

**INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CENTRO DE CIÊNCIA E QUALIDADE DE ALIMENTOS**

**VALENTINA CHAVES TOGNOCCHI**

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FURÂNICOS POR MHS-SPME/GC-MS E  
OS IMPACTOS DO PROCESSO DE TORRA EM VARIEDADES DE CAFÉ**

**CAMPINAS**

**2023**



**VALENTINA CHAVES TOGNOCCHI**

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FURÂNICOS POR MHS-SPME/GC-MS E  
OS IMPACTOS DO PROCESSO DE TORRA EM VARIEDADES DE CAFÉ**

*Dissertação apresentada ao Instituto de  
Tecnologia de Alimentos para obtenção do  
título de Mestre em Ciência e Tecnologia  
de Alimentos.*

Aluno: Valentina Chaves Tognocchi  
Orientador: Silvia Amélia Verdiani Tfouni  
Co-orientador: Wellington Oliveira da Silva

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação defendida pelo aluno  
Valentina Chaves Tognocchi e orientada pelo Prof(a). Dr(a). Silvia Amélia Verdiani  
Tfouni

**CAMPINAS  
2023**

**Agência(s):** O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

**Nº do proc.:**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Bibliotecária Lucilene Paulina da Silva CRB/8 - 8507  
Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL

T645d Tognocchi, Valentina Chaves

Determinação de compostos furânicos por MHS-SPME/GC-MS e os impactos do processo de torra em variedades de café. / Valentina Chaves Tognocchi. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, SP: Ital, 2023.

109 f.

Orientadora: Dra. Sílvia Amélia Verdiani Tfouni  
Co-orientador: Dr. Wellington Oliveira da Silva

1. Café. 2. Compostos Furânicos. 3. Torra. 4. GC-MS. 5. MHS-SPME. I. Instituto de Tecnologia de Alimentos (Ital). Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos (CCQA). II. Tognocchi, Valentina Chaves. III. Título.

**Título em inglês: Determination of furanic compounds by MHS-SPME/GC-MS and the impacts of the roasting process on coffee varieties**

**Key-words: coffee; gc-ms; furan; furanic compounds; mhs**

**Titulação: Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**Banca Examinadora: Sílvia Amélia Verdiani Tfouni, Milene Teixeira Barcia, Aline de Oliveira Garcia, Eduardo Vicente**

**Data da Defesa: 27/07/2023**

**Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

## **BANCA EXAMINADORA**

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida por Valentina Chaves Tognocchi, aprovada pela Comissão Julgadora em 27/07/2023.

---

Profa. Dra. Silvia Amélia Verdiani Tfouni  
CCQA - (Presidente)

---

Prof. Dr. Wellington Oliveira da Silva  
CCQA - (co-orientador)

---

Dra. Milene Teixeira Barcia  
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) (titular)

---

Dra. Aline de Oliveira Garcia  
Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) (titular)

---

Dr. Eduardo Vicente  
Instituto de Tecnologia de Alimentos (suplente)

A ata de defesa de dissertação de mestrado com as respectivas assinaturas dos membros da banca encontra-se arquivada junto à documentação do aluno.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, que sempre me apoiou e me encorajou durante todas as etapas do mestrado.



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu pai por sempre me ensinar a buscar a solução das coisas, mesmo quando elas parecem não existir.

À minha mãe por me ajudar a enxergar tudo com mais alegria e otimismo.

Ao meu padrasto pelo constante apoio e incentivo.

Ao meu irmão por alegrar meus dias.

Aos meus avós por todo o suporte e amor.

Ao meu namorado Danilo por toda a paciência, parceria e incentivo.

À minha amiga Jóice por ter vivido comigo todas as etapas desse processo.

A todos os meus amigos e toda a minha família por sempre estarem ao meu lado e nunca terem deixado de acreditar em mim.

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) e ao Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos (CCQA) pela oportunidade de realizar este trabalho e por toda a colaboração. Agradeço a todos os funcionários, em especial Dilva e Michele, que sempre me ajudaram quando precisei.

À Profa. Dra. Silvia Amélia Verdiani Tfouni, minha orientadora, pela compreensão, disponibilidade, paciência e apoio durante esses anos.

Ao Prof. Dr. Wellington de Oliveira da Silva, meu co-orientador, pela paciência e acolhimento, que, mesmo do outro lado do mundo, sempre me ajudou e me orientou durante todas as fases do mestrado.

À Profa. Dra. Aline Garcia de Oliveira por sempre me receber com um sorriso no rosto e uma frase otimista de incentivo, pela atenção e acolhimento.

Ao Prof. Dr. Eduardo Vicente pela paciência e disponibilidade, por me ensinar tanto sobre cromatografia e por me acalmar nos momentos de desespero, sempre me mostrando caminhos alternativos.

Aos docentes que me ensinaram tanto e contribuíram para essa trajetória.



## RESUMO

O Brasil é o maior produtor e exportador de café no mundo, e o segundo maior consumidor do produto. Apesar de ser diretamente associado à qualidade do produto, o processo de torra pode gerar compostos nocivos à saúde como os derivados furânicos. O presente estudo teve como objetivo avaliar como a torra impacta em diferentes parâmetros de qualidade do café: parâmetros físico-químicos, teor de açúcares, de cafeína e de seis compostos furânicos. Foi otimizado e validado um método analítico para a determinação de seis compostos furânicos em café torrado e moído utilizando SPME-MHS/GC-MS. O método se mostrou adequado, com limites de detecção e quantificação dentro e faixas de sensibilidade aceitáveis. As precisões intradia e intermediárias foram menores que 20%. O método foi aplicado em 20 amostras de café torrado e moído comerciais. Cinco compostos foram detectados em todas as amostras. Para a avaliação do processo de torra, 20 ensaios foram conduzidos em *C. arabica* e *C. robusta*. Para os parâmetros físico-químicos os resultados dos cafés mostraram-se diferentes para todos os parâmetros. A sacarose foi o açúcar predominante em ambos os cafés. Os níveis de cafeína foram maiores em café robusta do que em arábica. Os níveis dos compostos furânicos variaram para café robusta e arábica. Os resultados obtidos demonstram que torras com temperaturas mais elevadas têm maior impacto sobre os parâmetros físico-químicas avaliados. Os níveis de cafeína são influenciados pela temperatura inicial e os dos derivados furânicos pela temperatura aplicada durante o processo.

**Palavras-chave:** café; compostos furânicos; torra; GC-MS; MHS-SPME

## **ABSTRACT**

Brazil is the largest producer and exporter of coffee in the world, and the second largest consumer of the product. Despite being directly associated with the quality of the product, the roasting process can generate compounds that are harmful to health, such as furanic derivatives. The present study aimed to evaluate how roasting impacts different coffee quality parameters: physical-chemical parameters, sugar content, caffeine content and six furanic compounds. An analytical method for the determination of six furanic compounds in roasted and ground coffee using SPME-MHS/GC-MS was optimized and validated. The method proved to be adequate, with detection and quantification limits within acceptable sensitivity ranges. Intraday and intermediate accuracies were less than 20%. The method was applied to 20 commercial roasted and ground coffee samples. Five compounds were detected in all samples. To evaluate the roasting process, 20 tests were conducted on *C. arabica* and *C. robusta*. For the physical-chemical parameters, the results of the coffees were different for all parameters. Sucrose was the predominant sugar in both coffees. Caffeine levels were higher in Robusta coffee than in Arabica. The levels of furanic compounds varied for Robusta and Arabica coffee. The results obtained demonstrate that roasting at higher temperatures has a greater impact on the physical-chemical parameters evaluated. Caffeine levels are influenced by the initial temperature and those of furanic derivatives by the temperature applied during the process.

**Key words:** coffee, furanic compounds, roasting; GC-MS; MHS-SPME

## SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT .....	ix
SUMÁRIO.....	x
INTRODUÇÃO .....	1
REFERÊNCIAS.....	3
OBJETIVOS .....	5
Objetivo principal.....	5
Objetivos específicos .....	5
CAPÍTULO 1: Revisão Bibliográfica .....	6
1. O café .....	7
2. A torra do café .....	10
3. Reações envolvidas na torra do café.....	12
3.1. Pirólise .....	13
3.2. Reação de Maillard .....	13
3.3. Degradação de Strecker .....	14
3.4. Caramelização .....	14
4. Compostos furânicos .....	15
4.1. Formação, fonte e ocorrência .....	16
4.2. Aspectos toxicológicos.....	17
4.3. Legislação.....	18
4.4. Compostos furânicos em alimentos .....	18
4.5. Compostos furânicos em café.....	19
4.5.1. Furano .....	20
4.5.2. Furfural .....	21
4.5.3. 5-Metilfurfural.....	21

4.5.4.	Álcool furfurílico .....	22
4.5.5.	Furaneol.....	22
4.5.6.	5-Hidroximetilfurfural.....	22
4.6.	Métodos analíticos .....	23
5.	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) .	25
6.	Microextração em fase sólida por múltiplo headspace (SPME-MHS).....	27
7.	Validação de Método .....	28
8.	Referências.....	30
CAPÍTULO 2: Validação de método para a determinação de compostos furânicos em café por múltiplo headspace-micoextração em fase sólida e cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (MHS-SPME–GC–MS).....		
	RESUMO.....	37
1.	INTRODUÇÃO .....	38
2.	MATERIAL E MÉTODOS .....	41
2.1.	Amostras .....	41
2.2.	Reagentes e padrões .....	42
2.3.	Otimização das condições de detecção .....	42
2.4.	Planejamento experimental.....	43
2.5.	Validação do método .....	46
2.6.	Quantificação dos compostos furânicos.....	46
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
3.1.	Identificação dos compostos furânicos .....	48
3.2.	Otimização e extração MHS-SPME .....	49
3.3.	Validação do método .....	54
3.4.	Ocorrência.....	57
4.	CONCLUSÃO .....	58
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

CAPÍTULO 3: O impacto da torra no perfil de cafeína, açúcares, compostos furânicos e características físico-químicas em <i>C. arabica</i> e <i>C. canephora</i> .....	64
RESUMO.....	65
1. INTRODUÇÃO.....	67
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	69
2.1. Amostras .....	69
2.2. Reagentes e padrões.....	70
2.3. Análises físico-químicas.....	71
2.4. Determinação de açúcares e cafeína.....	72
2.5. Determinação de compostos furânicos .....	73
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	74
3.1. Análises físico-químicas.....	74
3.2. Análises de açúcares e cafeína .....	80
3.3. Teor de compostos furânicos .....	83
3.4. Análises estatísticas.....	85
4. CONCLUSÃO .....	91
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

## INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de café no mundo, ocupando o segundo lugar de maior consumidor do produto (DE SOUZA E SILVA *et al.*, 2021). Devido ao seu alto consumo, a qualidade deste produto deve ser sempre mantida. A qualidade do café está relacionada com a coloração, aparência e defeitos dos grãos, além do aroma e sabor da bebida (DA SILVA, 2021). A qualidade do produto corresponde a todas as propriedades que um grão normal e saudável pode ter, sendo químicas, físicas, genéticas ou fisiológicas, sendo de suma importância preservar cada etapa do processo para que a qualidade do produto seja preservada (CARDOSO *et al.*, 2021; POISSON *et al.*, 2017).

Os grãos verdes de café não são próprios para o consumo devido ao seu aroma e sabor desagradáveis e por isso é necessário que estes grãos sejam submetidos ao processo de torra. Durante a torra, os compostos não voláteis do grão de café reagem e degradam, dando origem aos compostos voláteis. Estes compostos variam em aroma, potência e concentração e são os responsáveis pelo aroma e sabor característico do café. Além disso, a torra é um processo térmico complexo que envolve o escurecimento do grão do café, redução da umidade e aumento na porosidade dos grãos (DART; NURSTEN, 1985; SCHENKER, S.; ROTHGEB. T., 2017).

Apesar de estar diretamente ligada à qualidade dos produtos de café, durante o processo de torra compostos nocivos à saúde podem ser formados, como: acrilamidas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e compostos furânicos. Esses compostos se formam devido à presença de precursores na amostra no grão

verde e estão associados a diferentes efeitos adversos como neurotoxicidade, carcinogenicidade e genotoxicidade (DA COSTA *et al.*, 2023).

Os compostos furânicos pertencem a uma classe de moléculas orgânicas presentes em diversos alimentos que são submetidos a processos térmicos (KIM *et al.*, 2021). Esses compostos possuem uma importante correlação com as características sensoriais do café, pois estes compostos colaboram com a formação do perfil de aroma deste produto após a torra do café (DE MARIA *et al.*, 1999; KETTLITZ *et al.*, 2019). Devido ao seu grande consumo, a European Food Safety Authority (EFSA) reportou que o café é a principal fonte de exposição de compostos furânicos para adultos (2017). Dados mostram que as concentrações de furano presentes em café variam de 0,7 a 3,45 mg/kg (KETTLITZ *et al.*, 2019).

Então, além do aspecto relacionado à qualidade, também deve-se levar em consideração o aspecto saúde no processo de torra dos grãos de café verde. Entender as rotas de formação, precursores e alternativas para a mitigação destes contaminantes é essencial para a segurança do consumo do café.

## REFERÊNCIAS

Cardoso, W. S., Agnoletti, B. Z., de Freitas, R., de Abreu Pinheiro, F., & Pereira, L. L. (2021). Biochemical aspects of coffee fermentation. *Quality Determinants In Coffee Production*, 149-208.

da Costa, D. S., Albuquerque, T. G., Costa, H. S., & Bragotto, A. P. A. (2023). Thermal Contaminants in Coffee Induced by Roasting: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(8), 5586.

da Silva, C. Q., da Silva Fernandes, A., Teixeira, G. F., França, R. J., da Costa Marques, M. R., Felzenszwalb, I., ... & Ferraz, E. R. A. (2021). Risk assessment of coffees of different qualities and degrees of roasting. *Food Research International*, 141, 110089.

Dart, S. K., & Nursten, H. E. (1985). Volatile components. *Coffee: Volume 1: Chemistry*, 223-265.

De Maria, C. A. B., Moreira, R. F. A., & Trugo, L. C. (1999). Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. *Química nova*, 22, 209-217.

de Sousa e Silva, J., Moreli, A. P., Donzeles, S. M. L., Soares, S. F., & Vitor, D. G. (2021). Harvesting, Drying and Storage of Coffee. *Quality Determinants In Coffee Production*, 1-64.

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Knutsen, H. K., Alexander, J., Barregård, L., Bignami, M., Brüschweiler, B., ... & Wallace, H. (2017). Risks for public health related to the presence of furan and methylfurans in food. *EFSA Journal*, 15(10), e05005.

Kettlitz, B., Scholz, G., Theurillat, V., Cselovszky, J., Buck, N. R., O'Hagan, S., ... & Stadler, R. H. (2019). Furan and methylfurans in foods: an update on occurrence, mitigation, and risk assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and food safety*, 18(3), 738-752.

Kim, Y. J., Choi, J., Lee, G., & Lee, K. G. (2021). Analysis of furan and monosaccharides in various coffee beans. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 862-869.

Poisson, L., Blank, I., Dunkel, A., & Hofmann, T. (2017). The chemistry of roasting—Decoding flavor formation. In *The craft and science of coffee* (pp. 273-309). Academic Press.

Schenker, S., & Rothgeb, T. (2017). The roast—Creating the Beans' signature. In *The craft and science of coffee* (pp. 245-271). Academic Press.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO PRINCIPAL**

- Avaliar quais os impactos da torra sobre as características do café através de análises físico-químicas, cromatográficas, de açúcares e cafeína.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

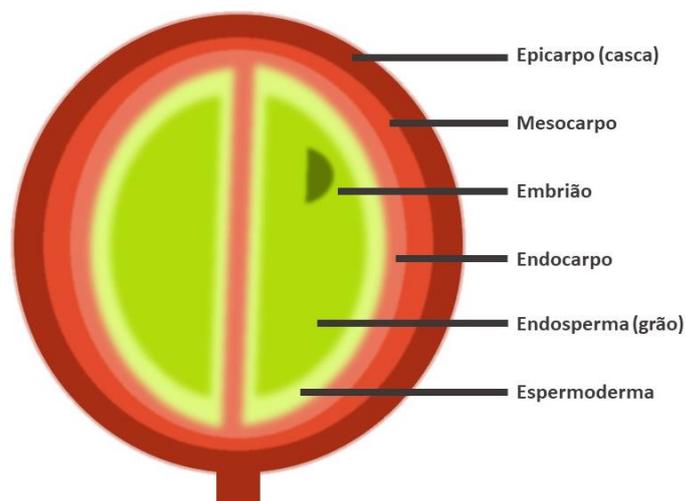
- Otimizar e validar um método para a quantificação de seis compostos furânicos em cafés comerciais utilizando SPME e múltiplo headspace para preparo da amostra e detecção por GC-MS;
- Avaliar o impacto de diferentes condições de torra nas propriedades físico-químicas de duas variedades de café *Coffea arábica* (arábica) e *Coffea canephora* (robusta) e no perfil de açúcares e cafeína;
- Avaliar o impacto de diferentes condições de torra na formação de derivados furânicos (furano, furfural, álcool furfurílico 5-metilfurfural, 5-hidroxi-metilfurfural e furaneol) utilizando MHS-SPME como sistema de extração e GC-MS/MS como sistema de separação e identificação.

**CAPÍTULO 1**  
**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 1. O CAFÉ

A planta do café é membro da família *Rubiaceae*, incluindo mais de seis mil espécies, sendo compostas em sua maioria por arbustos tropicais originários da África e do Oceano Índico, medindo de 2 a 2,5 metros de altura (ORMOND *et al.*, 1999). O gênero *Coffea* possui mais de 100 espécies e, economicamente, as espécies mais importantes no mundo são *Coffea arabica* (70%), *Coffea canephora* (por volta de 30%) e *Coffea liberica* e *Coffea excelsa* (menos de 1%) (ORMOND *et al.*, 1999; DA COSTA *et al.*, 2023).

Morfologicamente, o fruto do café é formado por exocarpo, mesocarpo, endocarpo, silver skin, e o grão do café (chamado de endosperma) (Figura 1). O exocarpo é a parte de fora do fruto, o mesocarpo, tendo um aspecto pastoso, constitui o meio do fruto e é composto por pectina, glucose e frutose, proteínas, minerais, polifenóis e cafeína. O endosperma, possui uma capa de proteção chamada espermoderma, também conhecido como silver skin ou pergaminho. A função do endosperma é proteger o embrião (DA COSTA *et al.*, 2023).



**Figura 1.** Morfologia esquematizada do fruto do café (elaborado pelo autor).

A espécie arábica é nativa de Etiópia e é considerada a espécie mais amplamente comercializada de café. *Coffea arábica* difere das outras pelo seu curto tempo de maturação, sua susceptibilidade à pestes e a variações abióticas. Além disso, geneticamente, essa espécie é tetraplóide, enquanto as outras são diplóides. O café arábica possui níveis inferiores de sólidos solúveis e cafeína quando comparados ao *Coffea canephora*, contudo, a bebida proveniente deste café tende a ser mais ácida e aromática. O café verde da espécie arábica possui maiores concentrações de oligossacarídeos, lipídeos, trigonelina e ácidos orgânicos. Este café também possui maiores teores de sacarose, contribuindo para a acidez da bebida (WANG *et al.*, 2021; DA COSTA *et al.*, 2023; POISSON *et al.*, 2017; SENINDE; CHAMBERS, 2020)

*Coffea canephora*, também conhecido por café robusta ou conilon é nativo da África Central. O café verde da espécie Robusta é rico em cafeína e ácidos clorogênicos, além de apresentar maiores quantidades de aminoácidos livres quando comparado ao café Arábica. Notas de terra, apimentado e torrado estão presentes nesse café devido às maiores concentrações de pirazinas e seus derivados neste café. Sensorialmente, o café robusta possui notas doces, de caramelo e tostado, estando relacionado às maiores concentrações de piridinas, furanos e aldeídos presentes (POISSON *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2021; DA COSTA *et al.*, 2023; POISSON *et al.*, 2017; SENINDE; CHAMBERS, 2020)

Devido a maior presença de notas indesejadas no café robusta e aos maiores teores de sacarose do café arábica, o café foi por muito tempo considerado de qualidade inferior ao café arábica. Contudo, devido à diversas melhorias, atualmente, isso é apenas um mito (WANG *et al.*, 2021; SENINDE; CHAMBERS, 2020).

O café é consumido há séculos e tem papel fundamental na economia de diversos países (MAHMUD *et al.*, 2022). O Brasil é o maior produtor e exportador de café do mundo, além de ser o segundo país que mais o consome (DE SOUZA E SILVA *et al.*, 2021). O consumo do café tem aumentado cada vez mais devido aos seus benefícios para a saúde, seu efeito estimulante e seu sabor e aroma marcantes (ZHU *et al.*, 2022). A grande quantidade de compostos bioativos no café

como ácidos fenólicos e flavonóides e suas contribuições para a saúde humana tornam a bebida do café ainda mais atrativa para consumo (LAUKALEJA *et al.*, 2022). Dentre os diversos compostos presentes na bebida do café, os compostos bioativos de maior importância são os ácidos clorogênicos, as melanoidinas, a cafeína, a trigonelina e os diterpenos cafestol e kahweol (LUDWIG *et al.*, 2014). Devido ao grande consumo da bebida do café, a qualidade do produto deve sempre ser mantida.

A qualidade do café está relacionada a diversas características, sendo elas: coloração, aparência e defeitos dos grãos, além do aroma e do sabor da bebida. Estas características dependem dos processos pós-colheita, estocagem e torra dos grãos e da forma como a bebida é preparada (DA SILVA, 2021). A qualidade do produto corresponde a todas as propriedades que um grão normal e saudável pode ter, sendo químicas, físicas, genéticas ou fisiológicas (CARDOSO *et al.*, 2021). A qualidade do produto sofre a influência de todos estes fatores e cada um deles é de suma importância para a qualidade da bebida do café, então, faz-se necessário preservar cada etapa do processo, desde o grão verde até a bebida do café (POISSON *et al.*, 2017).

Todas as etapas envolvidas no processo da bebida do café são importantes para a qualidade final. A etapa de colheita é fundamental para assegurar a qualidade final da bebida pois essa etapa está diretamente ligada com a maturação dos frutos. A presença de frutos não maduros prejudica as características da bebida, não resultando em um produto de alta qualidade. A colheita pode ser feita de forma mecânica ou manual e, dependendo disso, os defeitos nos grãos podem ser maiores. Além disso, é essencial evitar que esses grãos estejam contaminados por qualquer micro-organismo. Após a colheita, os grãos precisam ser separados do fruto, passando por uma etapa de lavagem e separação. Feito isso, eles são processados e depois são submetidos à secagem. Após serem separados por tamanho, defeitos e outras categorias, os grãos verdes do café são finalmente submetidos ao processo de torra (DA COSTA *et al.*, 2023).

Após a torra, os cafés podem ser separados em diversos tipos de torra, moagem e categorias. Existem torras claras, médias e escuras e moagens finas,

médias e grossas. Quanto aos tipos de cafés eles podem ser divididos em solúvel, aromatizado, gourmet, orgânico e descafeinado (DA COSTA *et al.*, 2023).

## **2. A TORRA DO CAFÉ**

Os grãos verdes do café são muito rígidos e não possuem as características sensoriais adequadas para consumo e, por isso, estes são torrados antes de serem consumidos. A etapa da torra do café consiste em transformar os grãos verdes do café nos grãos torrados e aromáticos popularmente conhecidos. A torra é a etapa essencial para a produção da bebida, já que é nela que os perfis finais de sabor e aroma são criados (SCHENKER; ROTHGEB, 2017).

O processo de torra é a etapa responsável pela formação do sabor e aroma dos produtos do café. Existem diferentes níveis de torra que variam do claro ao escuro, dependendo da temperatura atingida durante o processo de torra. As temperaturas de torra variam de 190 a 240 °C com tempos de 5 a 15 minutos. O tempo x temperatura define o grau de torra (DIAZ-DE-CERIO, *et al.*, 2019; DA COSTA *et al.*, 2023). A torra consiste no aquecimento controlado dos grãos de café para que uma série de reações exotérmicas aconteçam, porém, sem que estas ultrapassem o ponto adequado e um processo de carbonização se inicie (SCHMIDT *et al.*, 2008). Durante os estágios iniciais da torra, muita energia é necessária para provocar a evaporação da água e iniciar as reações químicas (fase endotérmica), após atingir um ponto onde o balanço de energia das reações químicas torna-se auto catalítico e as reações tornam-se exotérmicas (POISSON *et al.*, 2017).

O processo da torra do café pode ser dividido em: secagem (etapa onde a água é parcialmente eliminada e alguns voláteis são perdidos), torra (etapa onde ocorre a pirólise, reação de Maillard, caramelização e a liberação de CO<sub>2</sub>) e resfriamento (a torra precisa ser parada abruptamente para que as condições previamente determinadas sejam mantidas) (DA COSTA *et al.*, 2023).

Comparado a outros produtos que precisam ser submetidos a processos que envolvem o calor, a torra do café possui as maiores temperaturas, já que

apenas com o calor as características visadas na bebida são desenvolvidas. É necessário que esse processo tenha temperaturas maiores que 190 °C. Normalmente, as temperaturas finais de torra giram em torno de 200 e 250 °C e este processo dura de 5 a 20 minutos (SCHENKER; ROTHGEB, 2017). Este processo altera a composição química, física e estrutural dos grãos através da aplicação do calor e, assim, torna os grãos de cafés adequados para a produção da bebida (PEREIRA *et al.*, 2021). A mudança de cor do verde para o marrom, quase preto, é a mudança mais visível no café durante a torra e é geralmente determinada pelos parâmetros CIELab ( $L^*$  ou luminosidade, e  $a^*$  e  $b^*$  como os parâmetros vermelho e amarelo, respectivamente). Esse aspecto é essencial para a determinação do grau de torra e está interligado com a qualidade da bebida, já que a cor está relacionada com a formação de sabor no produto (SCHENKER; ROTHGEB, 2017). O grau de torra é normalmente classificado em: torra clara, média e escura. A torra clara produz cafés menos amargos, mais ácidos e com aroma e sabor mais leves quando comparada às outras torras. Torras médias oferecem produtos menos ácidos que os de torra clara e a torra escura possui inferioridade sensorial pela sua baixa acidez, ser pouco encorpada e possuir um maior amargor dentre todos os outros tipos de torra (DA COSTA *et al.*, 2023)

O tempo e a temperatura da torra não resultam apenas no grau e coloração de torra desejados, mas também causam a ocorrência das reações químicas nos cafés verdes (ZAKIDOU *et al.*, 2021). O processo de torra causa alterações na coloração, aumento do volume dos grãos torrados, mudanças estruturais, atividade de água, perda de massa e migração dos óleos para a superfície do grão (SCHENKER; ROTHGEB, 2017).

Os grãos verdes de café não são diretamente consumidos, já que não possuem aroma ou sabor agradáveis. Contudo, seus compostos não voláteis degradam e reagem durante a torra, originando os compostos voláteis, que variam em aroma, potência e concentração (DART; NURSTEN, 1985). Estes compostos são produtos do processo de torra e são responsáveis pelo aroma característico do café, no entanto, podem ser degradados no processo de torra se este não for executado corretamente (PEREIRA *et al.*, 2021).

Diferentes condições de tempo e temperatura durante a torra do café levam a diferentes perfis de aroma e sabor (SCHENKER; ROTHGEB, 2017). Contudo, a formação destes compostos nem sempre podem ser explicadas por modelos de sistemas de reações, já que as diferentes características de cada processo podem levar a diferentes rotas para cada reação (POISSON *et al.*, 2017).

Apesar de ser uma etapa que está diretamente associada à qualidade final da bebida do café, o processo de torra pode gerar compostos maléficos à saúde como acrilamidas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e compostos furânicos. Esses compostos são formados devido à presença de precursores na amostra crua (grão verde) de café e estão associados a diferentes efeitos adversos como neurotoxicidade, carcinogenicidade e genotoxicidade (DA COSTA *et al.*, 2023).

Então, além do aspecto relacionado à qualidade, também deve-se levar em consideração o aspecto saúde no processo de torra dos grãos de café verde. Entender as rotas de formação, precursores e alternativas para a mitigação destes contaminantes é essencial para a segurança do consumo do café.

### **3. REAÇÕES ENVOLVIDAS NA TORRA DO CAFÉ**

A torra do café é um processo térmico complexo que envolve o escurecimento do grão do café, redução da umidade e aumento na porosidade dos grãos. A composição de voláteis do café torrado depende da espécie e variedade do café, condições de cultivo e colheita, armazenamento antes da torra, grau da torra e tipo de torrador (DART; NURSTEN, 1985). A formação destes compostos depende de diversas reações, sendo elas: reação de Maillard ou reação de escurecimento não enzimática entre substâncias contendo nitrogênio, degradação de Strecker, degradação de aminoácidos individuais, degradação da trigonelina, caramelização, degradação de ácidos fenólicos, degradação lipídica, pirólise e interação entre produtos de decomposição intermediários. Essas reações contribuem para que o produto do café seja atrativo através do seu aroma e sabor característico (PINHEIRO *et al.*, 2021;

SCHENKER; ROTHGEB, 2017; CAO *et al.*, 2023). A maioria dos compostos presentes no café verde são preservados durante a torra e, alguns deles, atuam como precursores de sabor e aroma durante esse processo. Dentre esses precursores estão os açúcares redutores e os aminoácidos, originados através da reação de Maillard, carboidratos, ácidos clorogênicos, trigonelina, proteínas e lipídeos (WANG *et al.*, 2021).

### **3.1. Pirólise**

No início da torra, o grão do café começa a apresentar uma coloração amarelada, devido à pirólise, perdendo umidade e massa. A sacarose é transformada em glicose e frutose, acompanhada de uma reação de degradação de carboidratos e aminoácidos (POISSON *et al.*, 2017). As reações de pirólise ocorrem quando os grãos atingem 190 °C. Essa reação pode desencadear a reação de caramelização, provocando o escurecimento dos grãos de café e produzindo compostos voláteis carbocíclicos quando as temperaturas atingem 190-200 °C (CAO *et al.*, 2023).

### **3.2. Reação de Maillard**

A reação de Maillard é composta de três estágios: o primeiro envolve as reações entre açúcares redutores e aminoácidos, resultando em glicosilamina N-substituída e água. O segundo é a isomerização da glicosilamina gerando cetoaminas e o terceiro é a conversão dessas cetoaminas em produtos de fissão, reductonas, hidroximetilfurfural e melanoidinas (responsáveis pela cor marrom) (CAO *et al.*, 2023).

Após a pirólise, próximo dos 190 °C, ocorre a Reação de Maillard, desencadeando a formação de diversos novos compostos, coloração e aroma (DA COSTA *et al.*, 2023). Temperatura, umidade, pH, concentração de açúcares e a presença de certos metais pode afetar diretamente nessa reação (CAO *et al.*, 2023).

Quase todos os açúcares livres são degradados durante a caramelização e a reação de Maillard, provocando o aumento da água, dióxido de carbono,

intensificação da cor, aroma e sabor. A reação de Maillard pode ser definida como uma reação não enzimática de escurecimento, que ocasiona a formação de compostos com pesos moleculares inferiores como dióxido de carbono e componentes de sabor, promovendo aromas como torrado, caramelo, terra e tostado para os grãos de café torrado. A reação de Maillard pode desencadear efeitos antioxidantes, porém também pode ser responsável pela formação de compostos nocivos à saúde como acrilamidas e furanos (POISSON *et al.*, 2017).

A reação de Maillard pode resultar em piridinas, pirazinas, dicarbonilos (por exemplo, diacetil), oxazóis, tiazóis, pirróis e imidazóis, enolonas (furanol, maltol, cicloteno) e muitos outros. Através dessa reação os aromas de tostado, maltado, amêndoas, amargo e queimado são gerados. Além disso, a intensidade da torra também pode influenciar diretamente na reação, influenciando os perfis de aroma da bebida do café (POISSON *et al.*, 2017; CAO *et al.*, 2023).

### **3.3. Degradação de Strecker**

A degradação de Strecker pode ser considerada um subconjunto da reação de Maillard devido à proximidade entre elas. Alguns compostos gerados na reação de Maillard podem participar da degradação de Strecker. Essa reação envolve duas etapas: a primeira que é a oxidação entre aminoácidos (agentes redutores) e derivados de carbonila (agentes oxidantes) e a segunda etapa que envolve a quebra das moléculas resultantes em aldeídos, amônia e CO<sub>2</sub> na presença de água. Nessa reação importantes notas de aroma são geradas e graças ao CO<sub>2</sub> ocorre o aumento da pressão interna dos grãos ocasionando rachaduras e contribuindo ainda mais com a volatilização dos aromas do café. A reação de Strecker contribui para o aroma de batata, terra, torrado, frutado e mel durante o processo (POISSON *et al.*, 2017; CAO *et al.*, 2023).

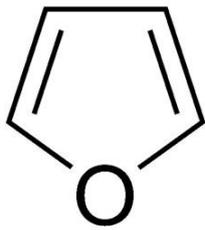
### **3.4. Caramelização**

A caramelização, assim como a reação de Maillard, é uma reação de escurecimento não enzimática, porém, que ocorre na ausência de aminoácidos. Essa reação ocorre em temperaturas relativamente altas e é baseada na decomposição térmica de carboidratos complexos (sacarose) em moléculas

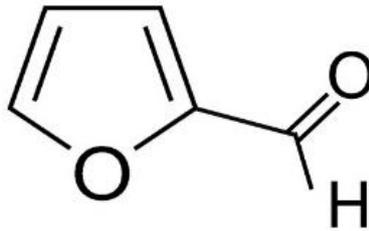
menores como a frutose e a glicose, estas sendo mais solúveis em água em temperaturas próximas de 170 °C. A caramelização contribui para o aroma doce do produto do café, já que é graças a ela que as notas doces, de caramelo e amêndoas se desenvolvem (POISSON *et al.*, 2017; CAO *et al.*, 2023).

#### **4. COMPOSTOS FURÂNICOS**

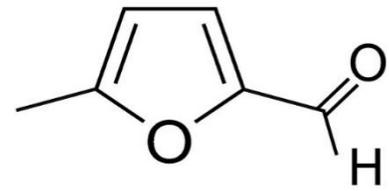
Compostos furânicos (Figura 2) são uma classe de moléculas orgânicas de anéis heterocíclicos aromáticos de cinco membros com um ponto de ebulição de 30 °C, amplamente encontradas em diversos alimentos termoprocessados (ALBOUCHI; MURKOVIC, 2020; KIM *et al.*, 2021). São líquidos incolores, altamente lipofílicos e voláteis, possuem baixo peso molecular e são formados a partir de diversos precursores, tais como carboidratos, proteínas, ácido ascórbico ou lipídeos (WAIZENEGGER *et al.*, 2012; SCHOLL *et al.*, 2012). Estes compostos são formados através de diversas reações durante o tratamento térmico, incluindo degradação térmica e o rearranjo de carboidratos e estão presentes em diversos alimentos termoprocessados como vegetais enlatados, comida de bebê, conservas de frutas, suco de frutas, carnes, peixes e café. Devido as altas temperaturas que os grãos verdes dos cafés são submetidos, quantidades consideráveis de furano são identificadas nos grãos de café torrados (KIM *et al.*, 2021).



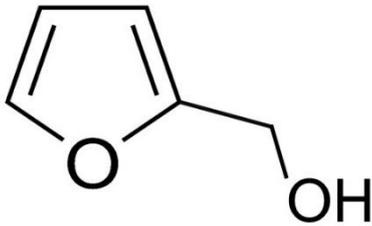
A. Furano



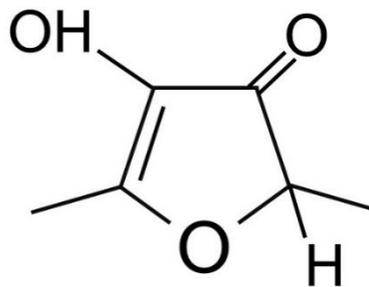
B. Furfural



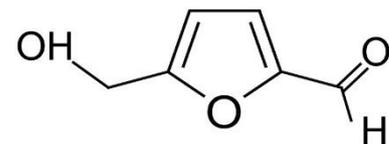
C. 5-Metilfurfural



D. Álcool Furfurílico



E. Furaneol



F. 5-Hidroximetilfurfural

**Figura 2.** Estrutura química dos compostos furânicos estudados.

#### 4.1. Formação, fonte e ocorrência

O furano é utilizado em diversos processos industriais, como: intermediário na formação de tetrahydrofurano, pirrol e tiofeno. Além de ser utilizado também na produção de lacas e resinas, produtos farmacêuticos e agrícolas como inseticida. O furano ocorre no ambiente como parte da fumaça do cigarro e da madeira e através do escapamento de motores a diesel ou gasolina (MORO *et al.*, 2012).

Compostos furânicos podem estar presentes em diversos itens alimentares submetidos ao processo térmico. Essa formação pode ocorrer através de diversos caminhos e os principais precursores desses compostos presentes nos alimentos

são o ácido ascórbico, açúcares, aminoácidos e ácidos graxos poliinsaturados. As condições da reação como tempo, temperatura e pH podem afetar diretamente na formação desses compostos (MORO *et al.*, 2012; KIM *et al.*, 2021).

O precursor mais eficiente na formação do furano é o L-ascórbico, seguido do ácido dehidroascórbico, glicolaldeído/L-alanina e D-eritrose. Quando são formados a partir de ácidos graxos poliinsaturados através do oxigênio reativo, ocorre a formação desses compostos, através da peroxidação e estes produtos formam furanos através da ciclização e desidratação. Quando são formados a partir de aminoácidos, o processo envolve duas moléculas principais: acetaldeído e glicolaldeído, resultando em 2-desoxialdotetose e podendo produzir furano. A formação do furano depende da presença de açúcares redutores como fonte de glicolaldeído. Quando se trata da formação de furano através da degradação térmica de açúcares, estão envolvidos os compostos 1-desoxiosona e 3-desoxiosona, que reagem com derivados de aldotetose. Essas moléculas ocorrem a partir da degradação de hexoses e pentoses. Estes derivados também participam da formação de furano a partir da degradação dos ácidos ascórbico e dehidroascórbico (MORO *et al.*, 2012).

#### **4.2. Aspectos toxicológicos**

Os furano e o álcool furfurílico são moléculas tóxicas e foram classificados como potencialmente carcinogênicos para humanos (GRUPO 2B) pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC, 1996).

O álcool furfurílico e o 5-hidroximetilfurfural são contaminantes formados a partir do furano, sendo modificados por um grupo hidroximetil (Figura 2). O álcool furfurílico e o 5-hidroximetilfurfural são considerados citotóxicos e mutagênicos por serem eletrófilos reativos que podem interagir com as moléculas de DNA e suas proteínas (DA COSTA *et al.*, 2023; BARRIOS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2022). O 5-hidroximetilfurfural é genotóxico e citotóxico, podendo ser maléfico para humanos que o consome em grandes concentrações (WHO *et al.*, 2020).

O álcool furfurílico foi classificado como potencialmente carcinogênico e genotóxico para humanos (GRUPO 2B). Posteriormente, esse composto é

metabolizado em furfural (WHO *et al.* IARC, 2020). O furfural foi classificado pelo IARC como sem potencial carcinogênico para humanos e poucas evidências para experimentos em animais (GRUPO 3) (IARC, 1996).

O 5-metilfurfural não está associado a carcinogenicidade, porém está associado com outras doenças do trato digestório. Apesar de não ser diretamente associada com carcinogenicidade, o 5-metilfurfural pode ser metabolizado em 5-Hidroximetilfurfural, substância associada ao câncer (EFSA, 2011). Já o furaneol possui efeito genotóxico e citotóxico pois causa fragmentação do DNA (EFSA, 2015; BEKKI *et al.*, 2021).

### **4.3. Legislação**

Segundo a recomendação da União Europeia (2022), os limites de quantificação para as análises de furano em gêneros alimentícios não deve ser superior a 5 µg/kg, exceto para café que não deve exceder 20 µg/kg. Para 5-HMF não deve ser superior a 40 mg/kg e para álcool furfurílico a ingestão máxima aceitável é de 0,5 mg/kg (BARRIOS-RODRÍGUEZ, 2020).

Segundo a EFSA (2009), a exposição de furanos corresponde a uma média consumo de 1,1 µg/dia para crianças e de 33,5 µg/dia em adultos. Em adultos, 95% dessa exposição deve-se ao consumo do café.

### **4.4. Compostos furânicos em alimentos**

Os furanos estão presentes em diversos gêneros alimentícios que sofrem processos térmicos de calor. Furanos são encontrados em suas maiores concentrações em bebidas feitas a partir do café torrado. Esses compostos também são encontrados em comidas de bebê, sopas prontas, produtos feitos a partir de cereais, carnes e molhos. Além disso, níveis de furanos também são encontrados em sucos de frutas e vegetais, bebidas nutricionais e produtos de padaria (EFSA, 2009; MORO *et al.*, 2012).

#### 4.5. Compostos furânicos em café

Os compostos heterocíclicos são de grande importância devido à sua correlação com o aroma do café (DE MARIA *et al.*, 1999). Os compostos furânicos colaboram significativamente para as características sensoriais do café torrado. Isso ocorre, pois, estes compostos oferecem qualidades aromáticas a bebida do café, interferindo diretamente na qualidade da bebida. Devido ao seu grande consumo, a European Food Safety Authority (EFSA) reportou que o café é a principal fonte de exposição de compostos furânicos para adultos (2017). Dados mostram que as concentrações de furano presentes em café variam de 0,7 a 3,45 mg/kg (KETTTLITZ *et al.*, 2019).

Esses compostos podem ser produzidos através da pirólise do açúcar, conferindo aroma de caramelo à bebida (DART; NURSTEN, 1985). Os furanos têm um grande percentual no total de voláteis do café, dentre eles: 5-metilfurfural, furfural, 2-furanmetanol e outros. O 5-metilfurfural confere aromas de caramelo, bordo e apimentado. O furfural é caracterizado por aromas doces, amadeirados e amendoados e o 2-furanmetanol está associado ao aroma amargo queimado dos cafés torrados escuros, oferecendo notas doces, de caramelo e semelhantes ao café (ZAKIDOU *et al.*, 2021). Além destes compostos, existem diversos outros e estes concedem atributos como doce, nozes, frutal ou caramelo aos alimentos termoprocessados (ARRUDA, 2012).

Pequenas quantidades de furanos são encontrados em cafés verdes. Estes compostos ocorrem em suas maiores concentrações em cafés torrados, já que é através das altas temperaturas que estes compostos se desenvolvem (WAIZENEGGER *et al.*, 2012; EFSA, 2017). Além disso, a formação de furanos é afetada pelo tempo, temperatura e pH. Os furanos são formados em diversos alimentos termoprocessados em decorrência da degradação natural de constituintes destes alimentos. Altos níveis de furanos são encontrados no café devido ao processo de torra (MORO *et al.*, 2012). O café é uma das principais fontes de exposição de furano, álcool furfurílico e 5-hidroximetilfurfural na dieta de seres humanos adultos. Isso ocorre pelo vasto consumo de café e a alta concentração destes compostos na bebida (BARRIOS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2022).

Uma vez que a torra e a temperatura utilizada no processo afetam diretamente o desenvolvimento do aroma e a concentração de furanos, faz-se necessário avaliar as melhores condições de torra para que seja possível mitigar a ocorrência desses compostos sem que isso interfira na qualidade do café. A abordagem mais simples e, possivelmente, mais eficaz para controlar o furano seria reduzir o tratamento térmico (tempo e temperatura), adicionar um inibidor da reação de formação ou remover um precursor (KETTTLITZ, *et al.*, 2019).

#### **4.5.1. Furano**

O furano (Figura 2A) pode ser utilizado como um intermediário sintético no preparo tetrahidrofurano, pirrol e tiofeno. Também é usado na produção de pesticidas, estabilizadores e produtos farmacêuticos. As principais fontes de exposição desse composto são o tabaco e alguns alimentos como comidas enlatadas, comidas de bebê, café, produtos feitos a partir de cereais e fórmulas infantis. Sendo a principal fonte de exposição dentre estes alimentos o café (WANG *et al.*, 2021).

O furano pode contribuir para os aromas florais, frescos e de nozes do café após a torra. Esse composto predomina em cafés arábica, do que em robusta (WANG *et al.*, 2021; CAO *et al.*, 2023).

Durante a torra do café, esse composto pode ser gerado através da degradação térmica de aminoácidos e carboidratos pela Reação de Maillard e através da oxidação térmica de ácidos graxo poliinsaturados. Os principais precursores do furano são a glicose e o ácido linoleico. Apesar do ácido ascórbico ser um precursor importante de furano em outros gêneros alimentícios, no café ele não se mostra tão importante quanto outros precursores. A formação do furano está associada com a condensação do aldóis, ciclização, e a desidratação de intermediários, como acetaldeído e glicolaldeído. Além disso, a formação de furano também está associada à presença de hexoses em matrizes de alimentos. No café verde, o principal açúcar presente é a sacarose. Durante os estágios iniciais da torra, a concentração de frutose e glicose aumentam pois acontece a degradação constante de sacarose. Através da Reação de Maillard e da pirólise, essas hexoses

podem desencadear a formação de furano (DA COSTA *et al.*, 2023; BARRIOS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2022; POISSON *et al.*, 2017).

#### **4.5.2. Furfural**

O furfural (Figura 2B) é um produto químico de alto volume de produção, ele é utilizado como solvente no refino do petróleo, na produção de resinas fenólicas e em diversas outras aplicações. A exposição do furfural se dá pela sua ocorrência natural em muitos alimentos, uso como aditivo e aromatizante e pela combustão da madeira e do carvão (WANG *et al.*, 2021).

O furfural e seus derivados conferem o aroma doce, de amêndoas, pão, amadeirado e caramelo. Esse composto é encontrado em maiores concentrações em graus de torra menos intensos e em menores concentrações em torras mais intensas. Suas maiores concentrações são encontradas em torras de grau médio (POISSON *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2021; CAO *et al.*, 2023; MACHEINER *et al.*, 2021).

O furfural é formado nos estágios iniciais da torra e são principalmente relacionados com as reações envolvendo açúcares livres e aminoácidos. Isso sugere que a composição do grão de café é a matriz ideal para a formação de furfural (MOON., K.; SHIBAMOTO. T., 2009).

#### **4.5.3. 5-Metilfurfural**

O 5-Metilfurfural (Figura 2C) tem grande contribuição para os aromas de caramelo, doce apimentado, *mapple syrup* e doce nos cafés torrados (WANG *et al.*, 2021; CAO *et al.*, 2023; GALARZA., G.; FIGUEROA., J., 2022).

O 5-Metilfurfural pode ser gerado através da reação de Maillard e caramelização. Além disso, no metabolismo, esse composto é um precursor do 5-Hidroximetilfurfural quando ocorre a oxidação do grupo metil (LIU *et al.*, 2023; MACHEINER *et al.*, 2021).

#### **4.5.4. Álcool furfurílico**

O álcool furfurílico (Figura 2D) confere os aromas doces, de caramelo e açúcar caramelizado à bebida do café (CAO *et al.*, 2023; MACHEINER *et al.*, 2021).

A formação do álcool furfurílico pode estar relacionada com a reação de Maillard, oxidação da glicose, isomerização e degradação térmica de polifenóis como ácidos cafeico e quínico. O álcool furfurílico mostra-se presente em cafés com torras claras e sua formação é parecida com a do 5-hidroximetilfurfural. Cafés do tipo arábica apresentam maiores concentrações deste composto quando comparados a outros tipos de café. Isso ocorre pois o café arábica possui maiores concentrações de sucrose, este sendo um importante precursor de álcool furfurílico. A pirólise da glicose é uma das principais rotas de formação desse composto (DA COSTA *et al.*, 2023; BARRIOS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2022).

#### **4.5.5. Furaneol**

O furaneol (Figura 2E) têm grande impacto no aroma do café, sendo predominante no café arábica. Esse composto confere o aroma doce, amanteigado e de caramelo à bebida do café (CAO *et al.*, 2023).

A sacarose é um importante precursor para a formação de furaneol. A formação deste composto depende muito do grau de torra pois a sacarose tem sua melhor performance em graus de torra médios. Além disso, a acetilformoína, após sua redução e desidratação foi identificada como um intermediário essencial para a formação de furaneol, esse composto também pode ser formado através da recombinação de 1-hidroxi-propanona e 2-oxopropanal (POISSON *et al.*, 2019)

#### **4.5.6. 5-Hidroximetilfurfural**

O 5-HMF (Figura 2F) é um composto volátil altamente solúvel em água. Ele é formado a partir da reação de Maillard e pode ser encontrado em diversos gêneros alimentícios, como: pão, café, bebida alcoólicas, frutas secas, produtos feitos a partir de caramelo, produtos de padaria e vinagre. Além de estar presente em fumaça de cigarro e chicletes de tabaco (FARAG *et al.*, 2020; MARTINS *et al.*, 2022).

Este composto pode servir como um marcador de qualidade quando se trata da adulteração de alguns produtos como café, sucos, leite, molhos, mel e cereais. Além disso, também pode ser utilizado na produção de combustíveis, remédios, solventes e biopolímeros (MARTINS *et al.*, 2022). O 5-HMF confere os aromas de amanteigado e caramelo à bebida do café após a torra (CAO *et al.*, 2022).

A formação do 5-HMF pode estar relacionada à reação de Maillard através da decomposição da 3-desoxiglucosona, ou caramelização, via desidratação de açúcares. A formação deste composto é afetada pela concentração e tipo de açúcar presente, ácidos, minerais, pH e aminoácidos. As rotas alternativas da desidratação e pirólise podem ser mencionadas como maneiras não convencionais para a formação de 5-Hidroximetilfurfural através de sacarose ou frutose. Esse composto tem sua concentração aumentada quando armazenado em pequenas temperaturas durante longos períodos. Ele serve para indicar as condições de armazenamento e qualidade do produto, além de mostrar potenciais ocorrências de contaminação durante a reação de Maillard e desidratação. Esse composto tem sua concentração aumentada quando a torra é conduzida em altas temperaturas, diminuindo após a continuidade do processo (DA COSTA *et al.*, 2023; MARTINS *et al.*, 2022; FARAG *et al.*, 2020).

#### **4.6. Métodos analíticos**

Devido à crescente demanda por cafés de qualidade cada vez mais elevada, faz-se necessário o monitoramento das características desses alimentos. Múltiplos fatores afetam na diversidade da composição de voláteis no café e, conseqüentemente, em seu sabor e aroma. Assim, é preciso identificar os componentes químicos responsáveis pelos atributos que conferem qualidade ao produto. Atualmente é de grande interesse o uso de técnicas rápidas, robustas e eficientes para detectar, quantificar e classificar as substâncias presentes nesse produto (PUA *et al.*, 2022; DOS SANTOS, H.; BOFFO, E., 2021).

A quantificação de compostos furânicos é uma tarefa complicada devido

à alta diversidade e complexidade destes compostos. Alguns métodos utilizados são: UHPLC-UV (cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a um detector de ultravioleta), espectrometria de massa de transferência de prótons (PTR-MS), cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (GC-MS) e por ionização de chama (GC-FID) (MACHEINER *et al.*, 2021; BATOOL *et al.*, 2021). As técnicas de extração mais indicadas envolvem a utilização de amostragem direta de headspace e microextração em fase sólida (JAVED *et al.*, 2021).

Existem três principais obstáculos para a análise dos compostos voláteis de café, sendo: a complexa matriz do café, as diversas classes e isômeros dos compostos voláteis, a ampla faixa de compostos que contribuem para o aroma do produto. Por esse motivo, é necessário escolher o método analítico que mais se adequa à identificação dos compostos voláteis presentes no café (PUA *et al.*, 2022).

Ao que se diz respeito às técnicas de preparo de amostras, é importante escolher a técnica que possibilite a extração dos diversos voláteis presentes na amostra, ao mesmo tempo que remove o efeito matriz. Parâmetros de recuperação, como abrangência da extração e seletividade dos analitos são aspectos que precisam ser levados em consideração para a escolha dessas técnicas. Dentre as técnicas de preparo de amostras pode-se citar: extração por solvente (SE), análise de headspace (HS), técnicas de destilação e extração por sorção.

Após a preparação e extração da amostra, o passo seguinte é a separação. A técnica de separação mais utilizada é a cromatografia devido ao seu alto poder de seletividade e separação. Técnicas de cromatografia líquida e gasosa são amplamente utilizadas na análise da composição química do café. Ambas com o objetivo de quantificar e identificar estes compostos. A cromatografia líquida é utilizada sozinha ou combinada com outros métodos para a identificação de ácidos fenólicos, cafeína, trigonelina, ácido nicotínico, diterpenos, lactonas e ácidos carboxílicos. A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) mostra-se eficiente na identificação e quantificação dos constituintes do café e quando combinada com a espectrometria de massas foi eficiente na quantificação e identificação de

compostos químicos no café e aplicações em metabolômica. Já a cromatografia gasosa provou-se eficiente na caracterização química de diferentes matrizes de café. A cromatografia gasosa é o método de separação mais utilizado quando se trata da análise de voláteis em café (DOS SANTOS, H.; BOFFO, E., 2021; PUA *et al.*, 2022; MARTINS *et al.*, 2022).

Posteriormente à separação, a amostra passa pela detecção. Esse é um passo complexo devido à grande variedade de compostos envolvidos na análise. Esses detectores são divididos entre seletivos (FPD, NPD, ODP), não seletivos (FID, MS, TQMS, TOF/MS, QTOF/MS) e outros (PUA *et al.*, 2022). Para as análises de voláteis em café os detectores não seletivos são os ideais pois estes são mais sensíveis e provêm respostas mais uniformes. O MS mostra-se o mais utilizado e este pode ser acoplado ao GC (PUA *et al.*, 2022).

## **5. CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC-MS)**

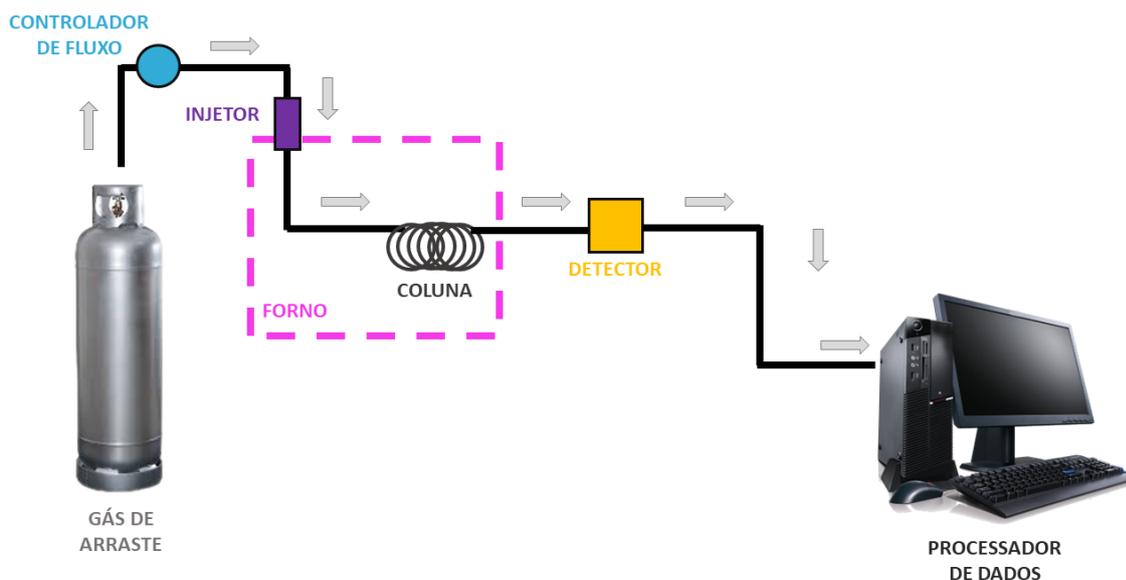
A cromatografia é um método analítico físico-químico utilizado tanto para a separação, identificação e quantificação de compostos químicos. Os componentes separados são distribuídos entre duas fases: uma fase móvel e a outra estacionária. Na cromatografia a gás, a fase móvel é um gás e a fase estacionária é um sólido ou um líquido. O sistema de cromatografia (Figura 03) é composto por uma fonte do gás de arraste, um controlador da vazão e regulador de pressão, um sistema amostrador-injetor, uma coluna, o forno, detectores e um sistema de aquisição de dados. A separação dos compostos acontece dentro de uma coluna capilar de sílica fundida, geralmente por volatilidade ou polaridade, dependendo da química da coluna (PUA *et al.*, 2022; NASCIMENTO, *et al.*, 2018).

Na cromatografia gasosa, os detectores são dispositivos que monitoram tudo que sai da coluna cromatográfica e emitem um sinal eletrônico quando uma substância é detectada. O detector utilizado depende do tipo de analito em questão e da sensibilidade requerida para a detecção (NASCIMENTO, *et al.*, 2018). Os compostos voláteis presentes em alimentos podem ser determinados

por cromatografia gasosa combinada com espectrometria de massas (GC-MS), precedidas por uma etapa de extração ou pré-concentração (RINCÓN *et al.*, 2014). A cromatografia gasosa combinada com a espectrometria de massas é a técnica mais utilizada para a análise de voláteis em alimentos devido à sua complexidade e seletividade. Essa técnica é utilizada para identificar e quantificar compostos.

O espectrômetro de massas é capaz de gerar informações sobre os compostos analisados, como: massa molecular, composição química, estrutura, verificação de pureza e análise de isótopos. Isso garante uma análise com grande sensibilidade e seletividade. Através desse tipo de detecção, espectros de massa característicos são gerados através da ionização eletrônica por fragmentação de analitos, permitindo a identificação dos compostos através de bibliotecas específicas. Quando utilizada acoplada a cromatografia gasosa, oferece análises rápidas, de alta resolução, simples operação e resultados adequados quanto as análises quantitativas e qualitativas. Contudo, ela é uma análise cara, de altos custos de manutenção e necessidade de operadores altamente qualificados (MARTINS *et al.*, 2022; PUA *et al.*, 2022; NASCIMENTO, *et al.*, 2018).

O sistema GC-MS consiste em: a amostra é adicionada no cromatógrafo a gás através de um injetor com a ajuda de um gás de arraste passando por uma coluna capilar. Ao final dessa passagem, estes compostos são ionizados e passam por um campo magnético de elétrons e são filtrados com base em sua respectiva massa. Por fim, o MS analisa a razão massa/carga, resultando na “impressão digital” do composto (LE., T.; PRIEFER., R., 2023).



**Figura 3.** Esquema de cromatógrafo a gás (Fonte: elaborado pelo autor)

## 6. MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA POR MÚLTIPLO HEADSPACE (SPME-MHS)

A microextração em fase sólida (SPME) é uma técnica que consegue incorporar a amostragem, a extração, a pré concentração e a introdução da amostra no sistema cromatográfico em uma só etapa e sem o uso de solventes (NASCIMENTO, *et al.*, 2018). Por não utilizar solvente, ter alto poder de concentração, ter aplicabilidade em diversos tipos de analitos e facilitar o transporte do material extraído, o SPME mostra-se uma alternativa simples e versátil para o preparo de amostras para cromatografia gasosa (VALENTE, AUGUSTO, 2000; VALENTE *et al.*, 1998). Esse método tem como fundamento o equilíbrio de analitos em uma fibra de compostos não voláteis e a matriz amostral (NASCIMENTO, *et al.*, 2018).

A microextração em fase sólida é muito eficiente quando trata-se da determinação dos compostos responsáveis pelo aroma em alguns alimentos (RINCÓN *et al.*, 2014). Contudo, a técnica de SPME não realiza uma extração exaustiva da amostra, sendo necessário realizar a calibração através de amostras branco, o que compromete a quantificação precisa dos analitos (LIMA

*et al.*, 2023). Para que isso seja evitado, o SPME pode ser realizado por múltiplo headspace. A microextração em fase sólida por múltiplo headspace (MHS-SPME) consiste em uma técnica de extração de voláteis que é capaz de reduzir o efeito de matriz, as perdas por evaporação e a manipulação da amostra.

O MHS-SPME consiste em uma técnica que realiza múltiplas extrações dos compostos voláteis que são liberados através da amostra (estes dentro de um vial fechado). Ele usa a fibra revestida do SPME para captar os voláteis e essa fibra é posteriormente injetada em um cromatógrafo a gás com um detector de espectrômetro de massas para separar, identificar e quantificar os analitos que foram recolhidos pela fibra. Dentro do vial fechado, os voláteis se distribuem em diversas fases, sendo as principais: o headspace, a amostra e a fibra revestida. Para que essa técnica funcione quatro requisitos devem ser cumpridos, sendo: (I) durante cada etapa da extração, os componentes voláteis devem estar em equilíbrio entre as várias fases, (II) os coeficientes de distribuição entre os componentes voláteis e cada uma das fases permaneçam constantes após cada etapa da extração, (III) o volume dos locais onde os componentes voláteis se encontram também devem permanecer constantes após cada etapa da extração e (IV) o número de moléculas de analito na fibra do SPME deve ser proporcional à área do pico daquele analito quando ele é submetido à análise (CANTÚ *et al.*, 2017).

Além disso, é possível fazer várias extrações consecutivas de uma mesma amostra (EZQUERRO *et al.*, 2004). Através do múltiplo headspace é possível realizar a quantificação dos compostos voláteis com maior precisão, eliminando o efeito matriz através das extrações exaustivas dos analitos (LIMA *et al.*, 2023). Essa técnica leva em consideração as áreas obtidas de diversas extrações consecutivas de uma mesma amostra, até que o analito seja exaustivamente extraído. Assim, calcula-se a quantidade do analito através do decaimento das áreas obtidas em cada extração (ALONSO *et al.*, 2022).

## **7. VALIDAÇÃO DE MÉTODO**

Atualmente, a preocupação com a saúde e procedência dos alimentos

consumidos vem crescendo e cada vez mais legislações cada vez mais rígidas para assegurar a segurança dos alimentos são implementadas. Para tanto, métodos analíticos são elaborados para a identificação de contaminantes em alimentos com o objetivo de manter os produtos dentro das determinações legais. Para promover confiança e segurança, são determinados procedimentos de validação do processo analítico (PASCHOAL *et al.*, 2008).

De acordo com a RDC Nº 166/2017 a validação deve demonstrar que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado para a finalidade que se destina, de forma documentada e mediante critérios objetivos. Os parâmetros analíticos normalmente analisados para a validação de método são: seletividade, linearidade, faixa de trabalho e faixa linear, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão, exatidão, robustez e incerteza da medição (NASCIMENTO *et al.*, 2018).

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBOUCHI, A.; MURKOVIC, M. Investigation on the mitigation effects of furfuryl alcohol and 5-hydroxymethylfurfural and their carboxylic acid derivatives in coffee and coffee-related model systems. **Food research international**, v. 137, p. 109444, 2020.

Albouchi, A., & Murkovic, M. (2020). Investigation on the mitigation effects of furfuryl alcohol and 5-hydroxymethylfurfural and their carboxylic acid derivatives in coffee and coffee-related model systems. *Food research international*, 137, 109444.

Alonso, M. L., San Román, I., Bartolomé, L., Monfort, N., Alonso, R. M., & Ventura, R. (2022). Multiple headspace solid-phase microextraction (MHS-SPME) methodology applied to the determination of volatile metabolites of plasticizers in human urine. *Microchemical Journal*, 180, 107567.

Arruda, N. P., Hovell, A., Rezende, C. M., Freitas, S. P., Couri, S., & Bizzo, H. R. (2012). Correlação entre precursores e voláteis em café arábica brasileiro processado pelas vias seca, semiúmida e úmida e discriminação através da análise por componentes principais. *Química Nova*, 35, 2044-2051.

Barrios-Rodríguez, Y. F., Gutiérrez-Guzmán, N., Pedreschi, F., & Mariotti-Celis, M. S. (2022). Rational design of technologies for the mitigation of neo-formed contaminants in roasted coffee. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 223-235.

Batool, Z., Xu, D., Zhang, X., Li, X., Li, Y., Chen, Z., ... & Li, L. (2021). A review on furan: Formation, analysis, occurrence, carcinogenicity, genotoxicity and reduction methods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(3), 395-406.

Bekki, K., Uchiyama, S., Inaba, Y., & Ushiyama, A. (2021). Analysis of furans and pyridines from new generation heated tobacco product in Japan. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 26, 1-8.

BRASIL. (2017). Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências.

Cantú, A. A. (2017). Comments on the multiple headspace-solid phase microextraction (MHS-SPME) technique for dating inks. *Forensic Chemistry*, 3, 14-20.

Cao, X., Wu, H., Viejo, C. G., Dunshea, F. R., & Suleria, H. A. (2023). Effects of postharvest processing on aroma formation in roasted coffee—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(3), 1007-1027.

Cardoso, W. S., Agnoletti, B. Z., de Freitas, R., de Abreu Pinheiro, F., & Pereira, L. L. (2021). Biochemical aspects of coffee fermentation. *Quality Determinants In Coffee Production*, 149-208.

da Costa, D. S., Albuquerque, T. G., Costa, H. S., & Bragotto, A. P. A. (2023). Thermal Contaminants in Coffee Induced by Roasting: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(8), 5586.

da Silva, C. Q., da Silva Fernandes, A., Teixeira, G. F., França, R. J., da Costa Marques, M. R., Felzenszwalb, I., ... & Ferraz, E. R. A. (2021). Risk assessment of coffees of different qualities and degrees of roasting. *Food Research International*, 141, 110089.

Dart, S. K., & Nursten, H. E. (1985). Volatile components. *Coffee: Volume 1: Chemistry*, 223-265.

De Maria, C. A. B., Moreira, R. F. A., & Trugo, L. C. (1999). Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. *Química nova*, 22, 209-217.

Diaz-de-Cerio, E., Guerra-Hernandez, E., Garcia-Estepa, R., Garcia-Villanova, B., & Verardo, V. (2019). Analytical approaches in coffee quality control. In *Caffeinated and Cocoa Based Beverages* (pp. 285-336). Woodhead Publishing.

dos Santos, H. D., & Boffo, E. F. (2021). Coffee beyond the cup: analytical techniques used in chemical composition research—a review. *European Food Research and Technology*, 247(4), 749-775.

de Sousa e Silva, J., Moreli, A. P., Donzeles, S. M. L., Soares, S. F., & Vitor, D. G. (2021). Harvesting, Drying and Storage of Coffee. *Quality Determinants In Coffee Production*, 1-64.

EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF). (2011). Scientific Opinion on Flavouring Group Evaluation

218, Revision 1 (FGE. 218Rev1): alpha, beta-Unsaturated aldehydes and precursors from subgroup 4.2 of FGE. 19: Furfural derivatives. *EFSA Journal*, 9(3), 1840.

EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF). (2015). Scientific Opinion on Flavouring Group Evaluation 99 Revision 1 (FGE. 99Rev1): Consideration of furanone derivatives evaluated by the JECFA (63rd, 65th and 69th meetings). *EFSA Journal*, 13(11), 4286.

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Knutsen, H. K., Alexander, J., Barregård, L., Bignami, M., Brüschweiler, B., ... & Wallace, H. (2017). Risks for public health related to the presence of furan and methylfurans in food. *EFSA Journal*, 15(10), e05005.

European Food Safety Authority. (2011). Update on furan levels in food from monitoring years 2004–2010 and exposure assessment. *EFSA Journal*, 9(9), 2347.

Ezquerro, O., Ortiz, G., Pons, B., & Tena, M. T. (2004). Determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in soils by multiple headspace solid-phase microextraction. *Journal of chromatography A*, 1035(1), 17-22.

Farag, M. R., Alagawany, M., Bin-Jumah, M., Othman, S. I., Khafaga, A. F., Shaheen, H. M., ... & Abd El-Hack, M. E. (2020). The toxicological aspects of the heat-borne toxicant 5-hydroxymethylfurfural in animals: a review. *Molecules*, 25(8), 1941.

. Fromberg, A., Fagt, S., & Granby, K. (2009). Furan in heat processed food products including home cooked food products and ready-to-eat products. *EFSA Supporting Publications*, 6(9), 1E.

Galarza, G., & Figueroa, J. G. (2022). Volatile compound characterization of coffee (*coffea arabica*) processed at different fermentation times using SPME–GC–MS. *Molecules*, 27(6), 2004.

Hayes, R. B. (1996). Dry Cleaning, Some Chlorinated Solvents and Other Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 63.

Javed, F., Shahbaz, H. M., Nawaz, A., Olaimat, A. N., Stratakos, A. C., Wahyono, A., ... & Park, J. (2021). Formation of furan in baby food products: Identification and technical challenges. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 2699-2715.

Kettlitz, B., Scholz, G., Theurillat, V., Cselovszky, J., Buck, N. R., O'Hagan, S., ... & Stadler, R. H. (2019). Furan and methylfurans in foods: an update on occurrence, mitigation, and risk assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and food safety*, 18(3), 738-752.

Kim, Y. J., Choi, J., Lee, G., & Lee, K. G. (2021). Analysis of furan and monosaccharides in various coffee beans. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 862-869.

Laukalēja, I., Krūma, Z., & Cinkmanis, I. (2022). Impact of The Roast Level on Chemical Composition of Coffee from Colombia. In *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. (Vol. 76, No. 1, pp. 145-151).

Le, T., & Priefer, R. (2023). Detection technologies of volatile organic compounds in the breath for cancer diagnoses. *Talanta*, 124767.

Lima, A. F., da Silva Oliveira, W., de Oliveira Garcia, A., Vicente, E., & Godoy, H. T. (2023). Identifying markers volatiles in Brazilian virgin oil by multiple headspace solid-phase microextraction, and chemometrics tools. *Food Research International*, 167, 112697.

Liu, Q., Zhou, P., Luo, P., & Wu, P. (2023). Occurrence of Furfural and Its Derivatives in Coffee Products in China and Estimation of Dietary Intake. *Foods*, 12(1), 200.

Ludwig, I. A., Clifford, M. N., Lean, M. E., Ashihara, H., & Crozier, A. (2014). Coffee: biochemistry and potential impact on health. *Food & function*, 5(8), 1695-1717.

Macheiner, L., Schmidt, A., Karpf, F., & Mayer, H. K. (2021). A novel UHPLC method for determining the degree of coffee roasting by analysis of furans. *Food Chemistry*, 341, 128165.

Mahmud, M. C., Keast, R., Mohebbi, M., & Shellie, R. A. (2022). Identifying aroma-active compounds in coffee-flavored dairy beverages. *Journal of Food Science*, 87(3), 982-997.

Martins, F. C., Alcantara, G. M., Silva, A. F. S., Melchert, W. R., & Rocha, F. R. (2022). The role of 5-hydroxymethylfurfural in food and recent advances in analytical methods. *Food chemistry*, 395, 133539.

Moon, J. K., & Shibamoto, T. (2009). Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(13), 5823-5831.

Moro, S., Chipman, J. K., Wegener, J. W., Hamberger, C., Dekant, W., & Mally, A. (2012). Furan in heat-treated foods: Formation, exposure, toxicity, and aspects of risk assessment. *Molecular nutrition & food research*, 56(8), 1197-1211.

Nascimento, R. F. D., Lima, A. C. A. D., Barbosa, P. G. A., & Silva, V. P. A. D. (2018). Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos.

Ormond, J. G. P., Paula, S. R. L. D., & Faveret Filho, P. D. S. C. (1999). Café:(re) conquista dos mercados.

Paschoal, J. A. R., Rath, S., Airoidi, F. P. D. S., & Reyes, F. G. (2008). Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. *Química Nova*, 31, 1190-1198.

Pereira, L. L., Júnior, D. B., de Sousa, L. H. B. P., dos Santos Gomes, W., Cardoso, W. S., Guarçoni, R. C., & ten Caten, C. S. (2021). Relationship Between Coffee Processing and Fermentation. *Quality Determinants In Coffee Production*, 255-301.

Pereira, L. L., Debona, D. G., Pinheiro, P. F., de Oliveira, G. F., ten Caten, C. S., Moksunova, V., ... & Yamamoto, H. (2020). Roasting process. In *Quality determinants in coffee production* (pp. 303-372). Cham: Springer International Publishing.

Pinheiro, P. F., Pinheiro, C. A., Osório, V. M., & Pereira, L. L. (2021). Chemical constituents of coffee. *Quality determinants in coffee production*, 209-254.

Poisson, L., Blank, I., Dunkel, A., & Hofmann, T. (2017). The chemistry of roasting—Decoding flavor formation. In *The craft and science of coffee* (pp. 273-309). Academic Press.

Pua, A., Goh, R. M. V., Huang, Y., Tang, V. C. Y., Ee, K. H., Cornuz, M., ... & Yu, B. (2022). Recent advances in analytical strategies for coffee volatile studies: Opportunities and challenges. *Food Chemistry*, 388, 132971.

Rincón, A. A., Pino, V., Ayala, J. H., & Afonso, A. M. (2014). Multiple headspace solid-phase microextraction for quantifying volatile free fatty acids in cheeses. *Talanta*, 129, 183-190.

Schenker, S., & Rothgeb, T. (2017). The roast—Creating the Beans' signature. In *The craft and science of coffee* (pp. 245-271). Academic Press.

Schmidt, C. A. P., Miglioranza, É., & Prudêncio, S. H. (2008). Interação da torra e moagem do café na preferência do consumidor do oeste paranaense. *Ciência Rural*, 38, 1111-1117.

Scholl, G., Huybrechts, I., Humblet, M. F., Scippo, M. L., De Pauw, E., Eppe, G., & Saegerman, C. (2012). Risk assessment for furan contamination through the food chain in Belgian children. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(8), 1219-1229.

Seninde, D. R., & Chambers IV, E. (2020). Coffee flavor: A review. *Beverages*, 6(3), 44.

VALENTE, Antonio Luiz Pires; AUGUSTO, Fabio. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, v. 23, p. 523-530, 2000.

Valente, A. L. P., Augusto, F., Montero, L., Rocha, E. C. D., & Pawliszyn, J. (1998). Aplicação de SPME (solid phase micro-extraction) na análise de águas potáveis de três localidades do Estado de São Paulo. *Química nova*, 21, 804-806.

Waizenegger, J., Winkler, G., Kuballa, T., Ruge, W., Kersting, M., Alexy, U., & Lachenmeier, D. W. (2012). Analysis and risk assessment of furan in coffee products targeted to adolescents. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(1), 19-28.

Wang, X., Wang, Y., Hu, G., Hong, D., Guo, T., Li, J., ... & Qiu, M. (2022). Review on factors affecting coffee volatiles: From seed to cup. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(4), 1341-1352.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. IARC monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans. Agents classified by the IARC monographs, v. 1, 2020.

Zakidou, P., Plati, F., Matsakidou, A., Varka, E. M., Blekas, G., & Paraskevopoulou, A. (2021). Single origin coffee aroma: From optimized flavor protocols and coffee customization to instrumental volatile characterization and chemometrics. *Molecules*, 26(15), 4609.

Zhu, M., Long, Y., Ma, Y., Huang, Y., Wan, Y., Yu, Q., ... & Chen, Y. (2022). Investigation of thermal contaminants in coffee beans induced by roasting: A kinetic modeling approach. *Food Chemistry*, 378, 132063.

## CAPÍTULO 2:

### VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FURÂNICOS EM CAFÉ POR MÚLTIPLO HEADSPACE- MICOEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (MHS-SPME-GC-MS)

Valentina Chaves **Tognocchi**<sup>a</sup>; Wellington da Silvia **Oliveira**<sup>a</sup>; Silvia Amélia  
Verdiani **Tfouni**<sup>a</sup>; Aline Garcia de **Oliveira**<sup>a</sup>

<sup>a</sup> – Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos, Instituto de Tecnologia de  
Alimentos (ITAL), Campinas-SP, Brasil

## RESUMO

O processo de torra é a etapa responsável pela formação do sabor e aroma dos produtos do café, levando à formação de compostos voláteis, entre eles os compostos furânicos que são classificados como possivelmente carcinogênicos para humanos, sendo o café o maior responsável pela exposição de indivíduos adultos a esses compostos. O presente estudo teve como objetivo otimizar e validar um método para a quantificação de seis compostos furânicos em café utilizando microextração em fase sólida e múltiplo headspace para preparo da amostra e detecção por GC-MS. O método se mostrou adequado, com limites de detecção e quantificação entre 0,003 e 0,2 mg/kg e entre 0,012 e 0,8 mg/kg, respectivamente. A precisão intradia e precisão intermediária foram menores que 20%. O método foi aplicado em 20 amostras de café torrado e moído comerciais. Os níveis dos compostos encontrados variaram de 2,74 a 9,05 mg/kg (furano), 4,69 a 22,05 mg/kg (furfural), 2,33 a 23,09 mg/kg (5MF), 0,12 a 20,29 mg/kg (furanona) e 0,05 a 134,09 mg/kg (5HMF). O método otimizado e validado se mostrou simples e sem uso de solvente. Por ser um produto muito consumido, faz-se necessário monitorar a incidência dessas substâncias de modo a garantir a qualidade do produto e a segurança do consumidor.

Palavras-chave: café; GC-MS; SPME; MHS; compostos furânicos

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo país que mais consome café, sendo também o maior produtor e exportador do produto no mundo (DE SOUZA E SILVA *et al.*, 2021). Os grãos verdes de café não são diretamente consumidos, já que não possuem aroma ou sabor agradáveis. Contudo, seus compostos não voláteis degradam e reagem durante a torra, originando os compostos voláteis, que variam em aroma, potência e concentração e proporcionam as características sensoriais do café (DART; NURSTEN, 1985).

O processo de torra é a etapa responsável pela formação do sabor e aroma dos produtos do café (DIAZ-DE-CERIO, *et al.*, 2019). O tempo e a temperatura da torra não resultam apenas no grau e coloração de torra desejados, mas também causam reações químicas nos cafés verdes (ZAKIDOU *et al.*, 2021), formando os compostos voláteis do café torrado. Estes compostos são responsáveis pelo aroma característico do café (PEREIRA *et al.*, 2021). Dentre estes compostos voláteis, estão os compostos furânicos. Estes são uma classe de moléculas orgânicas de anéis heterocíclicos aromáticos de cinco membros, amplamente encontradas em amostras de café torrado (ALBOUCHI; MURKOVIC, 2020). Em cafés verdes, apenas alguns traços de compostos furânicos são encontrados, enquanto cafés torrados apresentam maiores concentrações, indicando que a formação destes compostos é resultado do processo de torra e que esta aumenta de acordo com a intensidade do processo (WAIZENEGGER *et al.*, 2012; EFSA, 2017). Os compostos furânicos contribuem consideravelmente para as características sensoriais do café torrado, e, devido à grande variedade estrutural, as notas aromáticas proporcionadas por eles também são extremamente variadas. Muitos

furanos são diretamente produzidos pela pirólise de açúcar, conferindo aroma de caramelo à bebida (DART; NURSTEN, 1985).

Por outro lado, o furano e o álcool furfurílico são classificados como possivelmente carcinogênicos para humanos (grupo 2B) pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC, 1996). A European Food Safety Authority (EFSA) reportou que o café é o maior responsável pela exposição de indivíduos adultos a furano (EFSA, 2017). Uma vez que a temperatura utilizada no processo de torra afeta diretamente o desenvolvimento do aroma e a concentração de furanos, faz-se necessário avaliar e controlar as condições de torra para que seja possível mitigar a ocorrência desses compostos sem que isso interfira na qualidade do café (KETTTLITZ, *et al.*, 2019).

Quanto à avaliação quantitativa, a determinação de furanos apresenta algumas dificuldades devido à sua alta diversidade. Diversos métodos para a determinação destes compostos já foram reportados na literatura, como cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a um detector de ultravioleta (UHPLC-UV), reação de transferência de próton acoplada a espectrometria de massas (PTR-MS), cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (GC-MS) e por ionização de chama (GC-FID) (MACHEINER *et al.*, 2021; BATOOL *et al.*, 2021), dentre outros. As técnicas de extração mais indicadas envolvem a utilização de amostragem direta de headspace e microextração em fase sólida (SPME) (JAVED *et al.*, 2021).

A SPME é uma técnica que não utiliza solvente, tem alto poder de concentração, pode ser aplicada a diversos tipos de analitos e facilita o transporte do material extraído, mostrando-se uma alternativa simples, versátil e de baixo

custo para a preparação de amostras para cromatografia gasosa (VALENTE, AUGUSTO, 2000; VALENTE *et al.*, 1998).

Apesar da microextração em fase sólida ser muito vantajosa, ela não realiza uma extração exaustiva da amostra, sendo necessária a realização de calibrações utilizando amostras branco e podendo comprometer a quantificação dos compostos em questão (LIMA *et al.*, 2023). Para que isso não ocorra, a microextração em fase sólida por múltiplo headspace é uma alternativa. Essa técnica consiste na extração de voláteis em amostras sólidas que é capaz de reduzir o efeito de matriz, as perdas por evaporação e a manipulação da amostra (EZQUERRO *et al.*, 2004). Neste processo, diversas extrações são realizadas em uma mesma amostra, promovendo uma extração exaustiva dos analitos. Assim, a partir do decaimento exponencial de cada analito em questão e a área total do pico, é possível realizar a quantificação de cada composto (LIMA *et al.*, 2023).

Furano, furfural, 5-metilfurfural, álcool furfurílico, furaneol e 5-hidroximetilfurfural são compostos de grande incidência no café e que contribuem diretamente para as características sensoriais da bebida. Devido à sua possível toxicidade e o amplo consumo mundial do café, estes foram os compostos alvo do estudo. Além disso, não existem estudos previamente realizados que tenham quantificado esses seis compostos de uma vez à partir de GC-MS/MHS-SPME.

Considerando o amplo consumo do café e os desafios para a determinação de compostos furânicos, o presente estudo teve como objetivo otimizar e validar um método para a quantificação de seis compostos furânicos em cafés comerciais utilizando SPME e múltiplo headspace para preparo da amostra e detecção por GC-MS.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Amostras

Vinte amostras de café torrado e moído (Tabela 1) foram utilizadas para a realização deste estudo, sendo seis amostras com classificação de café tradicional (amostras A a F), seis de café superior (G a L), seis de café gourmet (M a R) e duas de café extraforte (S e T). As amostras foram coletadas aleatoriamente em diferentes mercados da cidade de Campinas, São Paulo, Brasil. Estas foram armazenadas em temperatura ambiente e mantidas em suas embalagens originais.

**Tabela 1.** Amostras e suas respectivas classificações.

<b>Amostra</b>	<b>Classificação</b>
A	Tradicional
B	Tradicional
C	Tradicional
D	Tradicional
E	Tradicional
F	Tradicional
G	Superior
H	Superior
I	Superior
J	Superior
K	Superior
L	Superior
M	Gourmet
N	Gourmet
O	Gourmet
P	Gourmet
Q	Gourmet
R	Gourmet

<b>S</b>	Extra Forte
<b>T</b>	Extra Forte

## 2.2. Reagentes e padrões

Foram utilizados padrões de furano (TCI America, 99% de pureza), furfural (Sigma, 99% pureza), 5-metilfurfural (Sigma,  $\geq 98,5\%$  pureza), álcool furfurílico (TCI America,  $>98\%$  de pureza), furaneol (Sigma,  $\geq 99\%$  de pureza) e 5-hidroximetilfurfural (Carbosynth Ltd, 98% de pureza), hexil acetato (Sigma,  $>98\%$  de pureza) e dibutilftalato (Sigma, 99% de pureza). Metanol e Hexano grau cromatográfico foram obtidos da Merck.

Soluções estoque contendo 1000 mg/kg foram preparadas em metanol para furaneol e 5-hidroximetil furfural e em hexano para furano, furfural, álcool furfurílico e 5-metilfurfural. A partir da solução estoque, soluções contendo 100 mg/kg de cada analito foram preparadas utilizando os mesmos solventes. Posteriormente, soluções de calibração contendo o LOQ, 2, 6, 10, 14 mg.kg<sup>-1</sup> foram preparadas em água e em dibutilftalato. Como padrão interno utilizou-se hexil acetato (1 mg/kg) diluído em dibutilftalato.

## 2.3. Otimização das condições de detecção

Para a determinação dos compostos furânicos estudados (furano, furfural, álcool furfurílico, 5-metilfurfural, furaneol e 5-hidroximetilfurfural) foi utilizado um sistema cromatográfico a gás (Agilent 8890), contendo um amostrador automático PAL (RSI 85), um espectrômetro de massas triplo quadrupolo (Agilent 7010B) e um injetor multimodo. Para a ionização utilizou-se uma fonte de ionização por elétrons (EI) de alta eficiência (Agilent) e para a separação uma coluna polar VF-WAXms

(60 m × 0,25 mm × 0,50 µm, Agilent). A seguinte condição cromatográfica foi empregada: temperatura inicial do forno a 34°C por 1 minuto, com rampa de 2°C/min até 40°C na qual foi mantida por 8 minutos; com posterior rampa de 10°C/min até 240°C, na qual mantida por 12 minutos, totalizando 40 minutos análise. O injetor foi mantido a 25°C por 0,01 minuto, com posterior rampa de temperatura de 650°C/min até atingir 300°C na qual foi mantido até o final da análise.

Inicialmente, os compostos e tempos de retenção de cada um foram determinados através de injeções líquidas contendo mix metanólicos com 10ppm de cada analito na condição Scan do cromatógrafo. Após essas determinações, utilizou-se a função SIM para prosseguir com a otimização das condições de detecção dos compostos.

A condição de detecção dos compostos foi otimizada utilizando o software optimizer do Mass Hunter. Para tanto, foram determinados os íons precursores, íons produtos e a energia de colisão de cada composto. Para essa etapa foi realizada a injeção líquida de um mix metanólico contendo 10 mg/kg de cada composto. O método determinado foi o método MRM. Esse é um método mais sensível e específico, já que análise apenas os íons e energias pré determinados de cada composto de interesse.

#### **2.4. Planejamento experimental**

Após a otimização da detecção de cada composto, um planejamento experimental foi delineado para otimizar as condições de extração utilizando microextração em fase sólida (SPME). Para tanto, um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi realizado para otimização do Tempo de Incubação

(minutos), Tempo de Extração (minutos), Temperatura de Extração (°C) e Agitação (rpm) (Tabela 2). Vinte e oito ensaios foram conduzidos para a determinação das condições. Após, o método de Derringer e Suich (1980) foi aplicado para encontrar as melhores condições de extração para estes compostos. A otimização foi feita utilizando um mix de padrões preparados em água contendo 1 mg/kg de cada composto.

Posteriormente, foi avaliado o impacto da quantidade de amostra (100 mg, 60 mg e 20 mg) e o número de extrações necessárias para realizar o múltiplo headspace (MHS). A massa escolhida é crucial para o andamento do experimento, já que massas muito pequenas podem sofrer uma perda muito significativa entre a primeira extração e as seguintes, deixando o composto abaixo dos limites de detecção do equipamento e não permitindo o decaimento exponencial e, conseqüentemente, a quantificação da amostra. Em contrapartida, grandes quantidades de amostra podem ocasionar em saturação do headspace, também não sendo possível realizar o decaimento exponencial (LIMA *et al.*, 2023). Assim, faz-se necessário a seleção da quantidade de amostra ideal para que o decaimento exponencial esteja presente e para que, posteriormente, a quantificação seja realizada.

Para a realização da otimização através do SPME para as condições de extração e MHS-SPME para a definição da melhor massa, uma fibra de CAR/PDMS/DVB (1cm) foi utilizada.

**Tabela 2.** Planejamento experimental para otimização da extração utilizando SPME.

Variáveis	Valores codificados				
	-2	-1	0	1	2

X <sub>1</sub> : Tempo de Incubação (min)	20	30	40	50	60
X <sub>2</sub> : Tempo de Extração (min)	20	30	40	50	60
X <sub>3</sub> : Temperatura de Extração (°C)	65	70	75	80	85
X <sub>4</sub> : Agitação (rpm)	250	362,5	475	587,5	700

Valores reais

Ensaio	Tempo Incubação (minutos)	Tempo de Extração (minutos)	Temperatura Incubação (graus celsius)	Agitação (rotação por minuto)
1	30,0	30,0	70,0	362,5
2	50,0	30,0	70,0	362,5
3	30,0	50,0	70,0	362,5
4	50,0	50,0	70,0	362,5
5	30,0	30,0	80,0	362,5
6	50,0	30,0	80,0	362,5
7	30,0	50,0	80,0	362,5
8	50,0	50,0	80,0	362,5
9	30,0	30,0	70,0	587,5
10	50,0	30,0	70,0	587,5
11	30,0	50,0	70,0	587,5
12	50,0	50,0	70,0	587,5
13	30,0	30,0	80,0	587,5
14	50,0	30,0	80,0	587,5
15	30,0	50,0	80,0	587,5
16	50,0	50,0	80,0	587,5
17	40,0	40,0	75,0	250,0
18	40,0	40,0	75,0	700,0
19	40,0	40,0	65,0	475,0
20	40,0	40,0	85,0	475,0
21	40,0	20,0	75,0	475,0
22	40,0	60,0	75,0	475,0
23	20,0	40,0	75,0	475,0
24	60,0	40,0	75,0	475,0
25	40,0	40,0	75,0	475,0
26	40,0	40,0	75,0	475,0
27	40,0	40,0	75,0	475,0
28	40,0	40,0	75,0	475,0

## 2.5. Validação do método

O método foi validado de acordo com o proposto pela RDC 166 da ANVISA (2017), sendo avaliados os limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), linearidade e precisão (intradia e intermediária).

O limite de detecção foi determinado como sendo 3 vezes o sinal ruído. O limite de quantificação foi calculado como 3 vezes o LD. A linearidade do método foi avaliada usando uma curva de calibração a partir de 5 pontos (LQ, 2, 6, 10 e 14 mg.kg<sup>-1</sup>) injetadas em triplicata. A falta de ajuste e a linearidade foram avaliadas utilizando ANOVA.

A precisão intradia e intermediária foi determinada a partir de três pontos distintos das curvas de calibração (LQ, ponto do meio e maior ponto da curva). A precisão intradia foi definida por 10 injeções seguidas no mesmo dia. Já a precisão interdia foi definida por 3 injeções seguidas em 3 dias consecutivos. A precisão foi calculada pelo desvio padrão relativo, através da média dos ensaios. O método validado foi utilizado para quantificação dos compostos furânicos em 20 amostras comerciais de café.

## 2.6. Quantificação dos compostos furânicos

20 mg de cada amostra foi pesada em um vial de 20 mL e submetida a 5 extrações consecutivas. A área total de cada composto foi obtida utilizando a equação 1:

$$A_T = \sum_{i=1}^{i \rightarrow \infty} A_i = \frac{A_1}{1 - e^{-q}} = \frac{A_1}{1 - \beta} \quad (1)$$

onde  $A_T$  é a área total estimada do pico,  $A_1$  a área do pico obtida na primeira

extração, e o expoente  $q$  é uma constante descreve o declínio exponencial associado ao  $\beta$ .

O  $\beta$  é um valor constante obtido a partir da inclinação da curva de regressão dos logaritmos das áreas dos picos individuais em função do número de extrações, conforme a equação (2).

$$\ln A_i = \ln A_1 + (i-1) \cdot \ln \beta \quad (2)$$

onde  $A_i$  é a área obtida na  $i$ -ésima extração. Esta fórmula representa uma equação linear do tipo  $y = ax + b$ , onde  $\ln A_1$  é o intercepto no eixo  $y$  e  $\ln \beta$  é a inclinação.

A concentração de cada composto foi determinada utilizando curvas de calibração externa, utilizando cinco concentrações dos padrões analíticos (LQ a 14 mg/kg), os quais foram analisados nas mesmas condições.

Hexil acetato foi utilizado como padrão interno. Para tanto, o pré-carregamento do padrão interno na fibra foi realizado antes de cada extração. Esse procedimento reduz erros associados a adição de padrão na amostra e permite monitorar a confiabilidade e eficiência do SPME durante o uso (WANG *et al.*, 2005).

As curvas analíticas foram plotadas usando área total versus concentração. As concentrações nas amostras foram obtidas usando a área total obtida na 1ª extração através do termo  $\beta$  e equação (1).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A validação de um método para a determinação dos compostos furânicos é essencial para que esses compostos sejam detectados e quantificados na amostra. Devido a sua grande incidência no café, sua correlação com a qualidade do

produto, seus possíveis aspectos toxicológicos, suas diversas vias de formação e o amplo consumo mundial do café, é necessário monitorar esses compostos.

### 3.1. Identificação dos compostos furânicos

Os compostos furânicos se formam durante o processamento térmico de diversos alimentos. Sabe-se que muitos precursores estão envolvidos na formação destes compostos, envolvendo a degradação de carboidratos e do ácido ascórbico, além da oxidação térmica de ácidos graxos poliinsaturados (CONDURSO *et al.*, 2018).

A Tabela 3 mostra como os compostos furânicos escolhidos para o estudo se comportou em relação à sua identificação. Seis compostos furânicos foram escolhidos para este estudo, sendo eles: furano, furfural, 5-metilfurfural, álcool furfurílico, furaneol e 5-hidroximetilfurfural.

**Tabela 3.** Condições de detecção dos compostos estudados.

Composto	Tempo de Retenção (min)	Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (V)
Furano	6,4	68	39,1	25
Furano	6,4	68	29,1	25
Hexil Acetato	18,22	84,1	41,1	15
Hexil Acetato	18,22	84,1	69	0
Furfural	25,65	96	39,1	40
Furfural	25,65	96	68	10
5-metilfurfural	27,23	110	53	20
5-metilfurfural	27,27	110	81	10
Álcool furfurílico	28,02	98	42,1	15
Álcool furfurílico	28,02	98	70	5
Furaneol	32,39	128	43,1	20
Furaneol	32,39	128	85	5
5-hidroximetilfurfural	39,62	125.9	69	15

5-hidroximetilfurfural	39,62	125.9	97	5
------------------------	-------	-------	----	---

### 3.2. Otimização e extração MHS-SPME

Diversos parâmetros podem influenciar na extração de voláteis por headspace (BATOOL *et al.*, 2021). Por isso, no presente estudo uma otimização foi conduzida para encontrar a melhor condição para extração dos compostos alvo por SPME. Os parâmetros otimizados foram: tempo de incubação ( $X_1$ ), tempo de extração ( $X_2$ ), temperatura de incubação ( $X_3$ ) e agitação ( $X_4$ ).

As condições do SPME foram otimizadas e a melhor condição encontrada foi: 30 minutos de tempo de incubação, 30,5 minutos de tempo de extração, 80 °C para temperatura de incubação e 587,5 rpm de agitação. Essa condição obteve 0,697 de desejabilidade a partir do teste de Derringer e Suich (1980), sendo a escolhida para as análises posteriores do presente estudo.

Cada composto se comportou de uma maneira, sendo que, para o furano, furfural, álcool furfurílico e 5-HMF, a temperatura de extração foi o parâmetro mais significativo. Para 5-metilfurfural o tempo de extração, tempo de extração quadrático, temperatura de extração e tempo de extração  $\times$  temperatura de extração foram os parâmetros que mais impactaram na análise e para furaneol, nenhum parâmetro foi significativo.

Segundo relatado por Huang *et al* (2022) temperaturas mais elevadas de extração e maiores tempos de extração podem diminuir a adsorção do furano e seus derivados. Além disso, a etapa de agitação facilita o aumento da transferência de massa para a obtenção mais rápida do equilíbrio através da redução da camada de difusão em torno do revestimento da fibra.

Após a escolha das melhores condições para a realização do SPME, foi necessário determinar a quantidade de massa para a realização do múltiplo headspace (MHS). Essa etapa é muito importante, pois conforme mencionado anteriormente, pequenas quantidades de massa podem resultar em extração total do analito impossibilitando a obtenção do decaimento exponencial (LIMA *et al.*, 2023).

As massas de 100, 60 e 20 mg foram estudadas e seus decaimentos podem ser visualizados na Tabela 4. É possível notar que quase todas as massas apresentaram bons valores para coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Contudo, coeficientes angulares maiores, o que impacta em melhor sensibilidade, foram vistos nas amostras com massa de 20 mg (Tabela 4 e Figura 1).

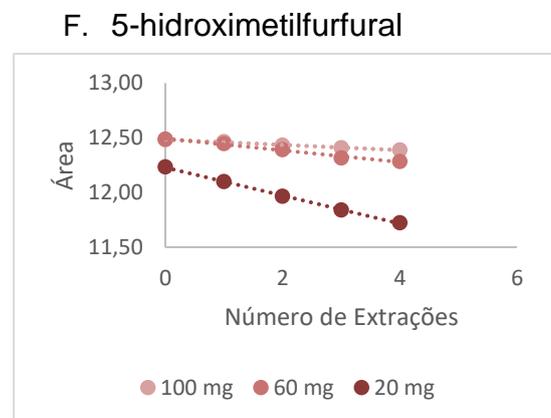
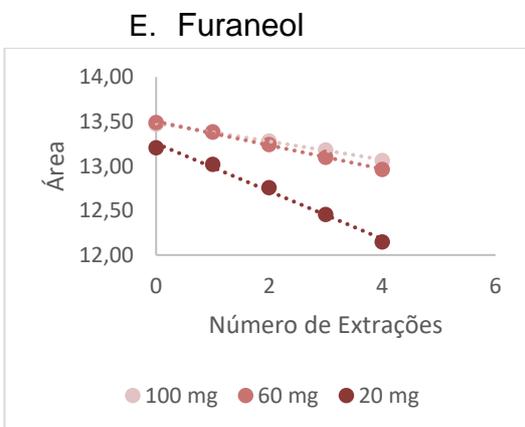
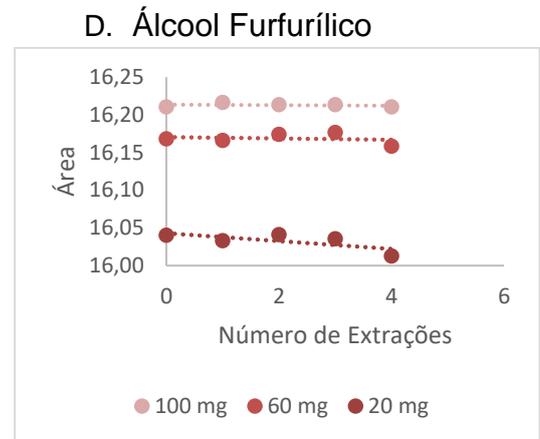
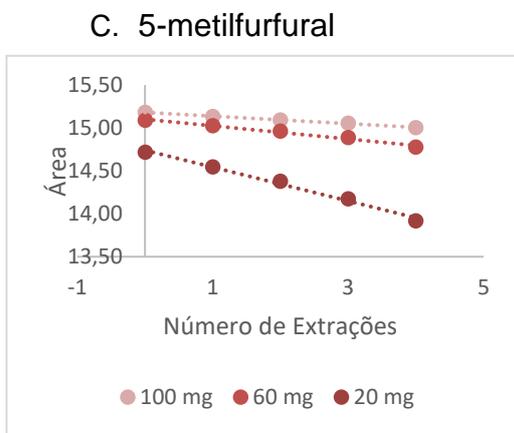
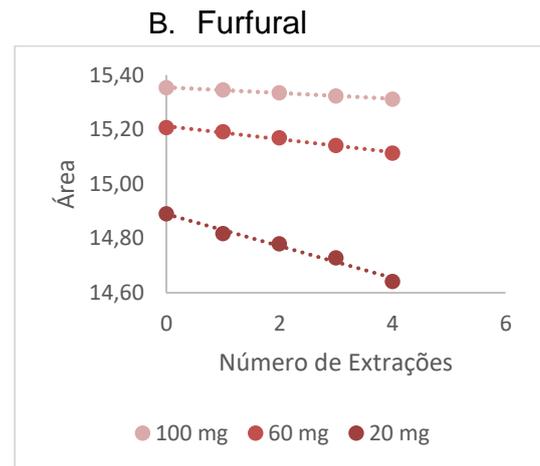
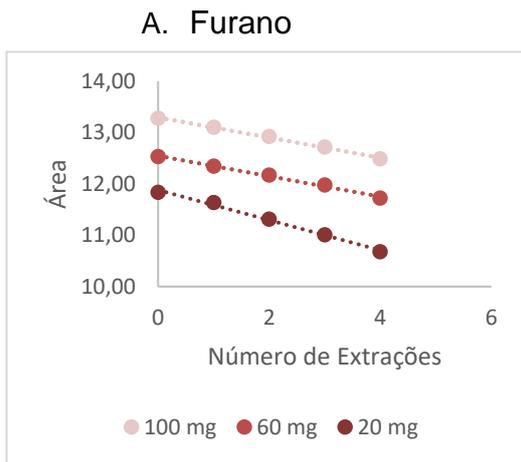
Por apresentar um melhor cenário para a execução do MHS, a massa escolhida para a realização dos experimentos foi de 20 mg. Com essa massa, foi possível obter valores de beta entre 0,71 e 0,94 (Tabela 4). Os decaimentos para esta quantidade de amostra mostrou-se adequado (Figura 2). Quantidades muito altas de amostra podem não demonstrar decaimento significativo durante as extrações, sendo impossível de calcular o valor de  $\beta$ . Os valores de  $\beta$  precisam estar, idealmente, entre 0,4 e 0,95. Valores abaixo de 0,4 indicam que a aplicação do MHS não é necessária, já que o analito já foi extraído de forma exaustiva na primeira extração. Valores acima de 0,95 indicam que o analito possui grandes concentrações na amostra, não sendo extraídos por completo ao final da extração (LIMA *et al.*, 2023; HUANG *et al.*, 2022; MORO *et al.*, 2012).

Por não apresentar um decaimento exponencial desejável, não foi possível realizar a quantificação do álcool furfurílico. Isso ocorreu devido às grandes concentrações desse composto no café, desencadeando o que foi comentado por

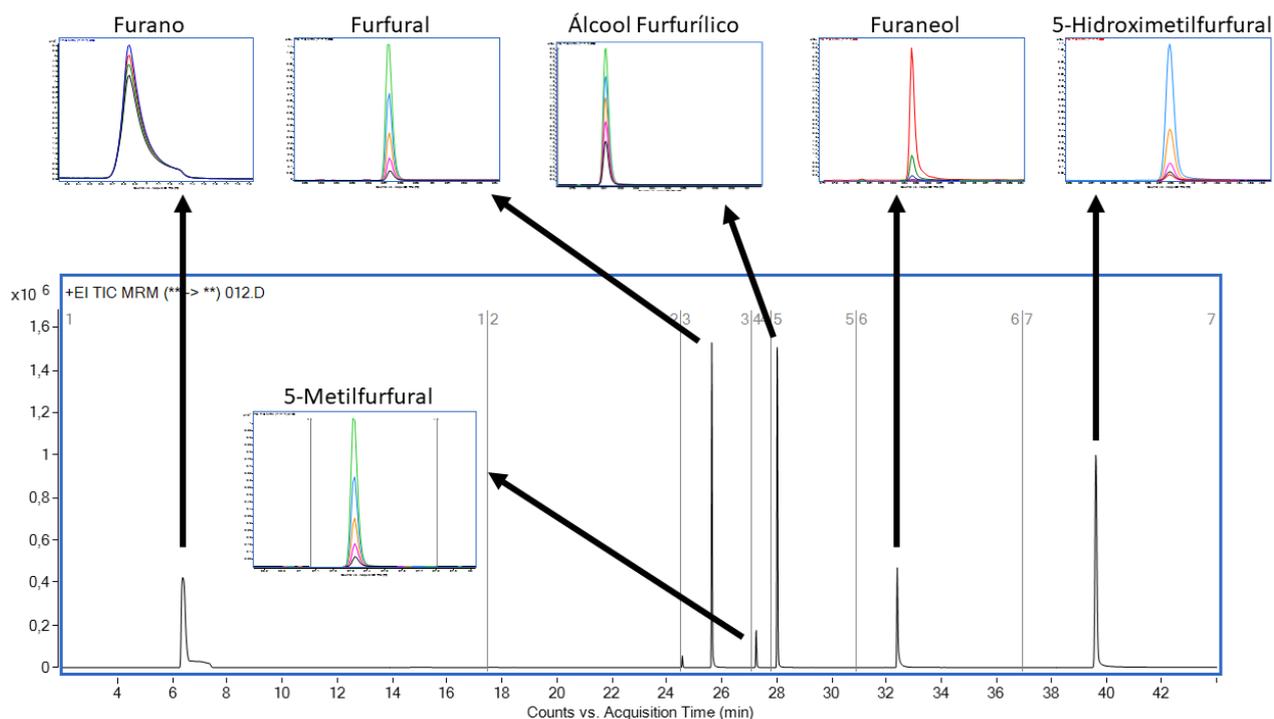
Lima *et al.* (2023), onde grandes concentrações não resultam em decaimento exponencial, não sendo possível realizar a quantificação do composto. O álcool furfúrico foi mantido no método somente para monitoramento de incidência.

**Tabela 4.** Dados comparativos das massas 20, 60 e 100 mg estudadas para execução da extração por múltiplo headspace.

	Furano	Furfural	5-Metilfurfural	Álcool Furfurílico	Furaneol	5-HMF
<b>Condições 20 mg</b>						
<b>Beta (<math>\beta</math>)</b>	0,80	0,94	0,79	1,00	0,71	0,86
<b>R<sup>2</sup></b>	0,993	0,982	0,991	0,514	0,991	0,999
<b>Coefficiente angular</b>	$y = -0,2928x + 11,879$	$y = -0,0586x + 14,889$	$y = -0,1967x + 14,74$	$y = -0,0052x + 16,043$	$y = -0,2685x + 13,254$	$y = -0,1281x + 12,228$
<b>Condições 60 mg</b>						
<b>Beta (<math>\beta</math>)</b>	0,84	0,97	0,89	1,00	0,84	0,94
<b>R<sup>2</sup></b>	0,993	0,987	0,982	0,038	0,997	0,984
<b>Coefficiente angular</b>	$y = -0,1985x + 12,545$	$y = -0,0239x + 15,212$	$y = -0,0767x + 15,102$	$y = -0,0009x + 16,17$	$y = -0,1336x + 13,501$	$y = -0,0536x + 12,492$
<b>Condições 100 mg</b>						
<b>Beta (<math>\beta</math>)</b>	0,85	0,98	0,93	1,00	0,91	0,97
<b>R<sup>2</sup></b>	0,996	0,995	0,997	0,048	0,996	0,992
<b>Coefficiente angular</b>	$y = -0,1965x + 13,293$	$y = -0,0105x + 15,355$	$y = -0,0436x + 15,181$	$y = 0,0003x + 16,213$	$y = -0,1026x + 13,482$	$y = -0,024x + 12,483$



**Figura 1.** Gráficos dos decaimentos das massas 100, 60 e 20 mg.



**Figura 2.** Decaimentos dos padrões com 20 mg de massa.

### 3.3. Validação do método

Segundo a ANVISA (2017) a validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Os métodos de validação são específicos e influenciados pelo procedimento utilizado, pela natureza e concentrações dos compostos estudados e pela matriz (RIBANI *et al.*, 2004).

O limite de detecção (LD) corresponde à menor quantidade de analito na amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob as condições estabelecidas para o estudo (INMETRO, 2003). O limite de quantificação (LOQ) corresponde à menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão sob as condições experimentais

determinadas (PASCHOAL, 2008). Os limites de detecção e quantificação variaram entre 0,003 e 0,2 mg/kg e entre 0,012 e 0,8 mg/kg, respectivamente (Tabela 5).

A linearidade do método corresponde à capacidade do método em proporcionar resultados diretamente proporcionais à concentração do composto estudado, dentro de uma faixa de aplicação pré-determinada. Existe uma relação matemática entre o sinal dos picos gerados pela análise e a concentração do composto, essa relação é expressa pela curva analítica. Para a plotagem da curva, no mínimo 5 pontos devem ser definidos sem contar o ponto zero (RIBANI *et al.*, 2004). As curvas podem ser observadas na Tabela 5. Além disso, para que seja possível identificar a qualidade dessas curvas, faz-se necessário calcular o  $r^2$ . Esse parâmetro, chamado de coeficiente de correlação permite uma estimativa da qualidade da curva pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de dados. Ou seja, maior confiabilidade dos dados obtidos (RIBANI *et al.*, 2004). Os  $r^2$  das curvas analíticas obtidos variaram entre 0,980 e 0,999, mostrando que os dados em questão estão agrupados, gerando confiabilidade na curva obtida.

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes. Estes ensaios são repetidos em amostras semelhantes sob condições pré-definidas (RIBANI *et al.*, 2004). A precisão foi avaliada de duas formas: precisão intradia e precisão intermediária. Os resultados foram expressos através do desvio padrão relativo e foram menores que 20 % (Tabela 5).

**Tabela 5.** Dados obtidos para os parâmetros de validação do método analítico para determinação de compostos furânicos em café.

Concentração:	mg/kg		Linear Range	Curva de Regressão	R <sup>2</sup>	Precisão intradia			Precisão intermediária		
						(n=10)			(n=3)		
Composto	LD	LOQ				LQ	6	14	LQ	6	14
Furano	0,2	0,6	LOQ-14 mg.kg <sup>-1</sup>	$y = 87530x + 176736$	0,984	3,10	3,44	4,68	3,40	4,57	5,13
Furfural	0,004	0,012	LOQ-14 mg.kg <sup>-1</sup>	$y = 4,116,131.325x + 1,229,437.146$	0,986	6,05	3,23	4,54	4,21	4,38	4,98
5-Metilfurfural	0,004	0,012	LOQ-14 mg.kg <sup>-1</sup>	$y = 2,717,944.62x + 551,809.53$	0,990	8,61	3,32	4,77	7,47	4,71	4,75
Álcool Furfurílico	0,01	0,03	LOQ-14 mg.kg <sup>-1</sup>	$y = 1,471,209.79x + 384,276.37$	0,980	3,74	4,64	5,83	3,10	3,88	5,70
Furaneol	0,01	0,03	LOQ-14 mg.kg <sup>-1</sup>	$y = 116607x - 9913.2$	0,999	18,91	9,47	11,37	17,40	9,59	9,99
5-Hidroximetilfurfural	0,01	0,03	LOQ-14 mg.kg <sup>-1</sup>	$y = 1,281,129.34x + 285,959.53$	0,990	7,63	5,20	4,91	7,01	8,62	4,64

### 3.4. Ocorrência

A presença de furanos e compostos furânicos tem sido amplamente reportada em alimentos. O café é a segunda bebida mais consumida do mundo e é o alimento que possui os maiores níveis de compostos furânicos.

No presente estudo compostos furânicos foram quantificados em amostras comerciais de café torrado e moído de diversas categorias (tradicional, superior, gourmet e extraforte). Os níveis presentes para cada um dos compostos nas diferentes amostras podem ser observados na Tabela 6. Todos os compostos furânicos estudados foram detectados em todas as amostras de café avaliadas. Essa incidência pode ser explicada devido às diversas rotas de formação possíveis para estas substâncias (CONDURSO *et al.*, 2018). Os níveis detectados nas diferentes amostras variaram de 2,74 a 9,05 mg/kg (furano), 4,69 a 22,05 mg/kg (furfural), 2,33 a 23,09 mg/kg (5MF), 0,12 a 20,29 mg/kg (furanona) e 0,05 a 134,09 mg/kg (5HMF).

Pavesi *et al.* (2011) e ZHU *et al.* (2022) reportaram níveis de furano em cafés torrados similares aos encontrados no presente estudo, entre 0,911 e 5,85 mg/kg, e 0,984 e 6,181 mg/kg, respectivamente. CHAICHI *et al.* (2015) encontrou níveis significativos de furfural em suas análises. Park *et al.* (2021) e Arribas-Lorenzo *et al.* (2010) por sua vez, determinaram maiores níveis de 5-HMF, variando entre 51 e 1143 mg/kg e entre 24 e 2186 mg/kg, respectivamente. Huang *et al.* (2022) concluiu que dentre 10 compostos furânicos estudados, álcool furfurílico e furfural foram os de maior incidência nos cafés analisados.

**Tabela 6.** Ocorrência de compostos furânicos em amostras de cafés comerciais.

Amostra	Furano (mg/kg)	Furfural (mg/kg)	5MF (mg/kg)	Furanona (mg/kg)	5HMF (mg/kg)
A	5,69 ± 0,64	12,50 ± 0,48	10,70 ± 0,32	16,74 ± 5,32	134,09 ± 23,20
B	2,74 ± 0,19	4,69 ± 0,04	2,33 ± 0,06	0,12 ± 0,01	0,05 ± 0,09
C	4,75 ± 0,22	12,08 ± 0,22	14,37 ± 0,28	7,96 ± 0,19	4,74 ± 0,20
D	5,19 ± 0,11	12,64 ± 0,30	13,21 ± 0,30	6,96 ± 0,31	3,48 ± 0,22
E	5,54 ± 0,55	13,35 ± 0,10	15,55 ± 0,18	9,33 ± 0,79	3,92 ± 0,81
F	4,92 ± 0,76	15,82 ± 0,86	18,06 ± 0,88	9,15 ± 5,56	4,73 ± 3,11
G	6,20 ± 0,15	18,39 ± 0,47	19,58 ± 0,44	7,19 ± 1,15	4,02 ± 0,10
H	5,58 ± 0,33	13,89 ± 0,33	19,04 ± 0,18	6,56 ± 0,51	5,53 ± 0,68
I	7,19 ± 0,66	16,80 ± 0,20	22,22 ± 0,28	11,93 ± 0,51	13,52 ± 0,40
J	5,44 ± 0,16	18,68 ± 0,24	22,64 ± 0,20	12,11 ± 0,82	16,42 ± 0,84
K	6,11 ± 0,49	15,03 ± 0,23	18,30 ± 0,14	9,48 ± 0,26	7,36 ± 0,11
L	5,38 ± 0,44	13,99 ± 0,65	16,71 ± 0,67	7,70 ± 2,63	5,22 ± 1,78
M	4,68 ± 0,18	18,94 ± 0,30	20,90 ± 0,24	12,58 ± 0,41	59,05 ± 1,15
N	5,34 ± 0,37	22,05 ± 0,25	23,09 ± 0,31	15,28 ± 2,45	47,72 ± 9,67
O	5,13 ± 0,21	21,24 ± 0,32	22,38 ± 0,34	20,29 ± 0,37	51,98 ± 2,82
P	8,03 ± 0,61	17,01 ± 0,39	22,18 ± 0,40	18,49 ± 1,01	12,16 ± 0,21
Q	9,05 ± 0,42	13,24 ± 0,42	15,03 ± 0,45	11,80 ± 3,91	6,02 ± 2,43
R	6,36 ± 0,13	17,89 ± 0,35	22,44 ± 0,27	12,94 ± 0,15	14,68 ± 0,23
S	6,14 ± 0,25	13,52 ± 0,32	14,42 ± 0,41	16,30 ± 1,07	4,86 ± 0,30
T	6,55 ± 0,54	13,79 ± 0,31	14,17 ± 0,27	12,26 ± 1,99	4,84 ± 0,52

#### 4. CONCLUSÃO

Um método para a quantificação de seis compostos furânicos foi otimizado utilizando metodologia de superfície de resposta, extração por MHS-SPME e detecção por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas. O método foi validado e sua adequação ao propósito foi demonstrada em 20 amostras de cafés comerciais. Através dele foi possível identificar estes compostos em amostras comerciais de café torrado e moído e compreender melhor a incidência de compostos furânicos nestes produtos. É importante o conhecimento da incidência

desses compostos nos alimentos que consumimos diariamente devido ao seu potencial carcinogênico. Com a validação do método através de GC-MS e MHS-SPME, foi possível obter um método analítico simples e sem uso de solvente, deixando a possibilidade de esta ser realizada rotineiramente para a identificação de compostos furânicos. Pelo amplo consumo do café, a necessidade de um produto de alta qualidade e a segurança do consumidor, faz-se necessário monitorar a incidência dessas substâncias e até mesmo propor maneiras para minimizar a incidência desses compostos em cafés.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albouchi, A., & Murkovic, M. (2020). Investigation on the mitigation effects of furfuryl alcohol and 5-hydroxymethylfurfural and their carboxylic acid derivatives in coffee and coffee-related model systems. *Food research international*, 137, 109444.

Arribas-Lorenzo, G., & Morales, F. J. (2010). Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 644-649.

Batool, Z., Xu, D., Zhang, X., Li, X., Li, Y., Chen, Z., ... & Li, L. (2021). A review on furan: Formation, analysis, occurrence, carcinogenicity, genotoxicity and reduction methods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(3), 395-406.

BRASIL. (2017). Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências.

Chaichi, M., Ghasemzadeh-Mohammadi, V., Hashemi, M., & Mohammadi, A. (2015). Furanic compounds and furfural in different coffee products by headspace liquid-phase micro-extraction followed by gas chromatography–mass spectrometry: Survey and effect of brewing procedures. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 8(1), 73-80.

Concurso, C., Cincotta, F., & Verzera, A. (2018). Determination of furan and furan derivatives in baby food. *Food Chemistry*, 250, 155-161.

Dart, S. K., & Nursten, H. E. (1985). Volatile components. *Coffee: Volume 1: Chemistry*, 223-265.

Derringer, G., & Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of quality technology*, 12(4), 214-219.

Diaz-de-Cerio, E., Guerra-Hernandez, E., Garcia-Esteva, R., Garcia-Villanova, B., & Verardo, V. (2019). Analytical approaches in coffee quality control. In *Caffeinated and Cocoa Based Beverages* (pp. 285-336). Woodhead Publishing.

de Sousa e Silva, J., Moreli, A. P., Donzeles, S. M. L., Soares, S. F., & Vitor, D. G. (2021). Harvesting, Drying and Storage of Coffee. *Quality Determinants In Coffee Production*, 1-64.

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Knutsen, H. K., Alexander, J., Barregård, L., Bignami, M., Brüschweiler, B., ... & Wallace, H. (2017). Risks for public health related to the presence of furan and methylfurans in food. *EFSA Journal*, 15(10), e05005.

Ezquerro, O., Ortiz, G., Pons, B., & Tena, M. T. (2004). Determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in soils by multiple headspace solid-phase microextraction. *Journal of chromatography A*, 1035(1), 17-22.

Huang, Y. H., Kao, T. H., Inbaraj, B. S., & Chen, B. H. (2022). Improved Analytical Method for Determination of Furan and Its Derivatives in Commercial Foods by HS-SPME Arrow Combined with Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(25), 7762-7772.

Hayes, R. B. (1996). Dry Cleaning, Some Chlorinated Solvents and Other Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 63.

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

Javed, F., Shahbaz, H. M., Nawaz, A., Olaimat, A. N., Stratakos, A. C., Wahyono, A., ... & Park, J. (2021). Formation of furan in baby food products: Identification and technical challenges. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 2699-2715.

Kettlitz, B., Scholz, G., Theurillat, V., Cselovszky, J., Buck, N. R., O'Hagan, S., ... & Stadler, R. H. (2019). Furan and methylfurans in foods: an update on occurrence, mitigation, and risk assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and food safety*, 18(3), 738-752.

Lima, A. F., da Silva Oliveira, W., de Oliveira Garcia, A., Vicente, E., & Godoy, H. T. (2023). Identifying markers volatiles in Brazilian virgin oil by multiple headspace solid-phase microextraction, and chemometrics tools. *Food Research International*, 167, 112697.

Macheiner, L., Schmidt, A., Karpf, F., & Mayer, H. K. (2021). A novel UHPLC method for determining the degree of coffee roasting by analysis of furans. *Food Chemistry*, 341, 128165.

Moro, S., Chipman, J. K., Wegener, J. W., Hamberger, C., Dekant, W., & Mally, A. (2012). Furan in heat-treated foods: Formation, exposure, toxicity, and aspects of risk assessment. *Molecular nutrition & food research*, 56(8), 1197-1211.

Park, S. H., Jo, A., & Lee, K. G. (2021). Effect of various roasting, extraction and drinking conditions on furan and 5-hydroxymethylfurfural levels in coffee. *Food Chemistry*, 358, 129806.

Paschoal, J. A. R., Rath, S., Airoidi, F. P. D. S., & Reyes, F. G. (2008). Validation of chromatographic methods for the determination of residues of veterinary drugs in foods. *Química Nova*, 31, 1190-1198.

Pavesi Ariseto, A., Vicente, E., Soares Ueno, M., Verdiani Tfouni, S. A., & De Figueiredo Toledo, M. C. (2011). Furan levels in coffee as influenced by species, roast degree, and brewing procedures. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(7), 3118-3124.

Pereira, L. L., Júnior, D. B., de Sousa, L. H. B. P., dos Santos Gomes, W., Cardoso, W. S., Guarçoni, R. C., & ten Caten, C. S. (2021). Relationship Between Coffee Processing and Fermentation. *Quality Determinants In Coffee Production*, 255-301.

Pereira, L. L., Debona, D. G., Pinheiro, P. F., de Oliveira, G. F., ten Caten, C. S., Moksunova, V., ... & Yamamoto, H. (2020). Roasting process. In *Quality determinants in coffee production* (pp. 303-372). Cham: Springer International Publishing.

Ribani, M., Bottoli, C. B. G., Collins, C. H., Jardim, I. C. S. F., & Melo, L. F. C. (2004). Validation for chromatographic and electrophoretic methods. *Química Nova*, 27, 771-780.

Valente, A. L. P., & Augusto, F. (2000). Microextração por fase sólida. *Química Nova*, 23, 523-530.

Valente, A. L. P., Augusto, F., Montero, L., Rocha, E. C. D., & Pawliszyn, J. (1998). Aplicação de SPME (solid phase micro-extraction) na análise de águas potáveis de três localidades do Estado de São Paulo. *Química nova*, 21, 804-806.

Waizenegger, J., Winkler, G., Kuballa, T., Ruge, W., Kersting, M., Alexy, U., & Lachenmeier, D. W. (2012). Analysis and risk assessment of furan in coffee products targeted to adolescents. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(1), 19-28.

Wang, Y., O'Reilly, J., Chen, Y., & Pawliszyn, J. (2005). Equilibrium in-fibre standardisation technique for solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1072(1), 13-17.

Zakidou, P., Plati, F., Matsakidou, A., Varka, E. M., Blekas, G., & Paraskevopoulou, A. (2021). Single origin coffee aroma: From optimized flavor protocols and coffee customization to instrumental volatile characterization and chemometrics. *Molecules*, 26(15), 4609.

Zhu, M., Long, Y., Ma, Y., Huang, Y., Wan, Y., Yu, Q., ... & Chen, Y. (2022). Investigation of thermal contaminants in coffee beans induced by roasting: A kinetic modeling approach. *Food Chemistry*, 378, 132063.

### CAPÍTULO 3

#### **O impacto da torra no perfil de cafeína, açúcares, compostos furânicos e características físico-químicas em *C. arabica* e *C. canephora***

Valentina Chaves **Tognocchi**<sup>a</sup>; Wellington da Silva **Oliveira**<sup>a</sup>; Silvia Amélia Verdiani **Tfouni**<sup>a</sup>; Aline Garcia de **Oliveira**<sup>a</sup>

<sup>a</sup> – Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos, Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas-SP, Brasil

## RESUMO

A torra do café é essencial para a qualidade e desenvolvimento de características sensoriais do produto, entretanto, compostos potencialmente tóxicos como os compostos furânicos podem ser formados. O presente estudo teve como objetivo avaliar o impacto de 20 diferentes condições de torra definidas pelo delineamento experimental em diferentes parâmetros de qualidade dos cafés *C. canephora* e *C. arabica*: físico-químicos, teor de açúcares, de cafeína e de cinco compostos furânicos. Para os parâmetros físico-químicos os resultados para café robusta e arábica foram, respectivamente, perda de massa 5,62-18,23% e 4,8-19%, umidade 2,13-8,04% e 3,1-6,3%, densidade aparente 0,32-0,51 g/mL e 0,28-0,56 g/mL, densidade específica 0,43-0,70 g/mL e 0,36-0,85 g/mL, cor Agtron muito clara-muito escura e 26,8-100,  $\Delta E$  de 2,12-36,58 e 2,50-38,54. A sacarose foi o açúcar predominante em ambos os cafés: 2,52-4,71 g/100g (robusta) e 2,48-8,01 g/100g (arábica). Os níveis de cafeína foram 1,58-2,12 g/100g (robusta) e 0,75-1,27 g/100g (arábica). Os níveis dos compostos furânicos variaram para café robusta e arábica, respectivamente, entre 1,72-34,32 e 2,27-49,79 mg/kg (furano), 0,63-238,90 e 0,76-326,39 mg/kg (furfural), 0,05-86,86 e 0,11-344,86 mg/kg (5-metilfurfural), 1,80-339 e 30,19-1060,29 mg/kg (furaneol) e 0,04-80,18 e 4,72-664,43 mg/kg (5-hidroximetilfurfural). O parâmetro que mostrou maior impacto nas características de ambos os cafés foi a temperatura final, exceto para os níveis de voláteis na variedade robusta, que foram mais impactados pelo parâmetro temperatura final x temperatura inicial. Café arábica e robusta são distintos entre si, porém, para ambos, a temperatura é o parâmetro mais significativo no impacto nas características após a torra.

**Palavras-chave: café; açúcares; compostos furânicos; GC-MS; MHS-SPME**

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de café do mundo e ocupa também o segundo lugar dentre os países consumidores da bebida. Dados de 2022 mostram que o consumo de café no Brasil chegou a 50,9 milhões de sacas (ABIC, 2023).

Os grãos verdes do café não são próprios para consumo e, por isso, estes precisam ser submetidos ao processo de torra. O processo de torra é a etapa responsável pela formação do sabor e aroma dos produtos do café. Existem diferentes níveis de torra que variam do claro ao escuro, dependendo das condições de tempo e temperatura do processo de torra (DIAZ-DE-CERIO, *et al.*, 2019). Este processo altera a composição química, física e estrutural dos grãos através da aplicação do calor e, assim, torna os grãos de café adequados para a produção da bebida (PEREIRA *et al.*, 2021; ZAKIDOU *et al.*, 2021). Durante a torra mudanças na coloração, perda de massa, densidade, composição de açúcares e cafeína podem acontecer, afetando diretamente no produto.

Uma das principais reações durante a torra é a Reação de Maillard. Essa reação pode ser definida como uma amino-catalisada degradação de açúcares na qual o sabor, gosto e cor são gerados. Além disso, a formação de sabor também é influenciada pelos açúcares e aminoácidos envolvidos na reação, temperatura e tempo da reação, pressão, pH e umidade da amostra. Contudo, a Reação de Maillard pode desencadear a formação de furanos e acrilamidas (POISSON *et al.*, 2017).

A torra implica na formação de contaminantes de processamento no café, como os derivados furânicos. A incidência de derivados furânicos no café tem sido amplamente reportada (DIPPONG *et al.*, 2022; LAUKALĚJA *et al.*, 2022). Esses

compostos impactam no desenvolvimento da cor, aroma e sabor que são essenciais para a qualidade do produto. Em especial no café torrado, os furanos como o álcool furfurílico, furfural e 5- hidroximetilfurfural (5-HMF) são descritos como “doce”, "amêndoa, amadeirado" e "caramelo", respectivamente. Além disso, furanos são intermediários na formação de outros compostos chave que impactam no aroma da bebida de café, como a 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaneol) que tem aroma “frutas vermelhas ou morango”.

Atualmente, os furanos têm recebido cada vez mais atenção por conta da sua contribuição no aroma e sabor de comidas e bebidas, mas também há uma preocupação relacionada com seus efeitos prejudiciais à saúde humana. A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) classifica o furano e o álcool furfurílico como possivelmente carcinogênicos para humanos (Grupo 2B), enquanto furfural e 5-HMF são compostos que precisam de mais estudos para serem classificados como carcinogênicos (Grupo 3) (IARC,1996). No tocante ao furaneol, evidências sugerem genotoxicidade a partir de estudo in vitro e in vivo (EFSA, 2011).

Diversas reações e mudanças acontecem no café durante a torra, assim, faz-se necessário o estudo sobre este processo e sua relação com as características finais da bebida do café. Este processo implica diretamente na qualidade do produto e, considerando o amplo consumo mundial do café, é importante explorar os resultados deste processo detalhadamente para que, cada vez mais, produtos seguros e de qualidade sejam oferecidos ao consumidor.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto de diferentes condições de torra nas propriedades físico-químicas de duas variedades de café *Coffea arábica* (arábica) e *Coffea canephora* (robusta) e no perfil de açúcares (frutose, glicose e sacarose) e cafeína, além da formação de derivados furânicos

(furano, furfural, 5-metilfurfural, 5-hidroximetilfurfural e furaneol) utilizando MHS-SPME como sistema de extração e GC-MS/MS como sistema de detecção.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Amostras**

Nos presente estudo foram utilizadas uma amostra de *Coffea arabica* (arábica) e outra de *Coffea canephora* (robusta). As amostras foram submetidas a diferentes processos de torra estabelecidos de acordo com um delinamento composto central rotacional (DCCR) com 20 ensaios, dos quais seis pontos centrais e dois axiais. O domínio experimental utilizado nas curvas de torra dos cafés, bem como a matriz com os valores reais e codificados pode ser observado na Tabela 1. As temperaturas e o tempo de torra utilizados foram determinados de acordo com estudos prévios publicado na literatura (POISSON *et al.*, 2017; Da SILVIA *et al.*, 2021). Para cada processo foi utilizada uma porção de aproximada 50g de café, o qual foi torrado em um torrador IKAWA, modelo Smart Home Coffee Roaster 2020.

Os resultados obtidos foram expressos em base seca.

**Tabela 1.** Planejamento experimental aplicado as curvas de torra do café arábica e robusta.

Valores codificados					
Variáveis	-1.68	-1	0	1	1.68
X <sub>1</sub> : Temperatura inicial (°C)	123,2	130	140	150	156,8
X <sub>2</sub> : Temperatura final (°C)	156,1	180	215	250	273,9
X <sub>3</sub> : Tempo (min)	05:44	07:00	08:52	10:42	11:58
Valores reais					
Ensaio	Temperatura Inicial (°C)	Temperatura Final (°C)	Tempo final (min)		
1	130	180	07:00		
2	150	180	07:00		
3	130	250	07:00		
4	150	250	07:00		
5	130	180	10:42		
6	150	180	10:42		
7	130	250	10:42		
8	150	250	10:42		
9	123,2	215	08:52		
10	156,8	215	08:52		
11	140	156,1	08:52		
12	140	273,9	08:52		
13	140	215	05:44		
14	140	215	11:58		
15	140	215	08:52		
16	140	215	08:52		
17	140	215	08:52		
18	140	215	08:52		
19	140	215	08:52		
20	140	215	08:52		

## 2.2. Reagentes e padrões

Padrões de furfural 99%, 5-metilfurfural ≥98,5% e 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaneol) ≥99% foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O furano

99% foi fornecido pela TCI America e o 5-hidroximetilfurfural 98% pela Carbosynth Ltd. (Campton Berkshire, UK). Padrões de frutose, glicose e sacarose foram obtidos da marca Sigma-Aldrich. Metanol e hexano grau HPLC foram provenientes da Supelco e da Chromanorm, hexil acetato adquirido da Supelco com pureza > 99%, dibutilfitalato 98% da Sigma-Aldrich, óxido de magnésio PA da Dinâmica, ferrocianeto de potássio a 15% m/v e sulfato de zinco a 30% m/v da Sigma-Aldrich. A água utilizada foi obtida de um sistema de filtração Milli-Q, da Millipore.

Soluções estoque contendo  $1000 \text{ mg.kg}^{-1}$  foram preparadas em metanol para furaneol e 5-hidroximetilfurfural e em hexano para furano, furfural e 5-metilfurfural. A partir da solução estoque, soluções contendo 100 mg/kg de cada analito foram preparadas utilizando os mesmos solventes. Posteriormente, soluções de calibração contendo o LOQ, 2, 6, 10 e 14 mg/kg foram preparadas em água e em dibutilfitalato. Para o padrão interno utilizou-se hexil acetato (1 mg/kg) diluído em dibutilfitalato.

### **2.3. Análises físico-químicas**

A perda de massa foi calculada considerando a diferença da massa dos grãos no início e no final da torra. A densidade aparente foi determinada pela relação entre massa e volume utilizando uma proveta de 50 mL, de acordo com o estudo conduzido por SILVA (2008). A densidade específica foi obtida pelo método sugerido pela American Association of Cereal Chemists (AACC, 2010). Para determinação do grau de torra das amostras foi utilizado um espectrofotômetro Agtron Coffee Roast modelo E10-CP. As análises de cor CIELab foram realizadas através do espectrofotômetro Konica Minolta modelo CM-5. As amostras foram

analisadas à temperatura ambiente de 20 a 25 °C Para a análise de umidade utilizou-se o método proposto pela ISO 11294-1994. Todas as determinações foram realizadas em triplicata

#### **2.4. Determinação de açúcares e cafeína**

A determinação dos açúcares (frutose, glicose e sacarose) foi realizada no grão verde, nas amostras dos ensaios 11, 12 (amostras com torra mais e menos intensa, respectivamente) e em um blend dos pontos centrais (15 a 20) utilizando cromatografia líquida de alta eficiência, seguindo o método proposto por BURGNER & FEINBERG (1992). Para a extração dos compostos foram utilizados 5g de amostra de café e 50 mL de etanol:água (50:50). Para limpeza do extrato foram utilizados 2 mL de sulfato de zinco 30% e 2 mL da solução de ferrocianeto de potássio 15%. O extrato foi filtrado em filtro de papel, filtro de celulose regenerada (0,2 µm) e finalmente injetado no cromatógrafo. Foi utilizado um sistema cromatográfico do fabricante Young Lin composto por bomba quaternária YL9110, degaseificador YL 9101, forno Y9131 (35°C), injetor Rheodyne (volume de injeção de 20 µL) e detector de índice de refração YL9170 (35°C). Para separação dos compostos foi utilizada uma coluna Luna NH2 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm, Phenomenex) e fase móvel composta por acetonitrila:água (80:20) com vazão de 1 mL/min.

Para determinação de cafeína foi utilizado 0,5 g de amostra que foi adicionada de 1 g de óxido de magnésio e 50 mL de água. Posteriormente, a amostra foi aquecida e mantida sob ebulição por 15 minutos. Após resfriados, os extratos foram filtrados com papel de filtro, filtro PVDF (0,45 µm) e posteriormente

injetados no cromatógrafo. Para a determinação de cafeína foi utilizado um sistema cromatográfico Shimadzu HPLC-DAD composto por bomba quaternária LC-20 AT, forno CTO-20 (25°C), injetor SIL 10 AF (volume de injeção de 20 µL) e detector DAD SPD-M20A (detecção a 272 nm). Para separação foi utilizada uma coluna C18 (Zorbax eclipse plus C18 250 mm x 4,6 x 5 µm) e fase móvel metanol:água (30:70) com vazão de 1 mL/min.

## 2.5. Determinação de compostos furânicos

A determinação de furano, furfural, 5-metilfurfural furaneol e 5-hidroxi-metilfurfural foi realizada utilizando um cromatógrafo a gás (Agilent 8890), equipado com um amostrador automático PAL (RSI 85), um espectrômetro de massas triplo quadrupolo (Agilent 7010B) e um injetor multimodo. A ionização foi realizada com uma fonte de ionização por elétrons (EI) de alta eficiência (Agilent) através do método MRM. A separação foi feita em uma coluna polar VF-WAXms (60 m × 0,25 mm × 0,50 µm, Agilent). Para tanto foi utilizada a seguinte condição cromatográfica: temperatura inicial do forno a 34°C por 1 minuto, com rampa de 2°C/min até 40°C na qual foi mantida por 8 minutos; com posterior rampa de 10°C/min até 240°C, na qual mantida por 12 minutos, totalizando 40 minutos de corrida. O injetor foi mantido a 25°C por 0,01 minuto, com posterior rampa de temperatura de 650°C/min até atingir 300°C na qual foi mantido até o final da análise.

A quantificação foi realizada utilizando múltiplo headspace. De forma breve, cada amostra foi pesada (20 mg) em um vial de 20 mL e submetida a 5 extrações consecutivas. A área total de cada compostos foi obtida utilizando a equação 1:

$$A_T = \sum_{i=1}^{i \rightarrow \infty} A_i = \frac{A_1}{1 - e^{-q}} = \frac{A_1}{1 - \beta} \quad (1)$$

onde  $A_T$  é a área total estimada do pico,  $A_1$  a área do pico obtida na primeira extração, e o expoente  $q$  é uma constante descreve o declínio exponencial associado ao  $\beta$ .

O  $\beta$  é um valor constante obtido a partir da inclinação da curva de regressão dos logaritmos das áreas dos picos individuais em função do número de extrações, conforme a equação (2).

$$\ln A_i = \ln A_1 + (i-1) \cdot \ln \beta \quad (2)$$

onde  $A_i$  é a área obtida na  $i$ -ésima extração. Esta fórmula representa uma equação linear do tipo  $y = ax + b$ , onde  $\ln A_1$  é o intercepto no eixo  $y$  e  $\ln \beta$  é a inclinação.

A concentração de cada composto foi determinada utilizando curvas de calibração externas, construídas em dibutilftato, utilizando sete concentrações dos padrões analíticos (de 0,1 mg/kg a 18 mg/kg), os quais foram analisados nas mesmas condições. Hexil acetato foi utilizado como padrão interno. As curvas analíticas foram plotadas usando área total versus concentração. As concentrações nas amostras foram obtidas usando a área total obtida na 1ª extração através do termo  $\beta$  e equação (1).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Análises físico-químicas**

A figura 1 mostra os grãos torrados de café arábica e robusta obtidos nas condições do planejamento experimental. É possível notar, além das mudanças de coloração, a expansão dos grãos. As condições de torra dos ensaios 11 e 12 foram a menos intensa e a mais intensa, respectivamente. Estas representam os pontos axiais do planejamento experimental. Já as amostras dos experimentos de 15 a 20 têm níveis de torra iguais, representando os pontos centrais do

delineamento experimental.

A torra impacta diretamente na coloração e tamanho dos grãos de café verde. Isso pode ser visualizado fazendo a comparação das amostras obtidas nas torras mais claras e nas torras mais escuras, apresentadas na Figura 1. Conforme esperado, as condições de torra utilizadas mostram a mudança de cor do verde para o marrom, quase preto, a diminuição da umidade e massa dos grãos em comparação com o grão verde e a expansão dos grãos (Obs 12 da figura 1 A e B). O grão verde do café é principalmente constituído de carboidratos, compostos contendo nitrogênio, lipídios, ácidos orgânicos e água. Quase todos esses compostos têm o potencial de serem precursores de sabor e mudança de cor ao longo da torra. Sendo que a mudança de coloração dos grãos ocorre devido à formação de melanoidinas de maior peso molecular (POISSON et al., 2017). A expansão dos grãos, por sua vez, se dá pela formação de gases, principalmente o dióxido de carbono, ao longo do processo da torra. A expansão destes grãos é resultado de uma complexa dinâmica que envolve a interação da formação de gases e a resistência da parede celular dos grãos de café. O gás em conjunto com o vapor de água são a força que desencadeia a expansão dos grãos durante a torra (SCHENKER & ROTHGEB, 2017).

**A**



**B**



**Figura 1.** Café robusta (A) e café arábica (B) torrados de acordo com o planejamento experimental proposto.

Os graus de torra dos cafés obtidos no presente estudo, reportados na Tabela 2, variaram desde torras muito claras até torras muito escuras. Os valores de Agtron foram avaliados de 0 a 100, onde 100 indicava o extremo superior da escala, representando as torras mais claras. Esses valores variaram de muito clara (amostra 11) a muito escura (amostra 12) para café robusta e de torra muito clara (amostra 11) a muito escura (amostra 12) para café arábica.

A partir das análises relacionadas com a coloração dos cafés estudados é possível constatar que a amostra 12, ensaio com torra mais intensa, teve a maior relação com cor mais escura após a torra. Já a amostra 11, ensaio com torra menos

intensa, apresentou resultados que a correlacionavam com cores mais próximas do grão verde (Tabela 2). Além disso, os resultados de  $\Delta E$ , obtidos através das análises de CIELab, indicou valores de 2,12 (amostra 11) a 36,58 (amostra 12) para café robusta e 2,50 (amostra 11) a 38,54 (amostra 12) para café arábica (Tabela 2).

Durante a torra, a mudança mais visível é a mudança de cor dos grãos e ela é muito importante pois está diretamente ligada com o desenvolvimento do sabor do produto. Os grão de café alteram a sua coloração de cinza esverdeado (grão verde) para amarelo, alaranjado, marrom, marrom escuro e, por fim, quase preto (Figura 1). É a partir da cor final dos grãos torrados que o grau de torra do produto é definido (SCHENKER & ROTHGEB, 2017).

**Tabela 2.** Grau de torra e cor nos cafés robusta e arábica obtidos nas diferentes condições de torra

Amostra	Torra	Robusta		Arábica		
		Agtron*	$\Delta E$	Torra	Agtron*	$\Delta E$
1	muito clara	100	6,33	muito clara	100,0	7,60
2	muito clara	100	6,85	muito clara	100,0	9,43
3	média clara	61,40	25,46	média clara	52,5	32,26
4	média clara	60,50	25,34	média clara	49,3	32,45
5	muito clara	100	9,17	muito clara	100,0	13,32
6	muito clara	100	8,89	muito clara	100,0	13,80
7	média	44,03	30,18	média	41,4	35,34
8	média	43,27	30,46	média	40,2	35,87
9	muito clara	97,23	16,96	muito clara	71,9	24,56
10	muito clara	93,97	17,59	clara	67,5	24,44
11	muito clara	100	2,12	muito clara	100,0	2,50
12	muito escura	28,07	36,58	muito escura	26,8	38,54
13	muito clara	100	12,61	muito clara	85,4	18,52
14	muito clara	83,37	20,06	clara	63,4	27,87
15	muito clara	95,00	17,62	clara	68,6	23,88
16	muito clara	93,73	17,25	clara	67,0	24,24
17	muito clara	94,03	17,14	clara	68,7	24,01
18	muito clara	93,73	17,26	clara	69,9	24,03
19	muito clara	93,27	17,21	muito clara	73,7	22,85

20	muito clara	93,67	17,40	muito clara	71,5	23,70
----	-------------	-------	-------	-------------	------	-------

\* o valor 100 foi considerado o extremo superior da escala do espectrofotômetro Agtron Coffee Roast modelo E10-CP.

A densidade aparente (Tabela 3) variou de 0,32 a 0,51 g/mL (amostra 12 e 11, respectivamente) para o café robusta, já no café arábica a variação foi de 0,28 (amostras 12) a 0,56 g/mL (amostra 11). Para a densidade específica (Tabela 3), os valores para café robusta se encontraram na faixa de 0,43 (amostra 12) a 0,70 g/mL (amostra 15) e para café arábica de 0,36 (amostra 12) a 0,85 g/mL (amostra 11). Como pode ser verificado, as menores densidades foram observadas nos grãos mais torrados. Isso se dá pelo fato que, durante a torra as propriedades físicas dos grãos de café são alteradas em decorrência da temperatura e tempo do processo, ocorrendo a liberação de dióxido de carbono, e ocasionando a expansão dos grãos (POISSON *et al.*, 2017). Torras com temperaturas mais elevadas podem ter maior impacto sobre a porosidade e o volume dos grãos do que torras com temperaturas menores (CÓRDOBA *et al.*, 2021). Ou seja, torras com temperaturas mais intensas ocasionam maiores perdas de massa nos cafés, gerando impacto na densidade dos grãos, que, por ficarem mais porosos (maior volume), têm densidades menores, assim como foi verificado no presente estudo. Na figura 1 é possível visualizar que, nos ensaios de número 12, que receberam os níveis mais intensos de torra, os grãos estão mais “estufados”, mostrando o aumento de volume destes grãos, indicando a menor densidade aparente e específica. O oposto ocorre com o ensaio 11, que recebeu as menores temperaturas de torra, indicando uma menor perda de massa, menor porosidade do grão e, conseqüentemente, maiores densidades aparente e específica.

**Tabela 3.** Perda de massa, umidade, densidades aparente e específica para os cafés robusta e arábica obtidos nas diferentes condições de torra

Amostra	Robusta				Arábica			
	Perda de massa (%)	Umidade (%)	Densidade aparente (g/mL) <sup>1</sup>	Densidade específica (g/mL) <sup>1</sup>	Perda de massa (%)	Umidade (%)	Densidade aparente (g/mL) <sup>1</sup>	Densidade específica (g/mL) <sup>1</sup>
	7,02	5,83 ± 0,07	0,48	0,69	5,6	5,6 ± 0,14	0,53	0,55
2	7,13	5,34 ± 0,30	0,48	0,69	5,8	5,7 ± 0,21	0,52	0,61
3	12,58	2,49 ± 0,18	0,37	0,54	13,8	3,1 ± 0,17	0,33	0,44
4	12,98	4,40 ± 0,14	0,38	0,51	13,5	3,1 ± 0,22	0,34	0,42
5	8,28	6,40 ± 0,12	0,48	0,66	6,8	4,9 ± 0,19	0,54	0,72
6	8,37	6,29 ± 0,12	0,49	0,66	7,2	4,8 ± 0,23	0,54	0,73
7	14,57	2,13 ± 0,13	0,37	0,47	15,7	4,3 ± 0,08	0,32	0,42
8	14,84	1,98 ± 0,11	0,36	0,48	16,0	5,0 ± 0,10	0,31	0,39
9	10,14	3,51 ± 0,26	0,42	0,56	9,6	4,7 ± 0,11	0,46	0,65
10	10,52	4,82 ± 0,18	0,43	0,60	9,8	4,8 ± 0,16	0,44	0,57
11	5,62	8,04 ± 0,27	0,51	0,69	4,8	6,3 ± 0,02	0,56	0,85
12	18,23	4,9 ± 0,20	0,32	0,43	19,0	3,1 ± 0,10	0,28	0,36
13	7,74	5,0 ± 0,03	0,43	0,55	7,2	5,0 ± 0,13	0,48	0,66
14	11,16	3,5 ± 0,10	0,43	0,57	11,0	3,9 ± 0,06	0,43	0,61
15	10,55	3,4 ± 0,10	0,43	0,70	9,7	4,4 ± 0,05	0,44	0,64
16	10,20	3,1 ± 0,15	0,44	0,61	9,1	4,7 ± 0,13	0,46	0,66
17	10,07	3,3 ± 0,13	0,44	0,57	9,5	4,3 ± 0,09	0,46	0,65
18	9,75	3,2 ± 0,26	0,43	0,57	9,6	4,1 ± 0,12	0,45	0,62
19	12,16	3,1 ± 0,28	0,43	0,55	9,1	4,5 ± 0,20	0,46	0,73
20	10,38	3,2 ± 0,33	0,44	0,57	9,4	4,6 ± 0,08	0,46	0,63
Verde		8,7 ± 0,04	0,65	0,90		7,8 ± 0,10	0,65	0,87

<sup>1</sup> Média de três replicatas

Nos grãos verdes observou-se o maior percentual de umidade, uma vez que estes grãos ainda não foram submetidos ao processo térmico (Tabela 3). Após a torra, os resultados obtidos para umidade variaram de 2,13 a 8,04% para café robusta e 3,1 a 6,3% para café arábica. Os maiores teores de umidade para ambos os cafés foram verificados nas amostras dos ensaios 11. Já os menores, para café arábica, foram observados nas amostras 3, 4 e 12. No café robusta, os menores índices foram vistos nas amostras 7 e 8.

A água pode compor de 10 a 13% do grão verde. Com a temperatura da torra, esses índices tendem a diminuir (ANUNCIACÃO *et al.*, 2016). A partir disso, é possível correlacionar os dados de umidade com a perda de massa ao longo da torra, onde ensaios com maiores graus de torra tendem a demonstrar menores níveis de umidade e ensaios submetidos a menores temperaturas de torra tendem a apresentar maiores níveis de umidade. A umidade nos grãos diminuiu conforme o grau de torra, sendo que em torras mais claras o teor de umidade foi superior a torras mais escuras (LAUKALEJA *et al.*, 2022).

### **3.2. Análises de açúcares e cafeína**

Na Tabela 4 é possível observar que os resultados obtidos quanto ao nível de açúcares presentes variaram para cada açúcar e cada variedade de café avaliada. O café arábica apresentou maior teor de açúcares quando comparado com o café robusta.

É possível notar a predominância de sacarose após a torra, a ausência de glicose em todas as amostras e a presença de frutose apenas nos grãos verdes e nas amostras 15 a 20 de café robusta. A sacarose foi o açúcar de maior incidência em ambos os cafés, sendo que os maiores níveis de sacarose foram encontrados nos grãos verdes. Nas amostras de café robusta, os níveis de sacarose variaram de 2,52 a 4,71 g/100g e nas de arábica de 2,48 a 8,01 g/100g. Isso ocorre pois grãos verdes de café possuem uma grande concentração de açúcares que, após a torra, se desenvolvem em outros compostos. A concentração de glicose e frutose aumenta no início do processo de torra graças à constante degradação da sacarose. Quase todos os açúcares livres são perdidos ao longo da torra em

decorrência da reação de Maillard e da caramelização, ocasionando a formação de dióxido de carbono, coloração, aroma e sabor (DIPPONG *et al.*, 2022).

A partir dos resultados obtidos é possível notar que os menores índices de açúcares, apresentaram-se no ensaio 12, onde foi empregada uma torra mais intensa e houve os maiores graus de torra. Nesta amostra também foram vistos os maiores valores de  $\Delta E$  e as menores densidades, indicando a degradação dos açúcares e formação de colorações mais intensas e dióxido de carbono.

**Tabela 4.** Níveis de açúcares para cafés arábica e robusta nos grãos verdes e nos obtidos nas condições de torra dos ensaios 11, 12 e nos pontos centrais (15 a 20)

Amostra	Frutose (g/100g) <sup>1</sup>	Glucose (g/100g) <sup>1</sup>	Sacarose (g/100g) <sup>1</sup>
Robusta Verde	0,38 ± 0,0	ND<0,20	4,71 ± 0,03
Robusta 11	ND<0,20	ND<0,20	4,48 ± 0,34
Robusta 12	ND<0,20	ND<0,20	ND<0,20
Robusta blend 15 a 20	ND<0,20	ND<0,20	2,52 ± 0,08
Arábica Verde	0,86 ± 0,02	ND<0,20	8,01 ± 0,06
Arábica 11	ND<0,20	ND<0,20	8,14 ± 0,02
Arábica 12	ND<0,20	ND<0,20	ND<0,20
Arábica 15 a 20	0,36 ± 0,01	ND<0,20	2,48 ± 0,03

<sup>1</sup>Média de três replicatas  
Resultados expressos em base seca

Os resultados obtidos quanto aos níveis de cafeína (Tabela 5) variaram de 1,58 a 2,12 g/100g para café robusta e 0,75 a 1,27 g/100g para café arábica. Os resultados estão de acordo com o esperado, com o café robusta apresentando teores maiores que o café arábica (TFOUNI *et al.*, 2012). Os maiores teores de cafeína foram encontrados nos ensaios dos pontos centrais (15 a 20) do café robusta e os menores foram detectados nas amostras 6 e 13. Para o café arábica, os maiores índices foram observados nas amostras 14, 15, 16 e 17 e os menores

na amostra 8. A amostra com torra menos intensa (amostra 11) apresentou níveis mais altos de cafeína, similar à amostra 12, que foi um ensaio com torra mais intensa. Estudos disponíveis na literatura mostram diferentes comportamentos para os níveis de cafeína em relação ao grau de torra do café. O estudo de TFOUNI et al. (2012) mostrou um aumento dos níveis de cafeína nos cafés com maior grau de torra. Para MAREK et al. (2020) cafés com torras mais claras possuem os maiores teores de cafeína. Os estudos de VÁRADY et al (2021), BICHO et al (2011) e HECIMOVIC (2011) não apresentaram alteração significativa nos níveis de cafeína em relação ao grau de torra do café. Portanto, outros fatores podem estar envolvidos na degradação desse composto.

**Tabela 5.** Níveis de cafeína em cafés arábica e robusta obtidos nos grãos verdes e nos diferentes ensaios realizados.

Ensaio	Cafeína (g/100g) <sup>1</sup>	
	Café robusta	Café arábica
Verde	1,47 ± 0,05	0,98 ± 0,01
1	1,73 ± 0,12	0,99 ± 0,02
2	1,79 ± 0,17	1,15 ± 0,01
3	1,97 ± 0,12	1,24 ± 0,03
4	1,89 ± 0,01	1,24 ± 0,03
5	1,81 ± 0,07	1,21 ± 0,01
6	1,58 ± 0,03	1,07 ± 0,02
7	1,92 ± 0,07	1,18 ± 0,02
8	1,91 ± 0,04	0,75 ± 0,01
9	1,71 ± 0,02	1,20 ± 0,02
10	1,67 ± 0,04	0,94 ± 0,03
11	2,09 ± 0,05	1,21 ± 0,01
12	2,12 ± 0,20	1,08 ± 0,03
13	1,58 ± 0,05	1,22 ± 0,02
14	1,87 ± 0,03	1,27 ± 0,02
Blend 15, 16 e 17	2,34 ± 0,07	1,27 ± 0,01
Blend 18, 19 e 20	2,23 ± 0,12	1,25 ± 0,02

<sup>1</sup>Média de três replicatas

Resultados expressos em base seca

### 3.3. Teor de compostos furânicos

O teor de compostos furânicos variou muito dependendo do ensaio e do composto em questão (Tabela 6). Os compostos encontrados nas maiores concentrações entre os ensaios foram o furfural e o furaneol. O café arábica apresentou maiores índices de compostos furânicos em relação ao café robusta, resultado similar ao reportado por Dippong *et al* (2022), que concluiu em seu estudo que existem maiores teores de derivados furânicos em café arábica do que em robusta.

É possível notar que, no grão verde, os voláteis analisados apresentam uma menor quantidade quando comparados com os grãos torrados dos outros ensaios. Os grãos verdes, mesmo antes da torra, já possuem uma pequena concentração de compostos furânicos. Os compostos que contribuem para o aroma do café são formados durante a torra. Os furanos são encontrados em condensados de carboidratos que sofrem reações de escurecimento (DIPPONG *et al.*, 2022). Conforme comentado anteriormente, os grãos verdes do café contêm grandes quantidades de açúcares e, no processo térmico, esses açúcares sofrem a degradação e o rearranjo de carboidratos, formando o furano e os derivados furânicos. Os produtos dessa reação podem variar de acordo com a composição dos grãos e a influência dela sobre o aroma do café pode depender do tipo de açúcares e aminoácidos envolvidos na reação, tempo e temperatura da reação, pressão, pH e umidade (POISSON *et al.*, 2017). Através da reação de Maillard, ocorre a degradação de açúcares e isso influencia diretamente na formação do sabor, aroma e coloração dos grãos torrados. Assim, pode-se inferir que grãos mais

escuros possuem mais açúcares, furanos e, conseqüentemente, um sabor mais intenso.

Torras excessivas podem levar à degradação de muitas substâncias voláteis, incluindo o furfural. Esse composto é formado nos estágios iniciais da torra e, por isso, pode ser prejudicado se este processo for feito de maneira mais intensa (POISSON *et al.*, 2017). Diversos mecanismos estão associados à formação de furanos, incluindo degradação térmica de aminoácidos, carboidratos e oxidação de ácidos graxos poliinsaturados. Ademais, a caramelização de açúcares é muito importante na formação do 5-hidroximetilfurfural. Essa reação ocorre simultaneamente à reação de Maillard, gerando a degradação de açúcares e, finalmente, formando o 5-HMF (Barrios-Rodriguez *et al.*, 2022).

Diversas reações implicam na formação destes compostos, não sendo possível prever de forma exata a formação deles e por isso cada perfil de torra tem a sua individualidade.

**Tabela 6.** Teor de compostos voláteis (furânicos) nos cafés robusta e arábica obtidos nos diferentes ensaios realizados.

Café Robusta	Café robusta					Café arábica				
	Furano (mg/kg)	Furfural (mg/kg)	5-MF (mg/kg)	Furaneol (mg/kg)	5-HMF (mg/kg)	Furano (mg/kg)	Furfural (mg/kg)	5-MF (mg/kg)	Furaneol (mg/kg)	5-HMF (mg/kg)
Verde	1,72	0,63	0,16	1,80	0,04	2,77	0,76	0,11	30,19	4,72
1	4,25	1,67	0,05	41,16	2,98	5,03	5,50	0,47	88,39	19,11
2	3,14	1,36	0,02	31,34	1,80	5,43	6,26	0,60	114,27	15,00
3	23,15	174,50	55,20	316,66	99,89	28,49	232,92	344,86	1060,29	545,19
4	34,32	168,84	74,20	349,62	125,29	24,35	223,97	285,48	1073,65	417,19
5	10,06	3,66	0,53	67,38	4,61	15,14	8,42	1,95	149,21	21,27

6	6,56		4,92	85,10	5,49	8,08	8,25	1,20	178,1	31,2
		8,48							3	5
7	28,37	149,	82,0	246,3	38,7	49,7	165,	283,	597,1	88,7
		84	9	7	2	9	86	98	5	9
8	32,52	142,	86,8	228,6	46,6	45,0	154,	322,	630,0	66,6
		65	6	6	7	8	70	46	9	0
9	10,32	21,0	6,61	162,2	42,5	14,7	164,	48,0	731,3	478,
		9		6	5	4	08	0	5	35
10	9,46	25,2	8,03	165,9	48,3	14,3	239,	68,4	796,5	569,
		1		6	6	0	84	3	0	57
11	2,26		0,06	19,93	0,94	4,27	3,96	0,37	37,28	11,1
		0,83								8
12	31,45	71,8	37,0	339,8	24,7	32,5	75,2	69,1	392,7	28,4
		7	9	7	1	4	0	4	5	7
13	7,15		1,85	136,3	17,4	7,93	32,3	7,33	408,6	140,
		9,22		4	6		3		1	88
14	11,32	49,5	16,9	181,0	80,1	18,3	326,	133,	708,6	659,
		2	3	1	8	4	39	92	5	33
15	11,76	238,	7,06	129,3	44,9	13,6	238,	64,4	799,3	664,
		90		3	4	0	90	6	9	43
16	9,77	7,68	2,11	53,61	11,0	11,4	61,5	18,1	190,3	146,
					8	3	1	3	0	11
17	3,70	9,08	2,30	58,85	14,3	4,79	51,9	16,8	241,7	166,
					3		3	1	7	69
18	3,40	8,39	2,09	53,95	12,7	4,71	66,7	18,1	232,0	184,
					2		2	4	7	10
19	2,81	8,15	2,07	52,53	12,0	4,89	60,1	17,4	199,0	262,
					6		5	3	4	71
20	3,19	8,37	2,06	53,74	13,0	4,17	92,7	21,2	292,0	326,
					8		1	6	0	11

### 3.4. Análises estatísticas

As Tabelas 7 e 8 mostram os dados estatísticos para café robusta e café arábica, respectivamente. Os dados analisados estatisticamente, a partir do planejamento experimental, foram: perda de massa, densidade aparente, densidade específica, cor (Agtron),  $\Delta E$ , cafeína, umidade, furano, furfural, 5-metilfurfural, furaneol e 5-hidroxi-metilfurfural. Seguindo o planejamento experimental, o coeficiente A é representado pelo parâmetro temperatura inicial, o

coeficiente B é representado pela temperatura final e o coeficiente C é representado pelo tempo de torra.

Observando a Tabela 7, nota-se que, para a perda de massa, o parâmetro que mais gera impacto é a temperatura final da torra, entrando em conformidade com os dados já discutidos anteriormente, onde foi possível concluir que altas temperaturas de torra impactam diretamente na perda de massa das amostras. Para a densidade aparente, a temperatura final da torra também foi o parâmetro mais significativo, o mesmo ocorrendo para a densidade específica, o que apresenta concordância com os dados anteriores, onde os ensaios com as maiores temperaturas de torra mostraram as menores densidades.

Para a análise de cor no Agtron diversos coeficientes foram significativos, porém, o mais significativo, em módulo, foi a temperatura final. Isso também ocorreu para a análise de coloração a partir do  $\Delta E$ . Afinal, é a partir das altas temperaturas que a coloração mais intensa do café se desenvolve.

Para a cafeína os coeficientes mais significativos foram temperatura inicial quadrática e tempo quadrático. Ou seja, a submissão deste composto à variação de temperatura ocasiona influências significativas sobre este composto.

Na análise de furano, todos os parâmetros foram significativos. Porém, em módulo, o coeficiente de maior impacto foi a temperatura final. Para furfural e 5-metilfurfural o mesmo aconteceu. Para furaneol e 5-hidroximetilfurfural nem todos os parâmetros foram significativos, porém, o coeficiente de maior impacto também foi a temperatura final. Como citado anteriormente, as temperaturas de torra ocasionam diversas reações nos açúcares que, posteriormente formam os compostos furânicos. Pode ser em decorrência desse fato que a temperatura final se torna significativa para todos estes compostos.

A partir da análise de torra (Agtron) em café robusta, quando analisamos o tempo x temperatura (Figura 2A) é possível notar que, os maiores graus de torra encontram-se nos pontos centrais de temperatura final e por toda a faixa de tempo. Para a cafeína, os maiores teores de cafeína encontram-se nos pontos centrais de temperatura inicial e tempo (Figura 2B). Para a perda de massa, quando analisamos tempo x temperatura final (Figura 2C), observamos que os maiores percentuais de perda de massa estão nas maiores temperaturas finais e tempo. Para umidade, quando se analisa tempo x temperatura final (Figura 2D) observa-se as maiores umidades nas menores temperaturas finais e maiores tempos.

Na Tabela 8, observa-se que, para a perda de massa, o parâmetro de maior significância foi a temperatura final. Para as densidades aparente e específica, coloração Agtron e  $\Delta E$ , o coeficiente de maior impacto também foi a temperatura final. Já para a cafeína, o fator de maior significância foi a temperatura inicial. Para a umidade, foi a temperatura final. Na análise de furano, o coeficiente de maior impacto foi o AB (temperatura final x temperatura inicial). Para o furfural, 5-metilfurfural, furaneol e 5-hidroximetilfurfural, apesar de diversos parâmetros terem sido significativos, o coeficiente de maior impacto, em módulo, foi o AB (temperatura final x temperatura inicial). Para a maioria das análises, os resultados obtidos dos parâmetros significativos de cada análise para café robusta foram bem similares aos de café arábica. Assim, pode-se associar essas análises ao que foi discutido anteriormente para a variedade robusta.

De forma geral, no café robusta o coeficiente de maior impacto nas análises realizadas foi a temperatura final. Já no café arábica, nas análises físico-químicas, o coeficiente de maior impacto foi a temperatura final. Já para a análise de voláteis foi o coeficiente AB (temperatura final x temperatura inicial). Para a análise de

voláteis em café arábica, o fator AB foi significativo, podendo indicar que outros fatores além das reações envolvendo açúcares possam estar envolvidos neste processo.

O grau de torra (Agtron) em café arábica quando analisados os parâmetros tempo x temperatura final (Figura 3A), pode-se concluir que, os maiores graus de torra estão presentes quando aplica-se uma menor temperatura na amostra, independente do tempo. Na análise de cafeína, a partir dos parâmetros tempo x temperatura inicial (Figura 3B) foi possível visualizar que os maiores teores de cafeína se encontram no parâmetro 0 (ponto central) de temperatura inicial. Para densidade aparente, os maiores valores são encontrados nas menores temperaturas finais, independente do tempo (Figura 3C). Na perda de massa, os maiores valores encontram-se nas maiores temperaturas finais e nos maiores intervalos de tempo (Figura 3D).

A falta de ajuste em algumas análises ocorre em decorrência do valor muito baixo do erro puro obtido pelas análises estatísticas. Da SILVEIRA *et al.* (2016), a partir da ANOVA obteve a equação quadrática para algumas análises com valores muito baixos de erro puro. Assim, o valor de F para o ajuste do modelo dessa resposta pode ter sido superestimado como resultado de subestimação do erro puro, resultado na falta de ajuste observada em algumas análises.

A falta de significância da regressão em algumas análises como a de furfural, 5-metilfurfural e 5-hidroximetilfurfural em café robusta (Tabela 7) e furfural e 5-metilfurfural em café arábica (Tabela 8) podem indicar que existem muitos fatores envolvidos na formação destes compostos, não sendo viável fazer uma predição a partir deste modelo. Diversas reações estão envolvidas na formação de derivados furânicos como a reação de Maillard, degradação térmica de

aminoácidos e carboidratos, oxidação de ácidos graxos poliinsaturados e hexoses na matriz de alimentos (BARRIOS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2022).

**Tabela 7.** Dados estatísticos do Café Robusta.

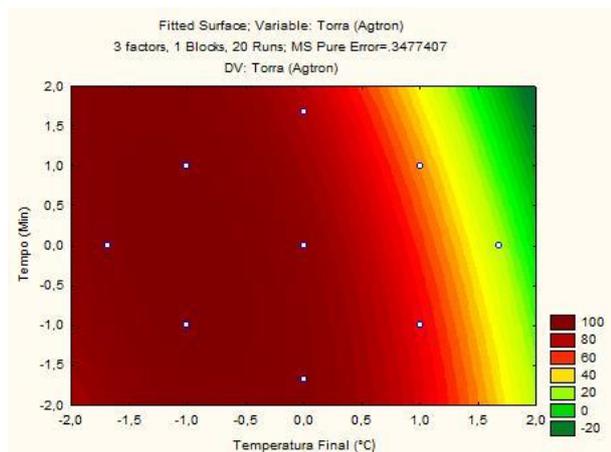
Respostas	Modelo	Coeficientes									Signif. Regres. (p<0,05)	Model fit (p>0,05)
		A	B	C	A <sup>2</sup>	B <sup>2</sup>	C <sup>2</sup>	AB	AC	BC		
<b>Perda de Massa</b>	Linear		3,32								0,0014	0,47018
<b>D Ap</b>	Quadrático		-0,06			-0,01					0,0000	0,77428
<b>D Espec</b>	Linear		-0,08								0,0001	0,09805
<b>Agtron</b>	Quadrático	-0,52	-24,19	-4,97	-0,72	-11,36	-1,56			-4,32	0,0000	0,00038
<b>ΔE</b>	Quadrático	0,11	10,12	1,99		0,77	-0,30			0,62	0,0000	0,04207
<b>Cafeína</b>	Quadrático				-0,19		-0,18				0,0000	0,56430
<b>Umidade</b>	Quadrático	0,25	-1,33	-0,27	0,19	1,01	0,21	0,30	-0,21	-0,54	0,0029	0,00094
<b>Furano</b>	Quadrático	0,68	10,51	1,44	3,49	5,95	3,25	2,49	-1,18	-0,73	0,0005	0,00061
<b>Furfural</b>	Quadrático	24,09	79,86	10,38	64,14	6,61	56,14	25,03	-28,01	-45,27	0,2011	0,00000
<b>5MF</b>	Quadrático	2,24	26,02	5,15	7,41	11,40	8,14	2,43	-1,23	4,27	0,1060	0,00000
<b>Furaneol</b>	Quadrático		106,55	-2,65	37,90	43,49	35,97			-33,90	0,0000	0,00231
<b>5HMF</b>	Quadrático	3,14	24,60	-2,13	12,11		13,30	4,21	-1,92	-18,14	0,1164	0,00003

**Tabela 8.** Dados estatísticos do Café Arábica.

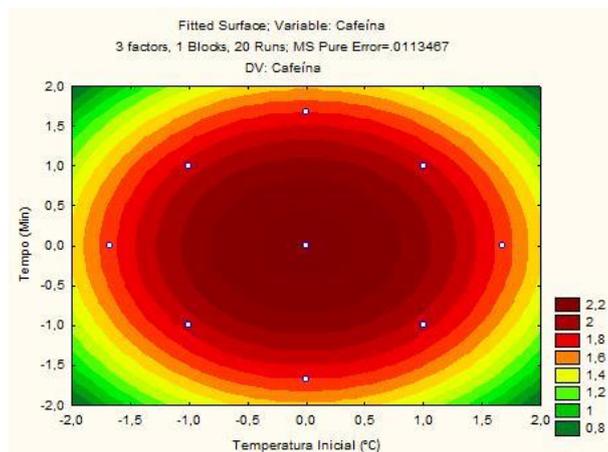
Respostas	Modelo	Coeficientes									Signif. Regres. (p<0,05)	Model fit (p>0,05)
		A	B	C	A <sup>2</sup>	B <sup>2</sup>	C <sup>2</sup>	AB	AC	BC		
<b>Perda de Massa</b>	Quadrático		4,22	0,97		0,93					0,0000	0,21557
<b>D Ap</b>	Quadrático		-0,10	-0,01	-0,01	-0,01				-0,01	0,0000	0,04244
<b>D Espec</b>	Linear		-0,13								0,0024	0,24489
<b>Agtron</b>	Quadrático		-25,90	-4,50			2,29				0,0000	0,10120
<b>ΔE</b>	Quadrático		11,16	2,37		-1,16					0,0000	0,22679
<b>Cafeína</b>	Quadrático	-0,06	-0,02	-0,02	-0,07	-0,04		-0,06	-0,09	-0,09	0,0009	0,01121
<b>Umidade</b>	Linear		-0,80							0,59	0,0000	0,21583
<b>Furano</b>	Quadrático				7,54		4,11	8,96			0,0480	0,02009

<b>Furfural</b>	Quadrático	13,87	-16,24	6,53	27,92	14,63	-9,51	74,39	-36,17	-36,40	0,1775	0,00052
<b>5MF</b>	Quadrático	-8,59	16,73	8,99	64,73	11,29	12,65	113,78	-43,17	-43,39	0,1489	0,00000
<b>Furaneol</b>	Quadrático	49,02	-48,89	53,62	141,71	48,23	42,49	278,91	-188,71	-187,94	0,0450	0,00112
<b>5HMF</b>	Quadrático	65,81	-52,78				-59,10	121,16	-110,37	-106,85	0,0181	0,04946

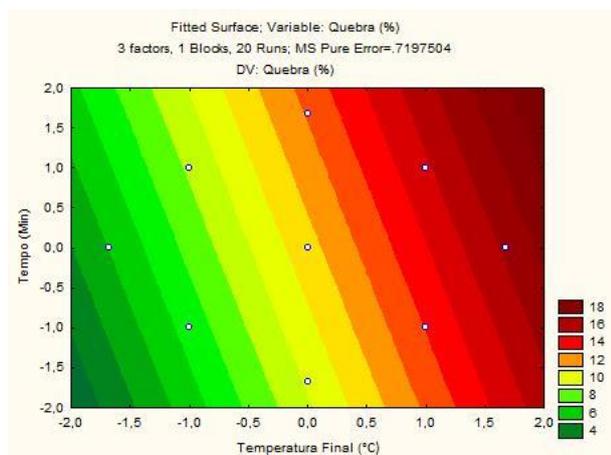
**A**



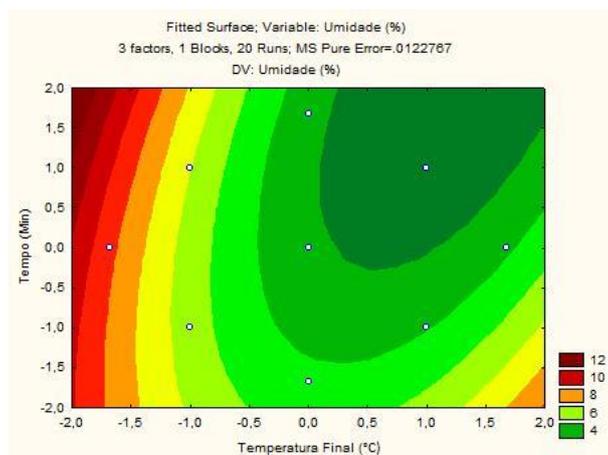
**B**



**C**



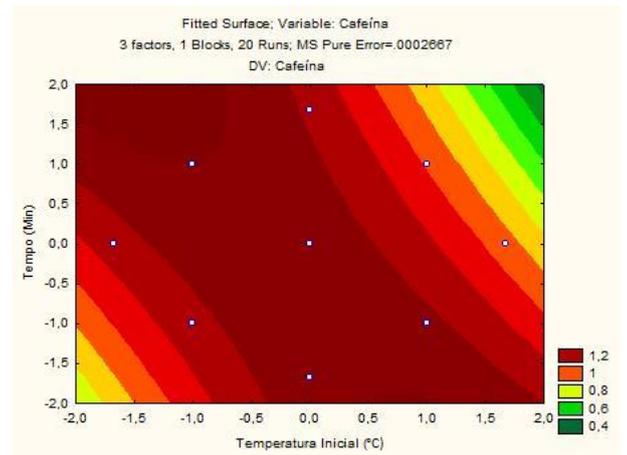
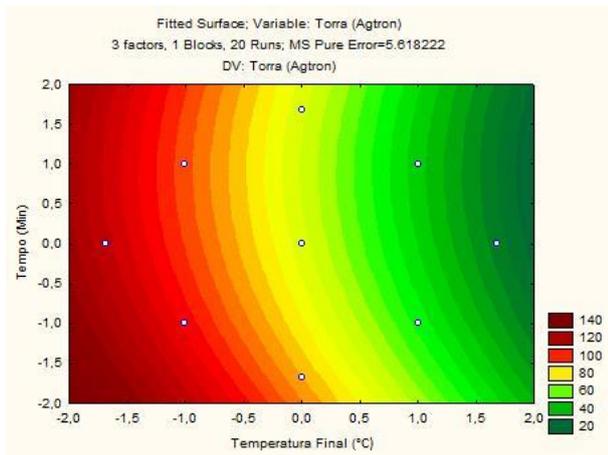
**D**



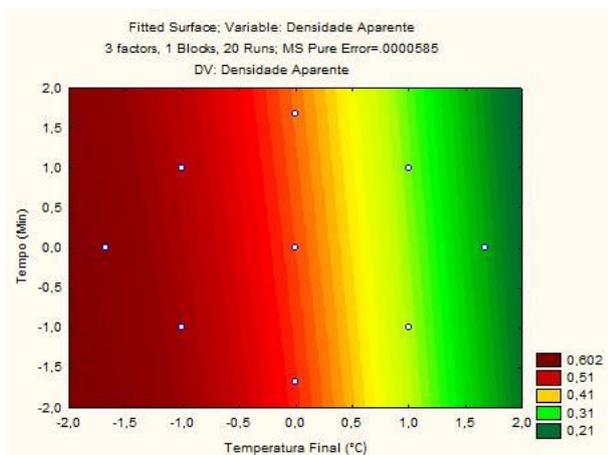
**Figura 2.** Superfícies de resposta geradas para as análises de café robusta.

**A**

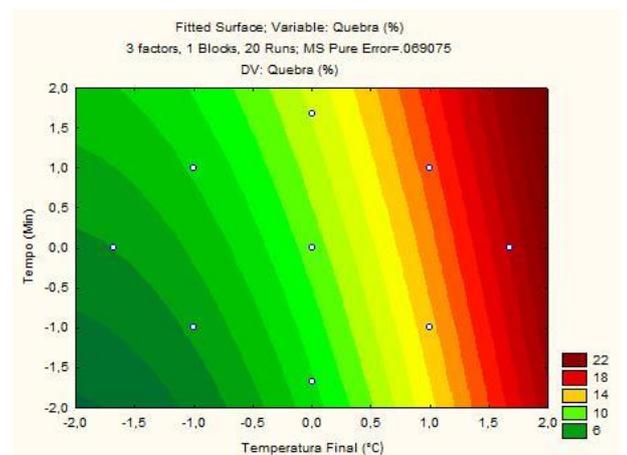
**B**



C



D



**Figura 3.** Superfícies de resposta geradas para as análises de café robusta.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram que torras mais intensas, com temperaturas mais elevadas, resultam em grãos de coloração mais escura e mais intensas. Os açúcares do café podem ser degradados durante a torra e, por isso, os grãos torrados apresentaram menores concentrações de açúcares do que o grão verde. Esses açúcares, durante a torra, se transformam em outros compostos que contribuem com o aroma e sabor do produto, dentre esses compostos estão os derivados furânicos. Conforme observado no presente estudo, esses compostos

presentes no café se desenvolvem durante a torra e variam de concentração conforme as diferentes condições de torra a que os grãos são submetidos. Diversas rotas estão envolvidas na formação destes compostos e por isso cada torra é tão individual.

A estatística realizada para os resultados obtidos nas análises físico-químicas em café robusta mostram que o parâmetro mais significativo foi a temperatura final e para a cafeína foi a temperatura inicial. Para os compostos furânicos o parâmetro mais significativo foi a temperatura final, indicando que este é o fator mais relevante na formação destes compostos. No café arábica, a temperatura final também foi o parâmetro mais significativo para os resultados obtidos nas determinações físico-químicas e, para cafeína, a temperatura inicial. Para os compostos furânicos o parâmetro mais significativo foi a relação temperatura inicial x temperatura final. Assim, é possível concluir que torras com temperaturas finais mais elevadas têm maior impacto sobre os resultados das determinações físico químicas de ambos os cafés. A cafeína é influenciada pela temperatura inicial e os derivados furânicos são influenciados pela temperatura aplicada durante o processo.

A torra do café é um processo complexo e seus diversos fatores influenciam de diferentes formas a qualidade final do produto. Muitos aspectos estão envolvidos e influenciam neste processo, fazendo-se necessário o estudo de cada particularidade, portanto faz-se necessário o monitoramento das condições de torra para que a qualidade do produto seja mantida.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC, Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Method 55- 50.01. Specific Volume. Cereals & Grains Association, St.Paul, MN, U.S.A.

Associação Brasileira da Indústria de Café. Categorias de Qualidade do Café. Disponível em <<https://www.abic.com.br/recomendacoes-tecnicas/categorias-de-qualidade-do-cafe/>>. Acesso em 16 Mai 2021.

Anunciação, A. S., SEVERO, L., & SILVA, D. (2016). Análise da qualidade do café obtido por torrefação a vácuo. *Revista CSBEA*, 1(1), 1-7.

Barrios-Rodríguez, Y. F., Gutiérrez-Guzmán, N., Pedreschi, F., & Mariotti-Celis, M. S. (2022). Rational design of technologies for the mitigation of neo-formed contaminants in roasted coffee. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 223-235.

Bicho, N. C., Leitão, A. E., Ramalho, J. C., De Alvarenga, N. B., & Lidon, F. C. (2011). Identification of nutritional descriptors of roasting intensity in beverages of Arabica and Robusta coffee beans. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(8), 865-871.

. Bugner, E., & Feinberg, M. (1992). Determination of mono-and disaccharides in foods by interlaboratory study: quantitation of bias components for liquid chromatography. *Journal of AOAC International*, 75(3), 443-464.

. Córdoba, N., Moreno, F. L., Osorio, C., Velásquez, S., & Ruiz, Y. (2021). Chemical and sensory evaluation of cold brew coffees using different roasting profiles and brewing methods. *Food Research International*, 141, 110141.

da Silva, C. Q., da Silva Fernandes, A., Teixeira, G. F., França, R. J., da Costa Marques, M. R., Felzenszwalb, I., ... & Ferraz, E. R. A. (2021). Risk assessment of coffees of different qualities and degrees of roasting. *Food Research International*, 141, 110089.

da Silveira, T. F. F., Meinhart, A. D., de Souza, T. C. L., Teixeira Filho, J., & Godoy, H. T. (2016). Phenolic compounds from yerba mate based beverages—A multivariate optimisation. *Food Chemistry*, 190, 1159-1167.

Diaz-de-Cerio, E., Guerra-Hernandez, E., Garcia-Esteba, R., Garcia-Villanova, B., & Verardo, V. (2019). Analytical approaches in coffee quality control. In *Caffeinated and Cocoa Based Beverages* (pp. 285-336). Woodhead Publishing.

Dippong, T., Dan, M., Kovacs, M. H., Kovacs, E. D., Levei, E. A., & Cadar, O. (2022). Analysis of volatile compounds, composition, and thermal behavior of coffee beans according to variety and roasting intensity. *Foods*, 11(19), 3146.

European Food Safety Authority. (2011). Update on furan levels in food from monitoring years 2004–2010 and exposure assessment. *EFSA Journal*, 9(9), 2347.

Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Komes, D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food chemistry*, 129(3), 991-1000.

Hayes, R. B. (1996). Dry Cleaning, Some Chlorinated Solvents and Other Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 63.

ISO International Standard (1994a). Roasted ground coffee – determination of moisture content – method by determination of loss mass at 103°C (Routine method). ISO 11294:1994

Laukalēja, I., Krūma, Z., & Cinkmanis, I. (2022). Impact of The Roast Level on Chemical Composition of Coffee from Colombia. In *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. (Vol. 76, No. 1, pp. 145-151).

Marek, G., Dobrzański Jr, B., Oniszczyk, T., Combrzyński, M., Ćwikła, D., & Rusinek, R. (2020). Detection and differentiation of volatile compound profiles in roasted coffee arabica beans from different countries using an electronic nose and GC-MS. *Sensors*, 20(7), 2124.

Ormond, J. G. P., Paula, S. R. L. D., & Faveret Filho, P. D. S. C. (1999). *Café:(re) conquista dos mercados*.

Pereira, L. L., Júnior, D. B., de Sousa, L. H. B. P., dos Santos Gomes, W., Cardoso, W. S., Guarçoni, R. C., & ten Caten, C. S. (2021). Relationship Between Coffee Processing and Fermentation. *Quality Determinants In Coffee Production*, 255-301.

Pereira, L. L., Debona, D. G., Pinheiro, P. F., de Oliveira, G. F., ten Caten, C. S., Moksunova, V., ... & Yamamoto, H. (2020). Roasting process. In *Quality determinants in coffee production* (pp. 303-372). Cham: Springer International Publishing.

Poisson, L., Blank, I., Dunkel, A., & Hofmann, T. (2017). The chemistry of roasting—Decoding flavor formation. In *The craft and science of coffee* (pp. 273-309). Academic Press.

Schenker, S., & Rothgeb, T. (2017). The roast—Creating the Beans' signature. In *The craft and science of coffee* (pp. 245-271). Academic Press.

Silva, J. R. (2008). Otimização do processo de torração do café pelo monitoramento de parâmetros e propriedades físicas e sensoriais.

Tfouni, S. A., Serrate, C. S., Carreiro, L. B., Camargo, M. C., Teles, C. R., Cipolli, K. M., & Furlani, R. P. (2012). Effect of roasting on chlorogenic acids, caffeine and polycyclic aromatic hydrocarbons levels in two *Coffea* cultivars: *Coffea arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62 and *Coffea canephora* cv. Apoatã IAC-2258. *International Journal of Food Science & Technology*, *47*(2), 406-415.

Várady, M., Ślusarczyk, S., Boržíkova, J., Hanková, K., Vieriková, M., Marcinčák, S., & Popelka, P. (2021). Heavy-metal contents and the impact of roasting on polyphenols, caffeine, and acrylamide in specialty coffee beans. *Foods*, *10*(6), 1310.

Zakidou, P., Plati, F., Matsakidou, A., Varka, E. M., Blekas, G., & Paraskevopoulou, A. (2021). Single origin coffee aroma: From optimized flavor protocols and coffee customization to instrumental volatile characterization and chemometrics. *Molecules*, *26*(15), 4609.