. I. V.; CHAMBERS, D. Determining the impact of roasting degree, coffee to water ratio and brewing method on the sensory characteristics of cold brew Ugandan Coffee. *Food Research International*, **138**, 2020. In Press.

SEZER, B.; APAYDIN, H.; BILGE, G.; BOYACI, I. H. Coffee arabica Adulteration: Detection of Wheat, Corn and Chickpea. *Food Chemistry*, **264**, 142-148, 2018.

SHARPE, H. Records of the results of microscopical and chemical analyses of the solids and fluids consumed by all classes of the public. Canister Coffee, and its adulterations. *The Lancet*, **57**(1444), 501-506, 1851.

SILVA L.C.R.; FOLLI, G. S.; SANTOS, L. P.; BARROS I.H.A.S.; OLIVEIRA, B. G.; BORGHI F.T.; SANTOS, F.D; FILGUEIRAS, P.R.; ROMÃO W. Quantification of beef, pork, and chicken in ground meat using a portable NIR spectrometer. *Vibrational Spectroscopy*, **111**, 103158, 2020.

SILVA, A.C.R.; DA SILVA, C.C.; GARRETT, R.; REZENDE, C.M. Comprehensive lipid analysis of green Arabica coffee beans by LC-HRMS/MS. *Food Research International*, **137**, 109727, 2020.

SILVA, D.C.; PASTORE, T. C. M.; SOARES, L. F.; BARROS, F.A.S.; BERGO, M. C. J.; CORADIN, V. T. H.; GONTIJO, A. B.; SOSA, M.H.; CHACÓN, C.B.; BRAGA, J. W. B. Determination of the country of origin of true mahogany (*Swietenia macrophylla* King) wood in five Latin American countries using handheld NIR devices and multivariate data analysis. *Holzforschung*, **72**(7), 521-530, 2018.

SILVA, F.B.; TORMENA, C.D.; PAULI, E.D.; DE ALMEIDA, A.G.; BERG, A.B.C.; RAKOCEVIC, M.; BRUNS, R.E.; SCARMINIO, I.S.; MARCHEAFAVE, G.G. Time dependent berry maturation for planting density levels in *Coffea arabica* L. beans: Mixture design-fingerprinting using near-infrared transmittance spectroscopy. *Journal of Food Composition and Analysis*, **97**, 103795, 2021.

SILVA, M. A.; NEBRA, S. A.; SILVA, M. J. M.; SANCHEZ, C. G. The use of biomass residues in the brazilian soluble coffee industry. *Biomass and Bioenergy*, **14**, 457-467, 1998.

SILVA, T.V.; HUBINGER, S.Z.; GOMES NETO, J.A.; MILORI, D.M.B.P.; FERREIRA, E.J.; FERREIRA, E.C. Potential of Laser Induced Breakdown Spectroscopy for analyzing the quality of unroasted and ground coffee, *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, **135**, 29-33, 2017.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Spectrometric identification of organic compounds**, John wiley & Sons: New York, 1991.

SMITH, S.D. Coffee, microscopy, and the Lancet's Analytical Sanitary Commission Social History of Medicine, **14**(2), 171-197, 2001.

SNEE, R. D. Validation of Regression Models: Methods and Examples. *Technometrics*, **19**, 415-428, 1977.

SONG, H. Y.; JANG, H. W.; DEBNAT, T.; LEE, K. Analytical method to detect adulteration of ground roasted coffee. *International Journal of Food Science and Technology*, **54**(1), 256-26, 2018.

SOUTO, U.T.C.P.; BARBOSA, M.F.; DANTAS, H.V.; DE PONTES, A.S.; LYRA, W.S.; DINIZ, P.H.G.D.; DE ARAÚJO, M.C.U., DA SILVA, E.C. Screening for Coffee Adulteration Using Digital Images and SPA-LDA. *Food Analytical Methods*, **8**(6), 1515-1521, 2015.

SOUTO, U.T.C.P.; BARBOSA, M.F.; DANTAS, H.V.; PONTES, A.S.; LYRA, W. S.; DINIZ, P.H.G.D.; DE ARAUJO, M.C.U.; DA SILVA, E.C. Identification of adulteration in ground roasted coffees using UV-Vis spectroscopy and SPA-LDA. *LWT*, **63**(2), 1037-1041, 2015.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. *Quim. Nova*, **35** (1), 223-229, 2012.

SUHANDY, D.; YULIA, M. The Use of Partial Least Square Regression and Spectral Data in UV-Visible Region for Quantification of Adulteration in Indonesian Palm Civet Coffee. *International Journal of Food Science*, 1–7, 2017.

SUHANDY, D.; YULIA, M.; KUROKI, S.; NAKANO, K. The Use of SIMCA Method and NIR Spectroscopy with Hand-Held Spectrometers Equipped with Integrating Sphere for Classification of Two Different Indonesian Specialty Coffees. *J. Phys.: Conf. Ser.*, **1751** 012080, 2021.

SUHANDY, D.; YULIA, M. Authentication of Six Indonesian Ground Roasted Specialty Coffees According to Variety and Geographical Origin using NIR Spectroscopy with Integrating Sphere. International Conference on Science, Infrastructure technology, and Regional development, ID 117, 2020

SUHANDY, D.; YULIA, M.; OGAWA, Y.; KONDO, N. The Detection and Quantification of Adulteration in Ground Roasted Asian Palm Civet Coffee Using Near-Infrared Spectroscopy in Tandem with Chemometrics. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **147**(1), 012011, 2018.

SUN, L.; HSIUNG, C.; PEDERSON, C. G.; ZOU, P.; SMITH, V.; VON GUNTEN, M.; O'BRIEN, N. A. Pharmaceutical Raw Material Identification Using Miniature Near-Infrared (MicroNIR) Spectroscopy and Supervised Pattern Recognition Using Support Vector Machine. *Appl. Spectrosc.*, **70**(5), 816–825, 2016.

SUN, L.; HSIUNG, C.; PEDERSON, C. G.; ZOU, P.; SMITH, V.; VON GUNTEN, M.; O'BRIEN, N. A. Pharmaceutical Raw Material Identification Using Miniature Near-Infrared (MicroNIR) Spectroscopy and Supervised Pattern Recognition Using Support Vector Machine. *Applied Spectroscopy*, **70**(5), 816–825, 2016.

TAHIR H. E.; MAHUNU K. G.; ARSLAN M.; ZHIHUA LI.; WEN Z.; XIAOBO Z, MARIOD A. A.; JIONG S. Feasibility study for the use of colorimetric sensor arrays, NIR and FT-IR spectroscopy in the quantitative analysis of volatile components in honey. *Microchemical Journal*, **160**, Part B, 2021,

TAVARES, K. M.; LIMA, A.R., NUNES, C.A., SILVA, V.A.; MENDES, E.; CASAL,

S., PEREIRA, R.G.F.A.. Free tocopherols as chemical markers for Arabica coffee adulteration with maize and coffee by-products. *Food Control*, **70**,. 318-324, 2016

TAVARES, K. M.; PEREIRA, R.G.F.A.; NUNES, C.A.; PINHEIRO, A.C.M.; RODARTE, M.P. MID-Infrared spectroscopy and sensory analysis applied to detection of adulteration in roasted coffee by addition of coffee husks. *Quimica Nova*, **35**(6), 1164-1168, 2012.

THIEX, N.; RICHARDSON, C. R. Challenges in measuring moisture content of feeds. *J. Anim. Sci.*, **81**, 3255–3266, 2003.

THORNTHWAITE, C. W.; MATHER, J. R. The water balance. In: Publications in climatology. Centerton, NJ: Drexel Institute of Technology, 1955, 104p.

TIBOLA, C. S.; DE MEDEIROS, E. P.; SIMEONE, M. L. F.; OLIVEIRA, M. A. **Espectroscopia no Infravermelho Próximo para Avaliar Indicadores de Qualidade Tecnológica e Contaminantes em Grãos**. 1ª Ed. Brasília: EMBRAPA 2018. 200 p.

TOCI, A.T.; RIBEIRO, M. V. M.; DE TOLEDO, P. R. A. B.; BORALLE, N.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Fingerprint and authenticity roasted coffees by 1H-NMR: the Brazilian coffee case. *Food Science and Biotechnology*, **27**, 19-26, 2018.

TODA, T. A. Minimização de Resíduos do Processamento do Café Solúvel através do Reaproveitamento da Borra para Extração de Óleo utilizando Solvente Renovável. Dissertação de mestrado – USP, 2016. 111p.

TOLEDO, P. R. A. B.; DE MELO, M. M. R.; PEZZA, H. R.; TOCI, A. T.; PEZZA, L.; SILVA, C. M. Discriminant analysis for unveiling the origin of roasted coffee samples: A tool for quality control of coffee related products. *Food Control*, **73**, 164–174, 2017.

TOLEDO, P.R.A.B.; PEZZA, L.; PEZZA, H.R.; TOCI, A.T. Relationship Between the Different Aspects Related to Coffee Quality and Their Volatile

Compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **15**(4), 705-719, 2016.

TOSATO, F.; BARROS, E.B.; CUNHA, D.A.; SANTOS, F.D.; CORRÊA, T.; NUNES, A.; JASTROW, I.; SILVEROL M.A.; PINHEIRO, L.U.; SEABRA, A.C.; FILGUEIRAS P. R.; NETO, A.C.; WANG, L.; FERREIRA, E.C.; ROMÃO W., Análise de amostras de combustíveis por Fotometria, NIR portátil e RMN de ^1H – Uma comparação com os resultados encontrados por técnicas normatizadas. *Quim. Nova*, **43**(2), 155-167, 2020.

TOSATO, F.; CORREIA, R. M.; OLIVEIRA, B. G.; MAZEGA, A.; FRANCA, H.; COLTRO, W. K. T.; FILGUEIRAS, P R.; ROMÃO, W. Paper spray ionization mass spectrometry allied to chemometric tools for quantification of whisky adulteration with additions of sugar cane spirit.. *Analytical Methods*, **10**, 1952-1960, 2018.

TRUGO, C.; MACRAE, R. A. Study of the Effect of Roasting on the Chlorogenic Acid Composition of Coffee Using HPLC L. *Food Chemistry*, **15**, 219-227. 1984

TSUKUI, A.; BRAND, A. L. M.; VENDRAMINI, P. H.; EBERLIN, M. N.; SCHOLZ, M. B. S.; REZENDE, C. M. Abordagem metabolômica: discriminação de tratamento pós colheita de grãos de café verde (*coffea arabica* L.) do paran , IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2015.

TSUKUI, A.; VENDRAMINI, P. H.; GARRETT, R.; SCHOLZ, M. B. S.; EBERLIN, M. N.; BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. Direct-infusion electrospray ionization-mass spectrometry analysis reveals atracyligenin derivatives as potential markers for green coffee postharvest discrimination. *LWT - Food Science and Technology*, **103**, 205–211. 2019.

TUGNOLO, A.; BEGHI, R.; GIOVEZANA, V.; GUIDETTI, R. Characterization of green, roasted beans, and ground coffee using near infrared spectroscopy: A comparison of two devices. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **27**, 2019.

TUMWEBAZE, S. B.; BYAKAGABA, P. Soil organic carbon stocks under coffee agroforestry systems and coffee monoculture in Uganda. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **216**, 188–193, 2016.

UCDA – Uganda Coffee Development Authority, Protocolos para degustação do Robusta (2010), Disponível em <http://dev.ico.org/documents/pscb-123-p-robusta.pdf>. Acessado em 20 de dezembro de 2019.

UKERS, W. H. **All About Coffee**. Inter-American Copyright Union. By Burr Pirnting House. First Edition, 1922.

União Exportadora de Café – UNICAFÉ Disponível em: <http://www.unicafe.com.br/asp/system/empty.asp?P=53&VID=default&SID=695027202288364&S=1&C=22260>. Acessado em 06 de Julho de 2016.

VALENCIA, V.; NAEEM, S.; BARRIOS, L. G.; WEST, P.; STERLING, E. J. Conservation of tree species of late succession and conservation concern in coffee agroforestry systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **219**, 32–41, 2016.

VALENCIA, V.; WEST, P.; STERLING, E. J.; BARRIO, L. G.; NAEEM, S. The use of farmers' knowledge in coffee agroforestry management: implications for the conservation of tree biodiversity. *Ecosphere*, **6**(7), 2015

VAN DYK, S.; MCGLASSON, W. B.; WILLIAM, M.; GAIR, C. Influence of curing procedures on sensory quality of vanilla beans. *Fruits*, **65**(6), 387–399, 2010.

VARMUZA, K. Multivariate Data Analysis in Chemistry. *Handbook of Chemoinformatics*, 1098–1133, 2008.

VAZ, P. M. Proposta de Desenvolvimento de Bioprocesso Integrado para a Valorização da Borra de Café. Monografia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2019. 62p.

VELMOUROUGANE, K. Shade Trees Improve Soil Biological and Microbial Diversity in Coffee Based System in Western Ghats of India. *Proc. Natl. Acad. Sci- Sect. B Biol. Sci.*, **87**, 489-497, 2015.

VERCHOT, L. V.; MACKENSEN, J.; KANDJI, S.; VAN NOORDWIJK, M.; TOMICH, T.; ONG, C.; ALBRECHT, A.; BANTILAN, C.; ANUPAMA, K. V.; PALM, C. Opportunities for linking adaptation and mitigation in agroforestry systems, Center for International Forestry Research (CIFOR), 2005.

VHANITHA, A.; CHINNADURAI, V.; KALIMUTHU, K. A Comparative Study of Phytochemical Constituents of *Benkara malabarica* (Lam.) Leaf and Leaf Callus Extracts. *Int J Pharma Res Health Sci.* **6**(2), 2401-09, 2018.

VIEIRA, H. D.; FERREIRA, A.; PARTELLI, F. L.; VIANA, A. P. Novel approaches for selection of *Coffea canephora* by correlation analysis . *Genetics and Molecular Research*, **18** (1), 2019.

WANG, X.; LIM, L. T.; FU, Y. Review of Analytical Methods to Detect Adulteration in Coffee. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, **103**(2), 1–11, 2019.

WARBURTON P.; BRAWNER J.; MEDER R. Technical Note: Handheld near Infrared Spectroscopy for the Prediction of Leaf Physiological Status in Tree Seedlings. *Journal Near Infrared Spectroscopy*, **22**, 433-438 ,2014.

WATSON, S. A; RAMSTED, P. E. (Ed.). *Corn: chemistry and technology*. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 2005.

WECKERLE, B.; GÁTI, T.; TÓTH, G.; SCHREIER, P. 3-Methylbutanoyl and 3-methylbut-2-enoyl disaccharides from green coffee beans (*Coffea arabica*). *Phytochemistry*, **60**(4), 409–414, 2002.

WIEDAMAIR V.; BIASIO M.; LEITNER R.; BALTHASAR D.; HUCK C.W. *Current Analytical Chemistry*, **14**, 58-67, 2017.

WILLIAMSON, K.; HATZAKIS, E. Evaluating the effect of roasting on coffee lipids using a hybrid targeted-untargeted NMR approach in combination with MRI. *Food Chemistry*, **299**,125039. 2019.

WINKLER, J.K.; BERHOW, M.A.; VAUGHN, S.F. γ -tocopherol as a marker of Brazilian coffee (*Coffea arabica* L.) adulteration by corn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(15), 5995-5999. 2007.

WINKLER-MOSER, J.K.; SINHG, M.; RENNICK, K.A.; BAKOTA, E. L.; JHAM, G.; LIU, S.X.; VAUGHN, S.F. Detection of Corn Adulteration in Brazilian Coffee (*Coffea arabica*) by Tocopherol Profiling and Near-Infrared (NIR) Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63**(49), 10662-10668, 2015.

WOLD, S. Principal Component Analysis. *Chem. Intell. Lab. Syst.*, 2, 37-52, 1987.

WORKMAN, J.; WEYER, L. **Practical Guide to Interpretive Near-Infrared Spectroscopy**, CRC Press:Taylor & Francis Group, 2008.

YAN H.; SIESLER H. W. Quantitative analysis of a pharmaceutical formulation: Performance comparison of different handheld near-infrared spectrometers, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **160**, 179-186, 2018.

YANG, N.; LIU, C.; LIU, X.; DEGN, T.K.; MUNCHOW, M.; FISK, I. Determination of volatile marker compounds of common coffee roast defects. *Food Chemistry*, **211**(15), 206-214, 2016.

YERGENSON, N.; ASTON, D.E. Online determination of coffee roast degree toward controlling acidity. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **28**(4), 175-185, 2020.

YERGENSON, N.; ASTON, D.E. Monitoring coffee roasting cracks and predicting with in situ near-infrared spectroscopy. *Journal of Food Process Engineering*, **43**(2), e13305, 2019.

YEUNG, P. T.; CHUNG, P. Y.; TSANG, H. C.; TANG, J. C. O.; CHENG, G. Y. M.; GAMBARI, R.; CHUI, C. H.; LAM, K. H. Preparation and characterization of bio-safe activated charcoal derived from coffee waste residue and its application for removal of lead and copper ions. *RSC Adv.* **4**, 38839–38847, 2014.

YOSHIOKA, T.; IZUMI, Y.; TAKAHASHI, M.; SUZUKI, K.; MYAMOTO, Y.; NAGATOMI, Y., BAMBA, T. Identification of Acrylamide Adducts Generated during Storage of Canned Milk Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **68**(12), 3859-3867, 2020.

YOU H.; KIM Y.; LEE J.H.; CHOI S. Ninth International Conference on Ubiquitous and Future Networks (ICUFN), Milan, 732-734, 2017.

ZANG X.; LI, W.; YIN, B.; CHEN, W.; KELLY, D. P.; WANG, X.; ZHENG, K.; DU, Y. Improvement of near infrared spectroscopic (NIRS) analysis of caffeine in roasted Arabica coffee by variable selection method of stability competitive adaptive reweighted sampling (SCARS). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **114**, 350–356, 2013.

ZAREEF M.; HASSAN M. M.; ARSLAN M.; AHMAD W.; ALI S.; OUYANG Q.; LI H.; WU X.; CHEN Q. Rapid prediction of caffeine in tea based on surface-enhanced Raman spectroscopy coupled multivariate calibration. *Microchemical Journal*, **159**, 105431, 2020.

ZHANG C.; JIANG H.; LIU F.; HE Y. Application of Near-Infrared Hyperspectral Imaging with Variable Selection Methods to determine and visualize Caffeine content of Coffee beans. *Food Bioprocess Technol.*, **10**(1), 2016.

ZHANG, Y.; HUANG, M.; TIAN, H.; SUN, B.; WANG, J.; LI, Q. Preparation and Aroma Analysis of Chinese Traditional Fermented Flour Paste. *Food Sci. Biotechnol.*, **23**(1), 49–58, 2014.

ZUMBA, J.; RODGERS, J. Cotton Micronaire Measurements Using Small Portable Near-Infrared (NIR) Analyzers. *Applied Spectroscopy*, **70**(5), 794–803, 2016.

ANEXO A. Espécies químicas propostas de ESI(-)FT-ICR MS.

Formula Empírica [M - H] ⁻	m/z Experimental	m/z Teórico	DBE	Erro de Massa	Estrutura proposta	Literatura	Café Robusta (grãos)	
							Inteiros	Moídos
Ácidos graxos								
[C ₇ H ₁₂ O ₆ -H] ⁻	191.05614	191.05614	2	-0.16	Ácido Quínico	Garret <i>et al.</i> (2013a)	X	X
[C ₆ H ₁₂ O ₇ -H] ⁻	195.05102	195.05103	1	0.03	Ácido Glucônico	Bruyn <i>et al.</i> (2017)	X	X
[C ₁₄ H ₂₈ O ₂ -H] ⁻	227.20169	227.20165	1	-0.21	Ácido Mirístico	Martín <i>et al.</i> (2001)		X
[C ₁₅ H ₃₀ O ₂ – H] ⁻	241.21736	241.21730	1	-0.24	Ácido Pentadecanoico	Amaechi <i>et al.</i> (2017); Vanitha <i>et al.</i> <i>al.</i> (2018)		X
[C ₁₆ H ₃₀ O ₂ -H] ⁻	253.21736	253.21730	2	-0.23	Ácido Palmitoleico	-		X
[C ₁₆ H ₃₂ O ₂ -H] ⁻	255.23305	255.23295	1	-0.22	Ácido Palmítico	Garret <i>et al.</i> (2013a);Amorim <i>et al.</i> (2009).		X
[C ₁₈ H ₃₂ O ₂ -H] ⁻	279.23308	279.23295	3	-0.45	Ácido Linoleico	Garret <i>et al.</i> (2013a); Amorim <i>et al.</i> (2009).	X	X
[C ₁₈ H ₃₄ O ₂ -H] ⁻	281.24869	281.24860	2	-0.14	Ácido Oleico	Garret <i>et al.</i> (2013a)		X
[C ₁₈ H ₃₆ O ₂ -H] ⁻	283.26432	283.26425	1	-0.25	Ácido Esteárico	Garret <i>et al.</i> (2013a); Correia <i>et al.</i> (2016)		X
[C ₁₈ H ₃₂ O ₃ -H] ⁻	295.227806	295.22787	3	-0.64	Ácido Coriólico	Babudri <i>et al.</i> (2000)	X	X
[C ₂₀ H ₄₀ O ₂ -H] ⁻	311.29555	311.29555	1	-0.55	Ácido Arquídico	Garret <i>et al.</i> (2013a); Gloess <i>et al.</i> (2018)		X
[C ₁₈ H ₁₇ NO ₅ -H] ⁻	326.10384	326.10384	11	-1.36	p-Coumaroil tirosina or cafeoilfenilalanina	Correia <i>et al.</i> (2016)		X
[C ₁₉ H ₃₈ O ₄ -H] ⁻	329.26987	329.26793	1	-0.40	2-Palmitoilglicerol	-		X

Formula Empírica [M - H] ⁻	m/z Experimental	m/z Teórico	DBE	Erro de Massa	Estrutura proposta	Literatura	Café Robusta (grãos)	
							Inteiros	Moídos
[C ₆ H ₁₂ O ₆ +Cl] ⁻	215.03279	215.03282	0	-0.12	[M + Cl] ⁻ com M= molécula neutra de glicose	Ogawa <i>et al.</i> (2017)	X	X
[C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ -H] ⁻	341.10918	341.10892	2	-0.7	Sacarose	Garret <i>et al.</i> (2013a); Correia <i>et al.</i> (2016)		X
[C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ +Cl] ⁻	377.08589	377.08561	1	-0.73	[M + Cl] ⁻ com M= molécula neutra de Sacarose	Ogawa <i>et al.</i> (2017)	X	X
[C ₂₄ H ₃₈ O ₁₂ +Cl] ⁻	553.20573	553.20573	6	1.18	[M + Cl] ⁻ com M= molécula neutra de Cinnamosida (glicosídeo)	-	X	X
[C ₁₅ H ₂₈ O ₁₄ -H] ⁻	431.14107	431.14063	2	-1.01	Íon de Sacarose e ácido láctico	Ogawa <i>et al.</i> (2017)	X	X
[C ₂₈ H ₄₀ O ₂₀ -H] ⁻	695.2049	695.20402	9	-0.87	Íon de Sacarose e ácido cafeoilquínico	Garret <i>et al.</i> (2013b); Amorim <i>et al.</i> (2009)	X	X
Padrão interno								
[C ₆ H ₅ D ₇ O ₆ -H] ⁻	186.10005	186.10005	1	-0.01	glicose deuterada	Ogawa <i>et al.</i> (2017);	X	X
[C ₆ H ₅ D ₇ O ₆ +Cl] ⁻	222.07678	222.07673	1	0	[M + Cl] ⁻ com M= molécula neutra de glicose deuterada	Ogawa <i>et al.</i> (2017);	X	X

Formula Empírica [M - H] ⁻	m/z Experimental	m/z Teórico	DBE	Erro de Massa	Estrutura proposta	Literatura	Café Robusta (grãos)	
							Inteiros	Moídos
[C ₉ H ₉ D ₇ O ₉ -H] ⁻	274.11609	274.11612	2	-0.10	Íon de glicose deuterada e ácido pirúvico	-	X	X
[C ₉ H ₁₁ D ₇ O ₉ -H] ⁻	276.12183	276.13174	1	-0.33	Íon de glicose deuterada e lactato	-	X	X
[C ₁₂ H ₁₀ D ₁₄ O ₁₂ -H] ⁻	373.20757	373.20737	2	-0.18	[2M - H] ⁻ com M= molécula neutra de glicose deuterada	Oliveira <i>et al.</i> (2016); Ogawa <i>et al.</i> (2017)	X	X
[C ₂₂ H ₃₇ D ₇ O ₈ -H] ⁻	442.34043	442.34028	1	-0.34	Íon de glicose deuterada e ácido palmitico	-	X	X
[C ₂₄ H ₃₇ D ₇ O ₈ -H] ⁻	466.34022	466.34028	3	0.13	Íon de glicose deuterada e ácido linoleico	-	X	X
[C ₂₄ H ₄₁ D ₇ O ₈ -H] ⁻	470.37179	470.37158	1	-0.44	Íon de glicose deuterada e ácido esteárico	-	X	X
[C ₁₈ H ₂₇ D ₇ O ₁₇ -H] ⁻	528.21660	528.21626	3	-0.65	Íon de glicose deuterada e Sacarose	-	X	X
[C ₂₂ H ₂₃ D ₇ O ₁₅ -H] ⁻	540.19542	540.19542	9	-0.15	Íon de glicose deuterada e ácido cafeoilquinico	-	X	X

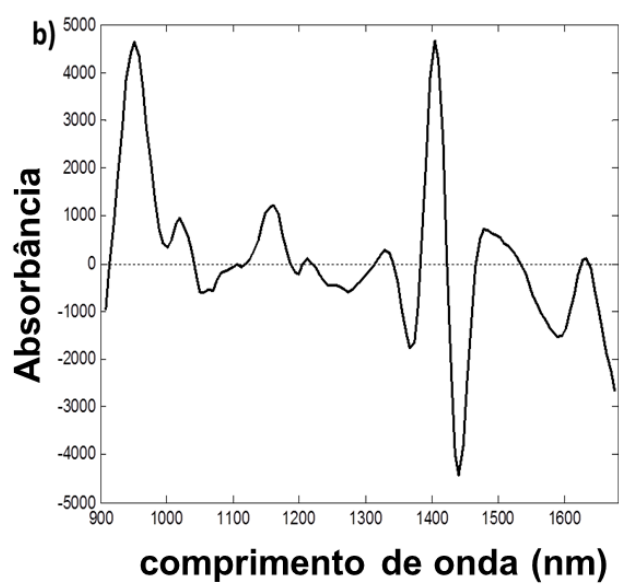
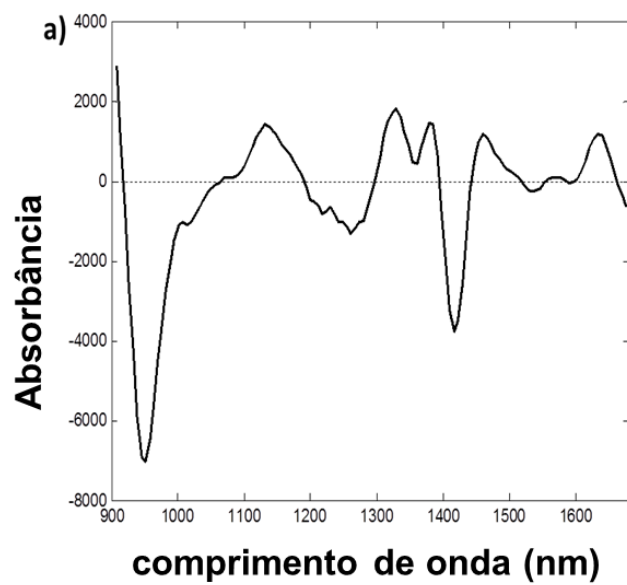
Formula Empírica [M - H] ⁻	m/z Experimental	m/z Teórico	DBE	Erro de Massa	Estrutura proposta	Literatura	Café Robusta (grãos)	
							Inteiros	Moídos
[C ₂₃ H ₂₅ D ₇ O ₁₅ -H] ⁻	554.21131	554.21131	9	-	Íon de glicose deuterada e and ácido feruloilquínico	-	X	X
[C ₃₁ H ₂₉ D ₇ O ₁₈ -H] ⁻	702.22683	702.22697	14	-0.20	Íon de glicose deuterada e ácido dicafeoilquínico	-	X	X
Outros								
[C ₁₄ H ₂₂ O-H] ⁻	205.15979	205.15979	4	-0.03	2,6-Di-tert-butilfenol	-		X
[C ₂₁ H ₄₂ O ₄ -H] ⁻	357.30124	357.30103	1	-0.59	Gliceril monoestereato	-		X
[C ₂₂ H ₄₄ O ₇ -H] ⁻	419.30170	419.30143	1	-0.64	O-Palmitoilhexitol	-		X
[C ₂₉ H ₄₄ O ₂ -H] ⁻	423.32707	423.32685	8	-0.52	Tocoferol	-		X
[C ₂₄ H ₄₈ O ₇ -H] ⁻	447.33298	447.33273	1	-0.57	O-Estearoil-D-Glucitol	-		X
[C ₂₆ H ₃₈ O ₁₁ -H] ⁻	525.23414	525.23414	8	-0.67	Carboxiatractilosideo II	Garret <i>et al.</i> (2013a); Tsukui <i>et al.</i> (2019)	X	X
Não identificado								
[C ₂₇ H ₃₈ O ₂ -H] ⁻	393.27799	393.27990	9	4.87	-	-		X
[C ₂₂ H ₃₆ O ₆ -H] ⁻	395.24416	395.24391	5	-0.64	-	-		X
[C ₃₀ H ₄₂ O ₃ +Cl] ⁻	485.28285	485.28280	9	-0.11	-	-		X
[C ₁₈ H ₃₈ O ₁₈ -H] ⁻	541.19899	541.19854	0	-0.19	-	-	X	X
[C ₃₅ H ₇₀ O ₆ -H] ⁻	585.51017	585.50996	1	-0.35	-	-		X
[C ₃₇ H ₇₄ O ₆ -H] ⁻	613.54162	613.54126	1	-0.59	-	-		X
[C ₂₉ H ₅₀ O ₁₆ -H] ⁻	653.30171	653.30261	5	1.38	-	-		X
[C ₃₇ H ₇₃ NO ₈ -H] ⁻	658.52664	658.52634	2	-0.45	-	-		X
[C ₃₉ H ₇₆ O ₅ +Cl] ⁻	659.53909	659.53868	1	-0.63	-	-		X

ANEXO B. Espécies químicas propostas de ESI(+)FT-ICR MS.

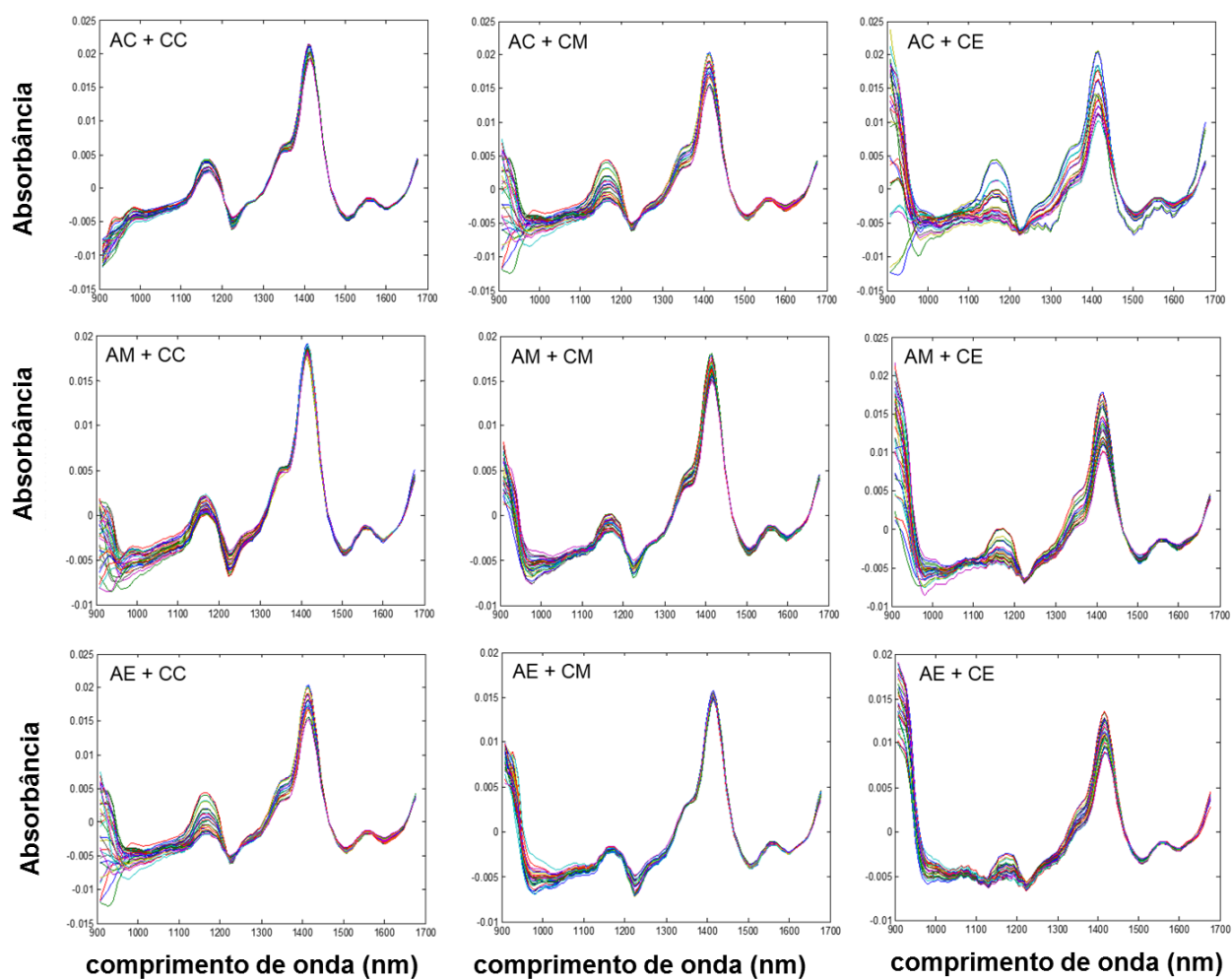
Fórmula Empírica [M + H] ⁺	m/z Experimental	m/z Teórico	DBE	Erro de massa	Estrutura proposta	Literatura	Café Robusta (grãos)	
							Inteiros	Moídos
Metilxantinas								
[C ₇ H ₇ NO ₂ +K] ⁺	176.01081	176.01084	5	0.14	Trigonelina	Garret <i>et al.</i> (2013b)		X
[C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂ +H] ⁺	195.08765	195.08765	5.5	-0.01	Cafeína	Garret <i>et al.</i> (2013b); Amorim <i>et al.</i> (2009)	X	X
Ácidos clorogênicos								
[C ₁₆ H ₁₈ O ₉ +K] ⁺	393.05839	393.05824	8	-0.34	Ácido Cafeoilquínico	Garret <i>et al.</i> (2012); Amorim <i>et al.</i> (2009)		X
[C ₁₅ H ₁₆ O ₁₁ +Na] ⁺	395.05657	395.05848	8	4.85	Cafeoilglucarato	-		X
[C ₂₁ H ₄₂ O ₄ +K] ⁺	397.27149	397.27147	0.5	-0.05	p-Coumaroil tirosina or cafeoilfenilalanina	Farah <i>et al.</i>	X	X
[C ₁₇ H ₂₀ O ₉ +K] ⁺	407.07407	407.07389	8	-0.45	Ácido Feruloilquínico	Garret <i>et al.</i> (2012); Amorim <i>et al.</i> (2009)		X
[C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂ +K]	555.09008	555.08993	14	-0.26	Ácido Dicafeoilquínico	Garret <i>et al.</i> (2012)		X
Açúcares								
[C ₆ H ₁₂ O ₆ +K] ⁺	219.02652	219.02655	1	0.12	Glicose	Amorim <i>et al.</i> (2009); Garret <i>et al.</i> (2013b)		
[C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ +Na] ⁺	365.10556	365.10543	2	-0.29	Sacarose	Garret <i>et al.</i> (2013b)		X
[C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ +K] ⁺	381.07941	381.07937	2	-0.33	Sacarose	Garret <i>et al.</i> (2013b); Amorim <i>et al.</i> (2009)	X	X
Padrão interno								
					[M + Na] ⁺ in wich M= molécula neutra de glicose deuterada		X	X
[C ₆ H ₅ D ₇ O ₆ +Na] ⁺	210.09656	210.09655	0.5	-0.05		-		

Fórmula Empírica [M + H] ⁺	m/z Experimental	m/z Teórico	DBE	Erro de massa	Estrutura proposta	Literatura	Café Robusta (grãos)	
							Inteiros	Moídos
[C ₆ H ₅ D ₇ O ₆ +K] ⁺	226.07049	226.07048	0.5	-0.01	[M + K] ⁺ com M= molécula neutra de glicose deuterada	-	X	X
[C ₁₂ H ₁₀ D ₁₄ O ₁₂ +K] ⁺	413.17783	413.17781	0.5	-0.06	[2M + K] ⁺ com M= molécula neutra de glicose deuterada	-	X	X
[C ₁₂ H ₁₀ D ₁₄ O ₁₂ +Na] ⁺	397.20390	397.20387	0.5	-0.08	[2M + Na] ⁺ com M= molécula neutra de glicose deuterada	-	X	X
Não Identificado								
[C ₁₆ H ₃₅ NO ₂ +H] ⁺	274.27407	274.27406	0	-0.04	-	-	X	X
[C ₁₆ H ₂₂ O ₄ +K] ⁺	317.11509	317.11497	6	-0.39	-	-		X
[C ₁₈ H ₃₉ NO ₃ +H] ⁺	318.30029	318.30027	-0.5	-0.07	-	-	X	X
[C ₂₀ H ₄₃ NO ₄ +H] ⁺	362.32651	362.32649	-0.5	-0.06	-	-	X	X
[C ₁₉ H ₃₈ O ₄ +K] ⁺	369.24029	369.24017	1	-0.33	-	-		X
[C ₂₂ H ₁₇ NO ₃ +K] ⁺	382.08288	382.08400	15	2.93	-	-		X
[C ₂₀ H ₁₄ O ₈ +H] ⁺	383.07763	383.07614	14	-3.89	-	-		X
[C ₂₁ H ₁₂ O ₈ +K] ⁺	431.01431	431.01638	16	4.80	-	-		X
[C ₂₄ H ₃₀ O ₆ +K] ⁺	453.16747	453.16740	9.5	-0.15	-	-	X	X

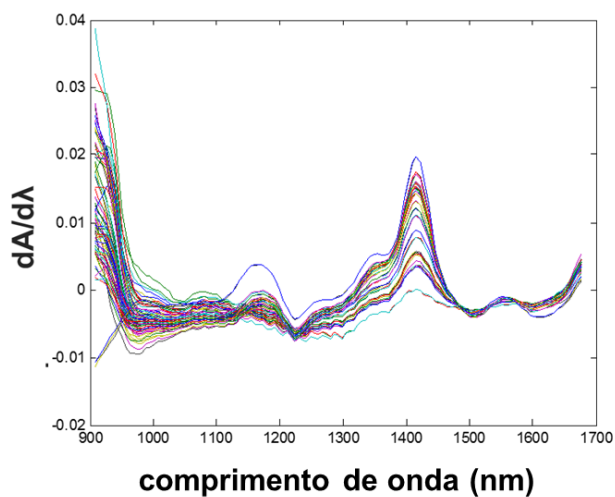
ANEXO C. Gráfico dos coeficientes de regressão do modelo para os *blends* entre café arábica e a) cascas/paus e b) milho.

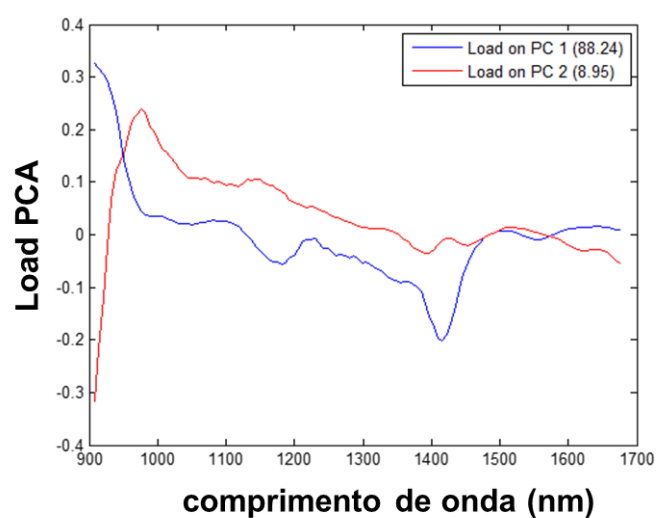


ANEXO D. Espectros das blendas entre café arábica e café Conilon com diferentes níveis de torrefações após a aplicação da primeira derivada.



ANEXO E. Espectro do modelo PCA dos *blends* entre café arábica com cascas/paus e milho, após a aplicação da primeira derivada.



ANEXO F. Gráfico dos *loadings* das *blends* café arábica com cascas/paus e milho.**ANEXO G.** Teor de cascas/paus em café arábica e o desvio padrão das amostras pelo modelo PLS.

Amostras de café comercial	Valores médios	Desvio Padrão
Amostra A	-5,6371	± 15,3449
Amostra B	-14,7878	± 20,3075
Amostra C	-2,4685	± 14,429
Amostra D	-22,3127	± 19,0553
Amostra E	-20,0026	± 15,6224
Amostra F	-24,6414	± 8,9673
Amostra G	-20,7645	± 17,9628
Amostra H	-20,8374	± 12,8272
Amostra I	29,5352	± 29,5352
Amostra J	-22,14	± 21,2561
Amostra K	-22,3865	± 25,7603
Amostra L	-33,6355	± 31,283
Amostra M	-43,245	± 27,0693
Amostra N	-22,5461	± 26,6367
Amostra O	-24,8794	± 24,7001
Amostra P	-20,2644	± 26,7139

ANEXO H. Teor de milho em café arábica e o desvio padrão das amostras pelo modelo PLS.

Amostras de café comercial	Valores médios	Desvio Padrão
Amostra A	-17,5807	± 18,9827
Amostra B	-5,6635	± 24,9144
Amostra C	-18,971	± 16,8037
Amostra D	5,6399	± 20,1815
Amostra E	8,8249	± 10,7951
Amostra F	10,015	± 9,7429
Amostra G	7,944	± 13,3734
Amostra H	8,0227	± 12,4515
Amostra I	16,5899	± 25,9217
Amostra J	10,4251	± 19,5157
Amostra K	20,9543	± 20,9543
Amostra L	21,1839	± 27,7933
Amostra M	24,2943	± 23,2328
Amostra N	11,6144	± 22,2649
Amostra O	14,4866	± 19,6496
Amostra P	10,9797	± 23,3232

ANEXO I. Valores de massa (em mg) de cafés nas amostras comerciais autênticas puras (n=31).

Amostra	Massa total (mg)	Amostra	Massa total (mg)	Amostra	Massa total (mg)
A	1000,1	L	1000,1	W	1000,4
B	1000,1	M	1000,9	X	1000,4
C	1000,3	N	1000,2	Y	1000,2
D	1000,1	O	1000,1	Z	1000,1
E	1000,4	P	1000,1	XA	1000,0
F	1000,3	Q	1000,2	XB	1000,7
G	1000,2	R	1000,9	XC	1000,3
H	1000,4	S	1000,3	XD	1000,3
I	1000,2	T	1000,1	XE	1000,3
J	1000,4	U	1000,2	-	-
K	1000,3	V	1000,2	-	-

ANEXO J. Valores de massa (em mg) de cafés nas amostras comerciais autênticas puras em *blends* (n = 69)

Amostra (I:II)	25 wt% do café I	75 wt% do café II	Massa total (mg)	50 wt% do café I	50 wt% do café II	Massa total (mg)	75 wt% of coffee I	25 wt% do café II	Massa total (mg)
A:B	250,3	752,1	1002,4	500,8	500,1	1000,9	750,9	250,5	1001,4
B:C	250,0	750,0	1000,0	500,4	500,3	1000,7	750,4	250,7	1001,1
N:D	250,5	750,1	1000,6	500,1	500,3	1000,4	750,8	250,7	1001,5
E:C	250,2	750,9	1001,1	500,5	500,8	1001,3	750,7	250,8	1001,5
F:G	250,6	750,4	1001,0	500,4	500,4	1000,8	750,4	250,3	1000,7
H:I	250,4	750,5	1000,9	500,1	500,1	1000,2	750,7	250,2	1000,9
D:J	250,5	750,4	1000,9	500,9	500,6	1001,5	750,7	250,2	1000,9
D:K	250,2	750,7	1000,9	500,8	500,1	1000,9	750,3	250,5	1000,8
E:L	250,1	750,0	1000,1	500,9	500,3	1001,2	750,1	250,6	1000,7
M:N	250,0	750,1	1000,1	500,3	500,9	1001,2	750,0	250,0	1000,0
C:O	250,5	750,3	1000,8	500,6	500,8	1001,4	750,1	250,1	1000,2
B:P	250,0	750,5	1000,5	500,8	500,2	1001,0	750,0	250,0	1000,0
K:N	250,3	750,6	1000,9	500,8	500,4	1001,2	750,3	250,0	1000,3
R:S	250,2	750,4	1000,6	500,4	500,3	1000,7	750,0	250,7	1000,7
J:K	250,2	750,9	1001,1	500,3	500,3	1000,6	750,1	250,3	1000,4
T:U	250,4	750,3	1000,7	500,3	500,0	1000,3	750,7	250,2	1000,9

Y:Z	250,5	750,0	1000,5	500,4	500,0	1000,4	750,8	250,3	1001,1
Z:XA	250,8	750,0	1000,8	500,2	500,8	1000,1	750,2	250,4	1000,6
XB:P	250,9	750,3	1001,2	500,8	500,5	1001,3	750,8	250,1	1000,9
XC:V	250,8	750,9	1001,7	500,7	500,6	1001,3	750,1	250,5	1000,6
O:X	250,4	750,9	1001,3	500,3	500,8	1001,1	750,7	250,2	1000,9
Z:XD	250,8	750,5	1001,3	500,4	500,9	1001,3	750,9	250,3	1001,2
W:XE	250,1	750,9	1000,1	500,5	500,3	1000,8	750,1	250,1	1000,2

ANEXO K. Valores de massa de cafés e borras de café (em mg e wt%), respectivamente, nas amostras comerciais não autênticas (n = 112).

Amostras	Massa do pó de café (em mg)	Massa de borra de café (em mg)	Teor de café (wt%)	Teor de borra de café (wt %)	Amostras	Massa do pó de café (em mg)	Massa de borra de café (em mg)	Teor de café (wt%)	Teor de borra de café (wt %)
A	990,0	10,8	98,9209	1,0791	B	990,2	10,8	98,9211	1,0789
	980,5	20,9	97,9129	2,0871		980,1	20,0	98,0002	1,9998
	950,0	50,0	95,0000	5,0000		950,5	50,5	94,9550	5,0450
	900,8	100,7	89,9451	10,0549		900,5	100,0	90,0050	9,9950
	800,9	200,6	79,9700	20,0300		800,1	200,3	79,9780	20,0220
	500,1	500,1	50,0000	50,0000		500,3	500,0	50,0150	49,9850
	0	1000,9	0	100		0	1000,2	0	100
D	990,1	10,6	98,9407	1,0593	F	990,6	10,9	98,9116	1,0884
	980,9	20,7	97,9333	2,0667		980,6	20,0	98,0012	1,9988

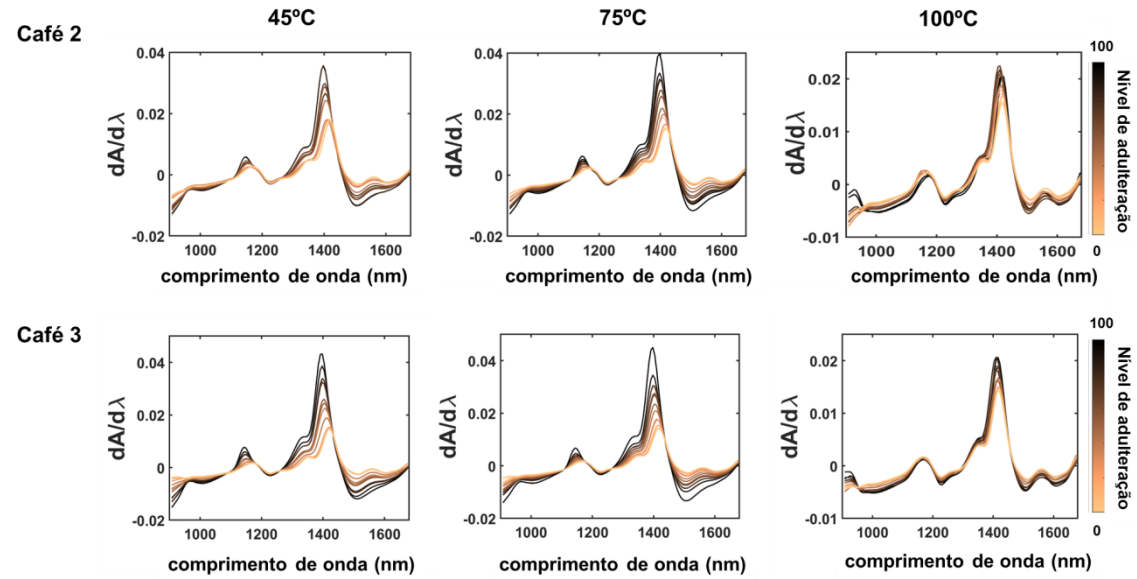
H	950,6	50,8	94,9271	5,0729	I	950,0	50,4	94,9620	5,0380
	900,7	100,0	90,0070	9,9930		900,9	100,0	90,0090	9,9910
	800,6	200,4	79,9800	20,0200		800,9	200,5	79,9780	20,0220
	500,5	500,0	50,0250	49,9750		500,2	500,1	49,9950	50,0050
	0	1000,7	0	100		0	1000,8	0	100
	990,9	10,7	98,9317	1,0683		990,9	10,2	98,9811	1,0189
	980,4	20,6	97,9421	2,0579		980,8	20,2	97,9820	2,0180
	950,3	50,8	94,9256	5,0744		950,4	50,7	94,9356	5,0644
	900,5	100,3	89,9780	10,0220		900,7	100,7	89,9441	10,0559
	800,0	200,4	79,9680	20,0320		800,0	200,9	79,9281	20,0719
	500,3	500,5	49,9900	50,0100		500,9	500,4	50,0250	49,9750
	0	1000,9	0	100		0	1000,9	0	100

K	990,9	10,2	98,9811	1,0189	L	990,6	10,6	98,9413	1,0587
	980,5	20,5	97,9520	2,0480		980,0	20,3	97,9706	2,0294
	950,0	50,2	94,9810	5,0190		950,6	50,0	95,0030	4,9970
	900,3	100,0	90,0030	9,9970		900,0	100,8	89,9281	10,0719
	800,1	200,1	79,9940	20,0060		800,2	200,1	79,9960	20,0040
	500,1	500,5	49,9800	50,0200		500,00	500,0	50,0000	50,0000
	0	1000,4	0	100		0	1000,9	0	100
N	990,4	10,8	98,9213	1,0787	P	990,5	10,2	98,9807	1,0193
	980,3	20,0	98,0006	1,9994		980,4	20,1	97,9910	2,0090
	950,4	50,0	95,0020	4,9980		950,6	50,3	94,9745	5,0255
	900,5	100,3	89,9780	10,0220		900,8	100,2	89,9900	10,0100
	800,4	200,7	79,9521	20,0479		800,8	200,2	80,0000	20,0000

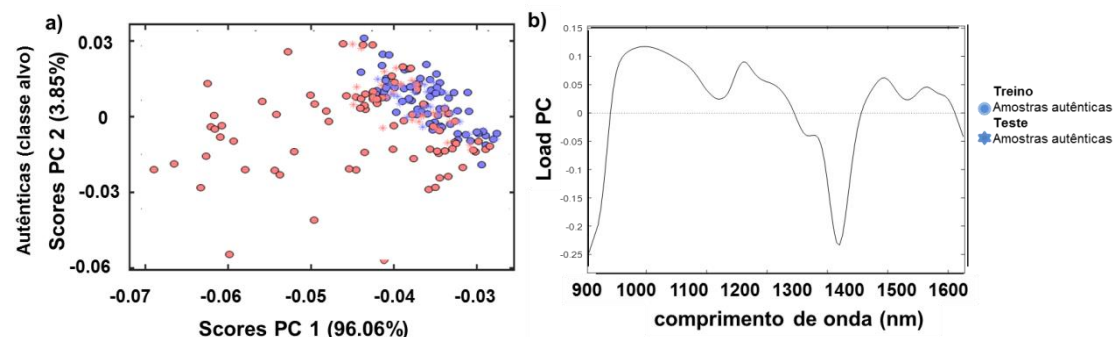
Q	500,8	500,2	50,0300	49,9700	V	500,4	500,4	50,0000	50,0000
	0	1000,0	0	100		0	1000,7	0	100
	990,7	10,0	99,0007	0,9993		990,0	10,1	98,9901	1,0099
	980,3	20,3	97,97122	2,0288		980,3	20,3	97,9810	2,0190
	950,6	50,3	94,9745	5,0255		950,4	50,3	94,9735	5,0265
	900,5	100,4	89,9690	10,0310		900,0	100,7	89,9370	10,0630
	800,3	200,8	79,9421	20,0579		800,0	200,1	79,9920	20,0080
	500,1	500,1	50,0000	50,0000		500,8	500,3	50,0250	49,9750
	0	1000,0	0	100		0	1000,6	0	100
	990,0	10,1	98,9901	1,0099		990,6	10,4	98,9610	1,0390
W	980,9	20,9	97,9138	2,0862	X	980,4	20,4	97,9616	2,0384
	950,7	50,0	95,0035	4,9965		950,5	50,3	94,9740	5,0260

Y	900,8	100,8	89,9361	10,0639	Z	900,8	100,5	89,9630	10,0370
	800,2	200,9	79,9321	20,0679		800,1	200,2	79,9860	20,0140
	500,0	500,1	49,9950	50,0050		500,8	500,2	50,0300	49,9700
	0	1000,7	0	100		0	1000,3	0	100
	990,0	10,3	98,9703	1,0297		990,3	10,3	98,9706	1,0294
	980,1	20,4	97,9610	2,0390		980,3	20,6	97,9419	2,0581
	950,4	50,0	95,0020	4,9980		950,3	50,0	95,0015	4,9985
	900,4	100,1	89,9950	10,0050		900,4	100,0	90,0040	9,9960
	800,9	200,3	79,9940	20,0060		800,4	200,7	79,9521	20,0479
	500,0	500,7	49,9650	50,0350		500,0	500,7	49,9650	50,0350
	0	1000,4	0	100		0	1000,3	0	100

ANEXO L. Espectros MicroNIR, após pré-tratamento, para os cafés 2 e 3 adulterados com borra de café, em função da temperatura de secagem.



ANEXO M. Gráfico dos a) scores e b) *loadings* do modelo SIMCA para a classe alvo (amostras autênticas) analisadas por microNIR.



ANEXO N. Valores de predição (em wt%) do modelo PLS para amostras comerciais autênticas (n=100).

Amostras	Valores de predição (em wt%)	Amostras	Valores de predição (em wt%)	Amostras	Valores de predição (em wt%)
1	-9,7	35	-2,3	69	-8,8
2	-6,9	36	-8,5	70	2,9
3	-28,2	37	-15,3	71	-1,2
4	-7,2	38	-1,8	72	-8,2
5	-11,4	39	5,0	73	-5,0
6	-28,4	40	-8,8	74	-1,4

7	-12,3	41	-8,0	75	-0,9
8	-31,3	42	-11,4	76	-13,0
9	-14,1	43	-1,2	77	-5,1
10	-9,3	44	-12,0	78	-3,6
11	-8,8	45	-6,5	79	-20,7
12	-14,9	46	-7,2	80	-12,3
13	-13,0	47	-12,7	81	-23,5
14	-29,1	48	-3,7	82	-17,3
15	-15,0	49	-2,3	83	-4,8
16	-16,9	50	-4,5	84	-0,1
17	-1,7	51	-9,1	85	-6,7
18	-5,0	52	-21,8	86	-6,8
19	-8,1	53	-11,2	87	-18,2
20	-7,4	54	-7,2	89	-5,3
21	-3,1	55	-1,2	89	-7,4
22	0,4	56	-1,0	90	-4,4
23	-3,5	57	-11,0	91	1,5
24	-8,6	58	-7,2	92	-8,8
25	-5,2	59	-2,3	93	-3,4

26	-1,7	60	-2,4	94	-5,3
27	-11,2	61	-4,4	95	-19,2
28	-5,0	62	-10,4	96	-8,1
29	-14,5	63	-10,4	97	1,9
30	-25,6	64	6,5	98	-10,0
31	-19,0	65	-2,7	99	-7,3
32	-13,0	66	-8,2	100	-29,8
33	-1,5	67	-2,6	-	-
34	-8,2	68	-5,2	-	-

ANEXO O. Valores de referência e predição (em wt%) do modelo PLS amostras comerciais não autênticas.

Amostra comercial	Valores de referência (em wt%)	Valores de predição (em wt%)	Amostra comercial	Valores de referência (em wt%)	Valores de predição (em wt%)
A	1	-7,8	B	1	-24,0
	2	-9,0		2	-20,0
	5	2,2		5	-26,7
	10	0,7		10	-18,8
	20	9,9		20	-11,8
	50	10,2		50	23,2

D	100	57,3	F	100	68,3
	1	-8,3		1	3,3
	2	-6,7		2	9,6
	5	18,0		5	0,5
	10	-3,1		10	12,9
	20	1,5		20	4,5
	50	25,9		50	38,3
	100	75,4		100	65,6
H	1	9,6	I	1	-11,9
	2	2,6		2	-10,5
	5	5,0		5	-9,4
	10	2,8		10	-10,8
	20	7,8		20	-4,7
	50	21,0		50	18,1
	100	66,8		100	66,3
K	1	-3,6	L	1	1,4
	2	-5,2		2	-14,6
	5	0,6		5	-8,2
	10	10,9		10	3,5

N	20	28,4	P	20	-4,5
	50	58,1		50	24,4
	100	85,6		100	86,9
	1	-22,1		1	-13,0
	2	-20,9		2	-14,6
	5	-4,7		5	-10,5
	10	2,2		10	-7,4
	20	-9,4		20	-2,1
	50	28,1		50	29,3
	100	52,1		100	86,7
Q	1	2,5	V	1	3,2
	2	-22,9		2	2,3
	5	-21,1		5	10,5
	10	12,2		10	8,0
	20	19,5		20	18,9
	50	54,2		50	53,5
	100	61,0		100	87,7
W	1	5,0	X	1	-10,3
	2	4,5		2	-13,6

Y	5	7,2	Z	5	-11,4
	10	10,0		10	0,6
	20	24,6		20	3,1
	50	40,1		50	32,9
	100	87,9		100	73,6
	1	-5,1		1	-0,9
	2	-8,1		2	-3,7
	5	-1,4		5	4,6
	10	0,8		10	5,1
	20	17,3		20	9,4
	50	59,2		50	23,4
	100	88,6		100	96,4