



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Engenharia de Alimentos

EMANUELLE MORAIS DE OLIVEIRA

Estudo dos óleos de café verde e torrado obtidos de cafés arábica de diferentes classificações e pontos de torrefação e sua aplicação em iogurtes: efeito sobre as características físico-químicas, estabilidade e aspectos sensoriais

Study of green and roasted coffee oils obtained from Arabica coffees of different classifications and roasting points and their application in yogurts: effect on physicochemical characteristics, stability and sensory aspects

CAMPINAS

2022

EMANUELLE MORAIS DE OLIVEIRA

Estudo dos óleos de café verde e torrado obtidos de cafés arábica de diferentes classificações e pontos de torrefação e sua aplicação em iogurtes: efeito sobre as características físico-químicas, estabilidade e aspectos sensoriais

Study of green and roasted coffee oils obtained from Arabica coffees of different classifications and roasting points and their application in yogurts: effect on physicochemical characteristics, stability and sensory aspects

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutora em Ciência de Alimentos.

Thesis presented to the Faculty of Food Engineering of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Food Science.

Orientadora: Dra. Helena Teixeira Godoy

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA EMANUELLE MORAIS DE OLIVEIRA E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. HELENA TEIXEIRA GODOY.

CAMPINAS

2022

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

OL4s Oliveira, Emanuelle Morais de, 1988-
Study of green and roasted coffee oils obtained from Arabica coffees of different classifications and roasting points and their application in yogurts : effect on physicochemical characteristics stability and sensory aspects / Emanuelle Morais de Oliveira. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Helena Teixeira Godoy.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Coffea arabica. 2. Óleo de café. 3. Cafeína. 4. Furanos. 5. Essenciais aromatizantes. I. Godoy, Helena Teixeira. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Estudo dos óleos de café verde e torrado obtidos de cafés arábica de diferentes classificações e pontos de torrefação e sua aplicação em iogurtes : efeito sobre as características físico- químicas, estabilidade e aspectos sensoriais

Palavras-chave em inglês:

Coffea arabica

Coffee oil

Caffeine

Furans

Flavoring essentials

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Doutora em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Helena Teixeira Godoy [Orientador]

Flavio Luis Schmidt

Marcelo Alexandre Prado

Adriana Dillenburg Meinhart

Mirian Pereira Rodarte

Data de defesa: 08-03-2022

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-0686-404>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/3822176904938314>

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy
Presidente
FEA - UNICAMP

Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt
Membro Titular
FEA - UNICAMP

Profa. Dr. Marcelo Alexandre Prado
Membro Titular
FEA - UNICAMP

Profa. Dra. Adriana Dillenburg Meinhart
Membro Titular
UFPEL

Prof. Dra. Mirian Pereira Rodare
Membro Titular
UFJF

Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

DEDICATÓRIA

Ao meu filho Tomaz e meu esposo Flávio.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) e ao Departamento de Ciência dos Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos pela oportunidade de desenvolvimento profissional e pessoal.

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais pelo apoio, concessões e parceria. Ao pessoal do administrativo que me ajudou durante análise sensorial, ao Eduardo responsável pelo Laboratório de Solos pelo auxílio durante as análises. Aos meus colegas professores Mariana Dutra e Oswaldo Kameyama pela parceria e ajuda durante todo este período.

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

A professora Helena Godoy pela orientação, confiança, amizade, ensinamentos e motivação durante a realização deste trabalho. Você é um exemplo como pessoa e profissional.

A Professora Mirian Rodarte pelos ensinamentos durante toda minha jornada acadêmica sempre me auxiliando e servindo de inspiração. A Professora Adriene pelo auxílio durante as análises e apoio durante a redação dos artigos.

A empresa Cooxupé e em especial ao Marcelo pela parceria e abertura das portas da empresa para condução do experimento.

A minha mãe e irmãs pelo amor, orações, ensinamentos, companheirismo, força e conselhos.

As minhas amigas Raquel, Paula, Joelma pelo incentivo amizade e ajuda nas horas de aflições. Aos meus alunos que são minha força motora nesta empreitada.

Aos meus colegas de Laboratório de Análise de Alimentos: Adriano, Letícia, Silvia, Marcela, Luís Eduardo, Wellington, Lucas e Rafaela. Obrigada pelos ensinamentos, troca de conhecimento e auxílio durante a realização dos experimentos. Em especial ao Adriano e a Letícia pelo apoio durante a análise de bioativos, pelos cafés, doces e almoços.

Aos meus queridos amigos Marcus, Livia, Michele e Francis pela amizade e confraternizações.

Á minha querida amiga Simone pela ajuda durante toda minha trajetória, por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis me ajudando com meu filho, enquanto eu estava na estrada. Conversando e escutando minhas lamentações e alegrias. Pelas risadas, conversas e por todo apoio e companheirismo.

Ao meu esposo Flávio pelo apoio durante toda jornada, pela ajuda durante as viagens, carinho, companheirismo, amor, paciência e compreensão comigo. Sabemos que não foi fácil chegar aqui, mas você foi meu parceiro e ainda, continuaremos na nossa jornada, meu grande amor e amigo que estará sempre ao meu lado. Ao meu filho Tomaz pela alegria e por ser minha fonte de energia para ser melhor a cada dia. Mamãe te ama a cada segundo. Vocês são a luz da minha vida.

Á todos os funcionários da FEA pela amizade e auxílios concedidos durante o doutorado.

Á todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

RESUMO

O café representa um dos produtos de maior importância econômica e a produção de alguns subprodutos do café vêm ganhando espaço no mercado devido a presença de constituintes benéficos a saúde humana. Os óleos de cafés obtidos de prensagem mecânica a frio são constituintes lipídicos que podem ser extraídos verdes e torrados a partir de diferentes tipos de grãos de café. Diante disso, o objetivo deste estudo foi investigar a composição química de óleos de café verde e torrado advindos de diferentes pontos de torração e de classificações distintas. Para isso os grãos de café foram caracterizados quanto a composição física e química, além de serem avaliados quanto aos parâmetros de torração. Em seguida, os grãos passaram pelo processo de extração à frio por prensagem mecânica e foram avaliados o rendimento, índice de acidez e peróxidos, composição graxa e aromática, composição bioativa, fenólica e capacidade antioxidante. Além disso, os óleos foram adicionados em formulações de iogurtes visando a utilização como ingrediente alimentar, para tal foram testados a capacidade antioxidante e composição fenólica durante o período de 0 e 30 dias, e também os aspectos sensoriais e microbiológicos. As análises de caracterização dos grãos mostraram que os cafés eram tipo 2 (mole), tipo 6 (duro) e fora de tipo (rio), com peneira chato. Quanto as análises de umidade, extrato etéreo, proteínas, cinzas, acidez total titulável e sólidos solúveis os grãos apresentaram resultados condizentes com a literatura. Os óleos de cafés em torra escura apresentaram maior rendimento de extração e não tiveram recirculação da sua torta durante o processo de extração. A análise de GC- FID mostrou que os óleos verdes e torrados possuem em maior concentração os ácidos linoléico e palmítico. Os compostos voláteis avaliados por HS-SPME-GC-FID presentes em maior teor nos óleos verdes foram os ésteres e nos óleos torrados furanos e pirazinas, os quais aumentavam com elevação da intensidade de torra. A composição fenólica dos óleos obtidos de grãos classificados como duro e rio foi maior quando no estado verde, para o mole isso ocorreu em torra escura. Quanto a capacidade antioxidante a FRSA (%) mostrou que os óleos de cafés duro e rio torrados foram mais elevados do que estes na condição verde. Para a composição bioativa analisada por HPLC- DAD em relação a cafeína está se manteve condizente com a classificação de qualidade dos grãos, a trigonelina apresentou teores próximos em

óleos verdes e em torra clara, sofrendo degradação nos óleos em torra média e escura, já os ácidos clorogênicos degradaram com aumento da intensidade de torra. As formulações de iogurtes com os óleos de café quando analisadas em valores absolutos apresentaram maior composição fenólica e capacidade antioxidante em relação ao padrão em ambos os tempos. A análise sensorial mostrou maior aceitação sensorial para iogurtes com óleos em torra escura. Assim, este estudo mostra a importância dos óleos de cafés demonstrando que os óleos em torra escura são excelentes alternativas para serem usados como ingredientes alimentícios, conferindo capacidade antioxidante, cafeína e potencial aromatizante.

Palavras- chave: *Coffea arabica* L.; óleo de café em torrado escura; cafeína; furanos; aromatizante; produtos lácteos.

ABSTRACT

Coffee represents one of the most economically important products and the production of some coffee by-products has been gaining space in the market due to the presence of constituents beneficial to human health. Coffee oils obtained from mechanical cold pressing are lipid constituents that can be extracted green and roasted from different types of coffee beans. Therefore, the aim of this study was to investigate the chemical composition of green and roasted coffee oils coming from different roasting points and different classifications. For this, the coffee beans were characterized for physical and chemical composition, in addition to being evaluated for roasting parameters. Then, the grains went through the cold extraction process by mechanical pressing and the yield, acidity and peroxide index, grease and aromatic composition, bioactive composition, phenolic and antioxidant capacity were evaluated. In addition, the oils were added to yoghurt formulations with the aim of being used as a food ingredient, for which the antioxidant capacity and phenolic composition were tested during the period of 0 and 30 days, as well as the sensory and microbiological aspects. The characterization analyzes of the beans showed that the coffees were type 2 (soft), type 6 (hard) and out of type (river), with flat sieve. As for the analysis of moisture, ether extract, proteins, ash, total titratable acidity and soluble solids, the grains showed results consistent with the literature. Coffee oils on dark roast had higher extraction yield and had no recirculation of their cake during the extraction process. The GC-FID analysis showed that the green and roasted oils have a higher concentration of linoleic and palmitic acids. The volatile compounds evaluated by HS-SPME-GC-FID present in higher content in green oils were the esters and in the roasted oils furans and pyrazines, which increased with increasing roasting intensity. The phenolic composition of oils obtained from grains classified as hard and river was higher when in the green state, for the soft one, this occurred in dark roast. As for the antioxidant capacity, FRSA (%) showed that the oils from hard and river roasted coffees were higher. For the bioactive composition analyzed by HPLC-DAD in relation to caffeine is kept in line with the classification of grain quality, trigonelline presented similar levels in green oils and in light roasting, suffering degradation in oils in medium and dark roasts, as the Chlorogenic acids degraded with increasing roasting intensity. The yogurt formulations with coffee oils, when analyzed in absolute values, presented

higher phenolic composition and antioxidant capacity compared to the standard in both times. The sensory analysis showed greater acceptance and purchase intention for yogurts with oils on a dark roast, mainly from the hard classification. Thus, this study shows the importance of coffee oils, demonstrating that oils on dark roasts are excellent alternatives to be used as food ingredients, providing antioxidant capacity, caffeine and flavoring potential.

Keywords: *Coffea arabica* L.; dark roasted coffee oil; caffeine; furans; flavoring; dairy products.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIC	Associação Brasileira da Indústria do Café
ABTS	2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic
5- ACQ	Ácido 5- cafeoilquinico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ASRL	Atividade antioxidante ou sequestradora de radicais
CIE	Commission Internationale de l'Eclairage
CG-MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
COB	Classificação Oficial Brasileira
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
COOXUPÉ	Cooperativa dos Cafeicultores de Guaxupé
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DPPH	1,1-diphenyl-1,2-picrylhydrazyl
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FRSA	Free radical scavenging activity
GCO	Óleo de café verde
GC- FID	Cromatografia Gasosa com detector de ionização de chama
HCA	Hierarchical Cluster Analysis
HGCO	Óleo de café verde aquecido
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
HRCO	Óleo de café torrado aquecido
IN 8	Instrução Normativa nº8
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

OCV	Óleo de café verde
OCT	Óleo de café torrado
PCA	Principal component analysis
SCA	Specialty Coffee Association
SPME	Microextração em fase sólida
RCO	Óleo de café torrado
TAH	Transferência de átomos de hidrogênio
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
TEL	Transferência de elétrons livres
uPLC	Cromatografia Líquida de Ultra Performance
UV/Vis	Ultraviolet- visible
VOCs	Compostos orgânicos voláteis

SUMÁRIO

1. Introdução Geral.....	19
1.1 Objetivos.....	21
1.1.1 Objetivo Geral.....	21
1.1.2 Objetivos específicos.....	21
1.2 Organização da Tese de doutorado.....	22
2. Referências Bibliográficas.....	22
Capítulo I. Revisão Bibliográfica.....	25
1. Aspectos econômicos do café no Brasil.....	25
2. Classificação do café no Brasil.....	25
3. <i>Coffea arabica</i>.....	28
3.1 Composição química dos grãos.....	28
3.2 Processo de torração do café.....	31
4. Óleo de café.....	36
4.1 Composição química do óleo.....	38
4.1.1 Compostos bioativos.....	44
4.1.1.1 Cafeína.....	45
4.1.1.2 Trigonelina.....	46
4.1.1.3 Ácidos clorogênicos.....	47
4.2 Compostos aromáticos do óleo de café.....	52
4.3 Óleo de café e a aplicação em alimentos.....	57
4.3.1 Iogurtes com incorporação de óleos vegetais.....	59
4.3.2 Análise Sensorial.....	63
5. Conclusão.....	64

6. Referências Bibliográficas.....	65
---	-----------

Capítulo II. Evaluation of physical parameters of green and roasted arabica coffee using the Scilab® free software.....	86
--	-----------

ABSTRACT.....	86
----------------------	-----------

INTRODUCTION.....	87
--------------------------	-----------

MATERIAL AND METHODS.....	90
----------------------------------	-----------

Collection and physical evaluation of samples.....	90
---	-----------

Chemical evaluation of raw coffee beans.....	91
---	-----------

Evaluation of the roasting process of the samples.....	92
---	-----------

Statistical analysis and graph plotting.....	92
---	-----------

RESULTS.....	93
---------------------	-----------

Physical analysis.....	93
-------------------------------	-----------

Chemical analysys of raw coffee beans.....	94
---	-----------

Roasting Process.....	94
------------------------------	-----------

DISCUSSION.....	96
------------------------	-----------

Physical analysis.....	96
-------------------------------	-----------

Chemical analysis of raw beans.....	98
--	-----------

Roasting Process.....	99
------------------------------	-----------

CONCLUSION.....	101
------------------------	------------

ACKNOWLEDGMENTS.....	101
-----------------------------	------------

AUTHOR CONTRIBUTION.....	101
---------------------------------	------------

REFERENCES.....	102
------------------------	------------

Capítulo III. Evaluation of antioxidant capacity and quantification of bioactive compounds in green and roasted coffee oils obtained from beans of different beverage classifications.....	107
---	------------

ABSTRACT.....	107
1. Introduction.....	108
2. Material and Methods.....	110
2.1 Material.....	110
2.1.1 Sample.....	110
2.2 Methods.....	110
2.2.1 Yield.....	110
2.2.2 Acidity and peroxide indices.....	110
2.2.3 Fatty acid analysis.....	110
2.2.4 Evaluation of volatile compounds.....	111
2.2.5 Statistical analysis.....	112
3. Results and discussion.....	113
3.1 Yield and Indices of acidity and peroxides.....	113
3.2 Fatty acid composition.....	115
3.3 Volatile compounds.....	118
4. Conclusion.....	128
5. References.....	128
Capítulo IV. Antioxidant capacity and bioactive compounds of green and roasted coffee oils from different beverage qualities.....	136
ABSTRACT.....	136
Practical application.....	136
1. Introduction.....	137
2. Material and Methods.....	139
2.1 Samples.....	139

2.2 Spectrophotometric analysis.....	140
2.2.1 Phenolic compounds.....	140
2.2.2 Free radical scavenging activity- DPPH.....	140
2.2.3 Total antioxidant activity by the ABTS+ radical.....	141
2.3 Determination of bioactive compounds.....	141
2.4 Statistical analysis.....	142
3. Results and discussion.....	143
3.1 Total phenolics and antioxidant activity.....	143
3.2 Determination of bioactive compounds present in oils.....	148
3.3 Principal Component Analysis and Pearson Correlation.....	150
4. Conclusion.....	153
5. References.....	153
Capítulo V. Use of coffee oil in yogurts and determination of phenols and antioxidant capacity.....	167
ABSTRACT.....	167
RESUMO.....	168
INTRODUCTION.....	169
MATERIAL AND METHODS.....	171
Production Yogurts with Coffee Oils.....	171
Microbiological Analyses.....	172
Total Titratable Acidity.....	173
Yogurt extracts.....	173
Total Phenolic Compounds.....	173
Free radical scavenging activity- DPPH.....	174

Total antioxidant activity by the ABTS+ radical.....	174
Sensory analysis.....	175
Statistical analysis and chemometric.....	176
RESULTS AND DISCUSSION.....	176
Microbiological analysis.....	176
Total Titratable Acidity.....	177
Total Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity.....	179
Sensory analysis.....	186
Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA).....	189
CONCLUSION.....	192
AUTHOR CONTRIBUTION.....	192
ACKNOWLEDGMENTS.....	193
REFERENCES.....	193
Discussão Geral.....	200
Conclusão Geral.....	205
Referência Bibliográficas.....	207
ANEXOS.....	213

1. Introdução Geral

O café constitui uma das principais culturas comercializadas a nível mundial. No Brasil as duas culturas de maior importância econômica são as espécies arábica e robusta. A espécie arábica produz uma bebida de sabor e aroma mais refinados, já a robusta é conhecida pela utilização em blends e pela bebida encorpada. Dentre os estados produtores de café, Minas Gerais apresenta-se em destaque, principalmente na região Sul, e tem como característica a produção da espécie arábica.

O café apresenta características físicas e químicas que podem ser afetadas pela sua cadeia de produção envolvendo as etapas de: desenvolvimento genético, produção das mudas, plantio, cuidados da planta, ambiente, colheita, processamento, secagem e beneficiamento. As características físicas são descritas de acordo com a Instrução Normativa nº 8 (IN nº8), a qual classifica o café em categoria, subcategoria, grupo, subgrupo, classe, tipo, granulometria, aroma e sabor, bebida e cor (BRASIL, 2003). A IN nº 8 normatiza a compra e venda de cafés grão cru comerciais, ela preconiza a classificação física de uma amostra de café e através dela pode se ter informações sobre condições pré e pós manejo.

A composição química do grão cru de café também é muito importante para o conhecimento do café, já que todas as etapas do seu processamento tem interferência nesta constituição. O café destaca-se pela capacidade antioxidante, comprovada *in vitro* e *in vivo*, pela presença de cafeína, trigonelina, compostos fenólicos e seus produtos de degradação, além dos relevantes compostos voláteis que levam ao aroma característico (ABRAHÃO et al., 2010; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; LIMA et al., 2010).

Durante o processo de torração do café há uma relevante alteração dos compostos químicos presentes nos grãos, pois uma variedade de elementos são degradados e outros formados. Essa modificação altera completamente a estrutura química, porém esta pode ser intensa ou branda e isso depende do tipo de torrefação realizado. A literatura descreve 3 pontos principais de torração: clara, média e escura.

O óleo do café é um subproduto da indústria cafeeira que vem sendo amplamente estudado e usado como ingrediente ativo, principalmente o obtido de grãos verdes. O óleo do café verde apresenta benefícios como aumento dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante (ZAIN et al., 2018; SWIECA et al., 2017; DONMEZ et al., 2017).

Poucos estudos reportam a utilização do óleo do café torrado, pois acredita-se que este possui menor teor de compostos bioativos quando comparado ao óleo do café verde. Porém,

estudos recentes demonstram que o óleo do café torrado tem alta capacidade antioxidante devido a presença de outros compostos que são formados durante o processo de torração como os compostos heterocíclicos voláteis (RABA et al., 2015; BUDRYN et al., 2012).

O óleo do café torrado tem como característica principal o elevado teor de compostos voláteis, o que justifica sua utilização como aromatizante em indústrias de café solúvel, café instantâneo, sorveterias, panificadoras e processamento de lácteos.

Atualmente algumas indústrias alimentícias têm despertado o interesse quanto a utilização de óleo de café torrado em derivados lácteos. As indústrias têm vendido a idéia de produtos com sabor de café, os quais contém compostos bioativos que exercem benefícios a saúde.

O iogurte é um produto lácteo amplamente consumido por causa de seus efeitos positivos na saúde, além de ser uma bebida suave e de processamento simples. Além disso, apresentam um valor nutricional interessante devido ao seu teor de proteínas, lactose, minerais e vitaminas (LOVEDAY et al., 2013).

Os compostos fenólicos presentes em óleos de cafés torrados (VOYTENA et al., 2018), têm a capacidade de interagir com proteínas, resultando na formação do complexo proteína-polifenol (JAKOBEK, 2015; DONMEZ et al., 2017).

A formação do complexo proteína- polifenol foi modelada por muitos pesquisadores (RICHARD et al., 2006; CARMO, 2019; DONMEZ et al., 2017), o que mostra que a aplicação do óleo em iogurtes é relativamente fácil conforme descrito por Becker (2009), porém pouco se sabe sobre o comportamento destes compostos após adição nos alimentos, visto a estabilidade e aceitação sensorial.

Não há relatos na literatura a respeito de óleo de café extraído em diferentes pontos de torrefação, porém é extremamente importante o conhecido a respeito destes óleos. Pode-se reconhecer que durante uma torra clara as modificações ocorrem de modo mais brando e o óleo permanece no interior do grão, o que indica valores de acidez e índice de peróxidos mais baixos, além de compostos bioativos mais preservados. Já o óleo do café torrado em torras mais escuras pode apresentar teores mais elevados de acidez e índice de peróxidos, pois durante este tipo de torração o óleo fica na porção externa do grão. Em contrapartida, esses óleos podem vir a ter um aroma mais forte, devido a presença dos compostos voláteis, o que justificaria o seu uso em alimentos.

Neste contexto, justifica-se a necessidade de um estudo dos óleos de cafés verdes e torrados em diferentes pontos de torração para conhecimento dos compostos bioativos,

atividade antioxidante, acidez e índice de peróxidos, composição de ácidos graxos além do estudo da sua utilização como potente aromatizante e saborizante.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivo analisar os compostos bioativos, capacidade antioxidante, composição de ácidos graxos e os compostos voláteis do óleo de café verde e torrado obtido de diferentes classificações e pontos de torração, além de verificar a sua aceitação sensorial.

1.1.2 Objetivos específicos

- Realizar a classificação física da matéria prima quanto a peneira, tipo e cor;
- Caracterizar os cafés grão cru de diferentes classificações (mole, duro e rio) quanto ao teor de umidade, proteínas, lipídios, cinzas e carboidratos;
- Proceder diferentes perfis de torra e definir os diferentes pontos de torração por meio de análise colorimétrica;
- Extrair os óleos dos cafés verdes e torrados pelo método de prensagem mecânica a frio;
- Determinar a acidez e o índice de peróxidos das amostras de óleo de café;
- Analisar as amostras de óleo de café quanto ao teor de trigonelina, cafeína e ácidos clorogênicos por Cromatografia líquida de alta eficiência;
- Avaliar a composição fenólica dos óleos de café pelo método de Folin- Ciocalteau;
- Determinar a capacidade antioxidante das amostras de óleo de café pelos métodos DPPH (1,1-diphenyl-1,2-picrylhydrazyl) e ABTS (Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico);
- Avaliar os óleos de café através da composição de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID) e os compostos voláteis presentes nas amostras de óleo de café por Cromatografia Gasosa com microextração em fase sólida em headspace (HS- SPME- GC- MS);
- Aplicar os óleos em iogurtes e estudar a estabilidade destas quanto a: acidez, composição fenólica, capacidade antioxidante e avaliação microbiológica;
- Avaliar a aceitação sensorial dos iogurtes adicionados de óleo do café verde e torrado.

1.2 Organização da Tese de doutorado

A Tese de Doutorado está organizada da seguinte maneira. Na primeira seção tem-se uma introdução geral do assunto abordado e os objetivos do estudo. A seguir tem-se uma divisão em cinco capítulos que seguem:

- Capítulo I- apresenta-se uma Revisão Bibliográfica, na qual é introduzida a relevância do problema a ser estudado e as ferramentas que serão utilizadas ao longo do trabalho.
- Capítulo II- Artigo I- Evaluation of physical parameters of green and roasted arabica coffee using the Scilab ® free software.
- Capítulo III- Artigo II- Influence of beverage quality and roasting process on the fatty acid profile and aromatic composition of Arabica coffee oils obtained by mechanical cold pressing.
- Capítulo IV- Artigo III- Evaluation of antioxidant capacity and quantification of bioactive compounds in green and roasted coffee oils obtained from beans of different beverage classifications.
- Capítulo V- Artigo IV- Use of coffee oil in yogurts and determination of phenols and antioxidant capacity.

Os artigos apresentados tem uma seção de introdução específica que segue para os materiais e a metodologia utilizados para o desenvolvimento do mesmo. Assim, tem-se a apresentação dos resultados e discussão. E, por fim, as conclusões obtidas com base na proposta de trabalho e previsão de possíveis trabalhos futuros. Os artigos possuem a formatação requerida das revistas que foram e serão submetidos.

2. Referências Bibliográficas

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; DUARTE, S. M. S.; LIMA, A. R.; ALVARENGA, D. J.; FERREIRA, E. B. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 414– 420, 2010.

BECKER, L. V. **Iogurte probiótico com teor reduzido de lactose adicionado de óleo de linhaça**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria -RS, 2009.

BRASIL, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº8, de junho de 2003**. Aprova o regulamento técnico da identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru. Brasília, 2003. Disponível em : <<http://www.ministerio.gov.br>>. Acesso em :29 ago. 2019.

BUDRYN, G.; NEBESNY, E.; ZYZELEWICZ, D.; ORACZ, J.; MISKIEWICZ, K.; KACZMAREK- ROSICKA, J. Influence of roasting conditions on fatty acids and oxidative changes of Robusta coffee oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 114, p. 1052- 1061, 2012.

CARMO, L.B. **Extrato de café verde microencapsulado com diferentes agentes e métodos de secagem e sua aplicação em bebida láctea: efeitos sobre características físico-químicas, estabilidade e aspectos sensoriais**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES, 2019.

DÖNMEZ, O.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. **Journal of Dairy Science**, v.100, n. 2, p. 901- 907, 2017.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488– 495, 2012.

JAKOBEK, L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. **Food Chemistry**, v.175, p. 556- 567, 2015.

LIMA, A. R. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; ABRAHÃO, S. A.; DUARTE, S. M. S.; PAULA, F. B. A. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 20-24, 2010.

LOVEDAY, S. M.; SARKAR, A.; SINGH, H. Innovative yoghurts: Novel processing technologies for improving acid milk gel texture. **Trends in Food Science & Technology**, v. 33, n. 1, p. 5-20, 2013.

RABA, D. N.; POIANA, M. A.; BOROZAN, A. B.; STEF, M. ; RADU, F.; POPA, M. V. Investigation on crude and high- temperature heated coffee oil by ATRFTIR Spectroscopy along with antioxidant and antimicrobial properties. **PLoS ONE**. v.10, n.9, 2018.

RICHARD, T.; LEFEUVRE, D.; DESCENDIT, A.; QUIDEAU, S.MONTI, J. P. Recognition characters in peptide–polyphenol complex formation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1760, n. 6, p. 951- 958, 2006.

ŚWIECA, M.; GAWLIK-DZIKI, U.; DZIKI, D.; BARANIAK, B. Wheat bread enriched with green coffee – in vitro bioaccessibility and bioavailability of phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1451–1457, 2017.

VOYTENA, A. P L. et al. Phytochemical Profile and in vitro Assessment of the Cytotoxicity of Green and Roasted Coffee Oils (*Coffea arabica* L.) and their Polar Fractions. **Records of natural products**, v.12, n. 2, p. 169- 174, 2018.

ZAIN, M. Z. M.; BABA, A. S.; SHORI, A. B. Effect of polyphenols enriched from green coffee bean on antioxidant activity and sensory evaluation of bread. **Journal of King Saud University - Science**, v. 30, n. 2, p. 278–282, 2018.

Capítulo I. Revisão Bibliográfica

1. Aspectos econômicos do café no Brasil

O café é um produto que possui alta participação no agronegócio brasileiro, constitui o segundo produto de maior exportação agrícola. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2021) a temporada indica uma produção de 46,88 milhões de sacas beneficiadas representando uma redução de 25,7% em relação ao volume colhido na safra anterior. Tal redução ocorreu em virtude da bienalidade negativa, além disso as condições climáticas no início do ciclo foram desfavoráveis, principalmente com relação às chuvas, ficando abaixo do esperado em várias regiões produtoras. O ciclo de bienalidade é uma característica do cafeeiro, e consiste na alternância de um ano com grande florada seguido por outro com florada menos intensa, isso permite que a planta se recupere para produzir melhor na safra posterior (CONAB, 2021).

O café arábica representa mais de 81,4% da estimativa de produção total (arábica e conilon) de café do país. Considerando que a safra atual apresenta um ciclo de bienalidade negativa, o resultado estimado chega a 30,73 milhões de sacas colhidas, representando uma diminuição de 36,9% em relação ao ano anterior (CONAB, 2021).

Minas Gerais constitui um dos estados com as condições climáticas mais favoráveis para esta cultura, além dos efeitos fisiológicos relacionados a bienalidade (ALVES et al., 2011). Porém, devido a condições climáticas irregulares durante o ciclo houve uma mudança no cronograma geral da safra. O clima mais seco e de temperaturas mais altas fez com que houvesse aceleração de algumas etapas fenológicas da cultura e, conseqüentemente, dos manejos atrelados a elas. Assim, operações de colheita, por exemplo, foram antecipadas, e se concentraram em uma janela menor que o usual. Por isso estima-se que o estado produza aproximadamente 21,44 milhões de sacas de café beneficiado o que representa 38,1% menor que o volume obtido em 2020 (CONAB, 2021).

2. Classificação do café no Brasil

Após colheita, processamento e secagem, o café passa pela etapa de beneficiamento para retirada das cascas. Depois do beneficiamento, o café é caracterizado, em função de sua

qualidade, esta caracterização é conhecida como classificação física (FIGUEIREDO et.al., 2009). No Brasil as principais normas responsáveis pela classificação física do café são descritas pela COB (Classificação Oficial Brasileira), que se baseia na Instrução Normativa nº 8. A instituição da IN nº 8 foi para cumprir o disposto no Artº 1º da Lei 9.972, de 25.05.00, servindo exclusivamente para normalizar a compra e a venda de café pelo governo (BRASIL, 2003).

A Instrução Normativa nº 8 foi criada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em 11 de junho de 2003, tendo como objetivo a definição das características de identidade e de qualidade para classificação do café beneficiado grão cru. Na Normativa estão descritos os critérios para classificação dos cafés em categoria, subcategoria, grupo, subgrupo, classe e tipo, segundo a espécie, formato do grão e a granulometria, aroma e sabor, bebida, cor e a qualidade (BRASIL, 2003).

A classificação quanto ao formato e tamanho visa garantir uma torra uniforme e deve ser realizada antes do processo de torração. Essa classificação é feita por um jogo de peneiras, que separa os grãos pela forma e tamanho (SOARES et al., 2019). De acordo com IN nº 8 o grão pode ser classificado pelo formato como chato ou moca.

As peneiras têm crivos com diversas medidas e dois formatos diferentes, oblongos para separar os cafés mocas e circulares para separar os cafés chatos. As peneiras para separar os mocas geralmente são intercaladas entre as demais, de forma a proceder a separação, concomitantemente, por tamanho e forma. Os grãos chatos têm superfície dorsal convexa e a ventral plana ou ligeiramente côncava, com ranhura central no sentido longitudinal. Os grãos moca são de formato ovoide, também com ranhura central no sentido longitudinal. De acordo com o tamanho dos grãos e a dimensão dos crivos circulares das peneiras, os grãos serão classificados em graúdo, médio e miúdo (BRASIL, 2003).

A classificação por tipo é feita com base na contagem dos grãos defeituosos ou das impurezas contidos numa amostra de 300 g de café beneficiado. Esta classificação obedece a Tabela Oficial para Classificação, de acordo com a qual cada tipo de café corresponde a um número maior ou menor de defeitos encontrados na amostra. São considerados defeitos, os grãos imperfeitos chamados de defeitos intrínsecos, como por exemplo os grãos pretos, ardidos, verdes, chochos, mal granados, quebrados e brocados, e as impurezas (defeitos extrínsecos), tais como cascas, paus, pedras, cafés em coco e marinheiros encontrados na amostra. A cada um desses grãos imperfeitos ou impurezas corresponde uma medida de equivalência de defeitos, que reage a classificação por tipo (BRASIL, 2003; PIMENTA et al., 2018).

Para proceder a classificação, amostras de 300 g de café são recolhidas e acondicionadas em latas apropriadas. A seguir, em uma mesa provida de boa iluminação, a amostra é espalhada sobre uma folha de cartolina preta. Os defeitos são separados e contados, em seguida faz-se a equivalência e determina-se o tipo do café (ALCANTARA, 2017).

Com base no aroma e sabor, os grãos de café crus são classificados em dois grupos, determinados por meio de prova de xícara: Grupo I (Arábica) e Grupo II (Robusta). A partir dos grupos pode-se classificar os cafés em diferentes subgrupos (BRASIL, 2003). Os subgrupos do Arábica são:

- Estritamente mole: café que, no geral, apresenta todas as exigências de aroma e sabor “mole”, mas é mais acentuado;
- Mole: café com aroma e sabor agradável e doce;
- Apenas mole: café que apresenta sabor brandamente doce e suave, mas sem a presença adstringência ou aspereza ao paladar;
- Duro: café que possui sabor acre, adstringente e áspero, porém ausente de paladares estranhos;
- Riado: café que exibe leve sabor iodofórmio;
- Rio: sabor iodofórmio acentuado;
- Rio Zona: sabor iodofórmio muito acentuado, ou assemelhado a ácido fênico, sendo repugnante ao paladar.

Os subgrupos do Robusta são:

- Excelente: café que tem sabor neutro e acidez média;
- Boa: café de sabor neutro e baixa acidez;
- Regular: café de sabor típico e sem exibir acidez;
- Anormal: café que apresenta sabor não característico ao produto.

A Instrução Normativa (INº 8) também classifica o café quanto a cor, para isso ela apresenta oito classes de cores (verde azulado, verde cana, verde, amarelado, amarelo, marrom, chumbado, esbranquiçado e discrepante). Para determinação da coloração geralmente um avaliador treinado identifica qual a cor presente no grão cru, porém atualmente existem métodos objetivos capazes de captar pequenas variações de cor como colorímetros e sistemas de visão

computacional (LÉON et al. 2006; OLIVEIRA et al., 2016). Os colorímetros são equipamentos capazes de determinar pontualmente a cor de um alimento utilizando parâmetros de cor: L* (luminosidade), componentes cromáticos (a* e b*), C* (saturação) e H° (tom ou matiz) (BICHO et al, 2012).

De acordo com Borém et al. (2013) a cor do grão de café está relacionada com a qualidade da bebida e é um fator importante para a comercialização do produto. Segundo Monteiro (2002) a cor é uma das características que mais chama a atenção durante o processo de comercialização, pois dela dependerá a aceitação e rejeição pelo comprador. Ribeiro et al. (2011) alertam que grãos de cafés crus descoloridos recebem menor preço no mercado.

3. *Coffea arabica*

As espécies de café mais cultivadas no Brasil são o café arábica (*Coffea arabica*) e robusta (*Coffea canephora*). O café arábica é um café mais fino, que apresenta uma bebida de qualidade superior em termos de aroma e sabor (MALTA et al., 2010). O café robusta é frequentemente utilizado nos blends, com o arábica, com a finalidade de conferir mais corpo a bebida e diminuir a acidez (BERTRAND et al., 2003; MARCUCCI et al., 2013).

Em relação ao teor lipídico das espécies a arábica contém de 12 a 18% e a robusta 9 a 14%. A maior parte desses óleos é constituída por ácido palmítico (34,5%) e linoleico (40,3%) (VIDAL, 2001). Por apresentar conteúdo graxo maior que a espécie robusta, a arábica é a mais utilizada para extração de óleos (QUAST e AQUINO, 2004).

3.1 Composição química dos grãos

O termo "café verde", derivado do inglês green coffee, refere-se aos grãos crus ou não torrados advindos dos grãos beneficiados de café (SEMEN et al., 2017).

O café verde apresenta uma ampla e complexa variedade de compostos (Tabela 1) (WANG e LIM, 2015). Além disso, é uma rica fonte de compostos que possuem capacidade antioxidante, como ácidos clorogênicos, ácidos hidroxicinâmicos, cafeína e ácido caféico (SATO et al., 2011; SEMEN et al., 2017).

É importante destacar que a composição química dos grãos de café arábica é variável em consequência das condições de produção e processamento. Essa composição depende de

fatores genéticos, ambientais, condições de manejo pré e pós-colheita (ABRAHÃO et al., 2008).

Tabela 1 - Teores (g/100g) de alguns compostos químicos de grãos crus e torrados da espécie *Coffea arabica* L.

Compostos químicos	Grãos Crus Arábica	Grãos Torrados Arábica
Água	8,0- 12,0	0,0- 5,0
Proteínas	8,5- 13,0	7,5
Lipídios	15,0- 18,0	17,0
Minerais (principalmente potássio)	3,0- 5,4 43,0- 45,0	4,5 38,0
Polissacarídeos	0,9- 1,2	1,0- 1,3
Cafeína	0,8- 1,4	1,3
Trigonelina	0,6- 1,2	1,0
Ácidos Clorogênicos	6,7- 9,2	2,5
Melanoidinas	0,0	23,0

Fonte: adaptada de Wang e Lim (2015).

A umidade do café após processo de secagem, para o armazenamento seguro, deve estar entre 11 e 12% base úmida (bu) para que não ocorra o desenvolvimento de microrganismos, fermentações e descoloração dos grãos durante o processo de armazenamento (MALTA, 2011).

Segundo Morgano et al. (2008) o teor de umidade em cafés constitui um importante índice de qualidade, pois este pode afetar as características da amostra, a preservação do produto e principalmente o aroma. Um alto teor de umidade pode permitir a atividade de microrganismos, enzimas e alterar as características sensoriais do produto.

Em locais onde são produzidos cafés de bebidas ruins, condições climáticas adversas propiciam o maior desenvolvimento de microrganismos, como alta umidade relativa (UR) no período de amadurecimento, colheita e processamento do café e temperaturas elevadas (CARVALHO et al.,1997).

Nos grãos de café as proteínas podem estar livres no citoplasma ou ligadas a polissacarídeos de parede celular, sendo a principal fração correspondida pela albumina, além disso outras apresentam atividade enzimática.

Durante o processo de torração as proteínas são desnaturadas e degradadas em moléculas menores. Algumas proteínas também reagem com carboidratos (reação de Maillard) ou com compostos fenólicos (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006). Para Clarke (2003) o processamento térmico dos cafés reduz o teor de proteínas em torno de 10% em torras moderadamente claras e cerca de 20% em torras médias.

Segundo Clifford e Wilson (1985) existem lipídios livres e associados a proteínas. Para Toci, Farah e Trugo (2006) ocorre um aumento no teor de lipídios com o processamento térmico, isto se deve a perda de massa ocasionada pela decomposição, lixiviação e volatilização de outras substâncias, e a estabilidade térmica desses lipídios no café, ou seja, a composição relativa de lipídios (massa seca) acaba aumentando.

No café o teor de minerais depende diretamente do tipo de cultivar, processamento, condições pré e pós manejo como o solo, fertilizantes (CLARKE, 1985).

A cafeína é o alcaloide mais importante do grão de café, encontra-se no grupo das bases de purina, sendo derivada de metilados de 2,6- dioxi-purina (xantina) (ABRAHÃO et al., 2019). Diversos autores descrevem a cafeína como a substância psicoativa mais consumida no mundo, interferindo nas funções fisiológicas do organismo humano, sendo estimulante do sistema nervoso central, cardiovascular, além de ter ação ergogênica e apresentar elevado potencial antioxidante e atividade genoprotetora (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

A trigonelina é uma N-metil betaína que em altas temperaturas sofre uma degradação térmica, e há formação de pirróis e piridinas, que são de relevante importância para o aroma do café, além disso, em temperaturas elevadas assim como durante o processo torração, se converte em vitamina do complexo B (niacina), o que gera um aumento de valor nutricional após o processamento térmico (DE MARIA et al., 1999; CASAL et al., 2000).

Entre os principais componentes da fração fenólica figuram os ácidos clorogênicos formados pela esterificação de ácidos transcinâmicos com ácido quínico, que apresentam diferentes formas isoméricas, variando a posição da ligação éster: o ácido cafeico, ferúlico, ou p-cumárico. Estes compostos têm como característica uma elevada capacidade antioxidante que deve-se principalmente as suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição (DAGLIA et al., 2000; FARAH e DONANGELO, 2006).

Os ácidos clorogênicos apresentam-se em maior quantidade nos grãos de café verde, mas também são conhecidos por contribuir com o sabor e aroma característico das bebidas de café (TOCI; FARAH; TRUGO, 2006).

Rodarte et al. (2009) estudaram o comportamento dos compostos bioativos provenientes de cafés da região do Sul de Minas Gerais submetidos a diferentes pontos de torração e observaram que as torrações mais acentuadas promoveram maior degradação de trigonelina e ácido 5- cafeoilquímico, enquanto a torração clara promoveu degradação apenas para o ácido clorogênico, não interferindo nas concentrações de trigonelina. Não foi observado a degradação da cafeína em nenhum ponto de torração.

Outros compostos químicos importantes de serem avaliados e que tem interferência direta na qualidade da bebida são o teor de sólidos solúveis e acidez total titulável. O teor de sólidos solúveis está diretamente relacionado a quantidade de sólidos dissolvidos em uma pequena quantidade de amostra apresentados em escala Brix (ZEFERINO et al., 2010).

Segundo Borém et al.(2008) cultivares que apresentam maiores teores apresentam bebidas mais encorpadas e de alta qualidade, isso demonstra que o café apresenta frações maiores de açúcares, ácidos, vitamina C e algumas pectinas, salientando que este teor varia de acordo com a cultivar, tipo de processamento e estágio de maturação do fruto no ponto de colheita.

A acidez presente em um café constitui um atributo importante na avaliação da qualidade de bebida, ela pode sofrer influência de diversos fatores como condições climáticas durante a colheita e secagem, local de origem, tipo de processamento e ponto de maturação (SIQUEIRA, ABREU, 2006; SCHOLZ et al., 2013; KOSKEI, PATRICK, SIMON, 2015). A acidez de um café apresenta um ponto desejável até determinada concentração, já em níveis muito elevados pode ser considerado um defeito (VIGNOLI, BASSOLI, 2007).

3.2 Processo de torração do café

Durante o processo de torração do café ocorrem alterações na composição química e na atividade biológica deste. Alguns compostos são destruídos, enquanto outros são formados, incluindo compostos bioativos e substâncias relacionadas ao aroma e sabor da bebida (FARAH, 2012). Compostos como os ácidos clorogênicos podem ser quase completamente degradados em derivados de fenol durante a torrefação, essencialmente porque são isomerizados, transformados em quinolactonas, alguns hidrolisados e degradados em compostos de baixo

peso molecular (TRUGO; MACRAE, 1984; FARAH et al., 2005; FARAH; DONANGELO, 2006).

O processo de torração consiste na aplicação de altas temperaturas no café em tempo controlado. Durante a torrefação uma série de reações são desencadeadas, e esta pode ser dividida em três etapas: secagem, pirólise e resfriamento (SILVA, 2008).

A etapa de secagem é caracterizada pela perda de água e formação de compostos voláteis, um processo que atinge temperaturas internas nos grãos de 160°C (HERNANDEZ et al., 2007). Uma mudança de coloração é observada, passando de verde para amarelo (RODRIGUES et al., 2003).

A segunda etapa tem como característica principal a pirólise, ocorrem numerosas reações (reações de Maillard, degradação de Strecker, caramelização de açúcares, degradação de ácidos clorogênicos, proteínas e polissacarídeo) que resultam em modificações da composição química e física dos grãos, com liberação dos compostos voláteis, responsáveis pelo flavor característico do grão torrado (ILLY; VIANI, 1995; BORGES et al., 2004; HERNANDEZ et al., 2007).

A reação de Maillard corresponde a uma reação química entre um açúcar redutor, D-glicose, e um grupamento amina a qual provoca a formação de compostos de cor, melanoidinas (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Segundo Oetterer, Regitano- D' arce, Spoto (2006) essa reação ocorre preferencialmente em meio alcalino através de três fases.

- Primeira fase - o açúcar redutor (glicose) condensa-se com o aminoácido formando um carbono reativo, que em presença de calor e água sofre aceleração. O composto formado perde água levando a formação de um composto instável (base de Schiff). Assim ocorre imediato rearranjo para a formação cíclica mais estável, em que a N-glicosilamina substituída está em equilíbrio com a solução aquosa encerrando então a primeira fase.
- Segunda fase - é o rearranjo de Amadori, importante no escurecimento, nela ocorre a entrada e saída de um H^+ , inicialmente formado da base de Schiff. É a forma cetoseamina mais estável, que encerra a segunda fase.
- Terceira fase - há a formação de grupamentos de alto poder redutor conhecido como redutonas, estes são fonte de escurecimento na forma de deidrorredutona, sendo esse o escurecimento oxidativo. Nesta também se obtém o hidroximetilfurfural, que reage com outros compostos formando as melanoidinas. É importante destacar que nesta fase

ocorre a liberação de CO_2 que se forma devido à degradação dos aminoácidos e aldeídos, esta reação é denominada de degradação de Strecker.

Outra reação importante que ocorre durante segunda etapa do processo de torração é a caramelização, que se dá pelo aquecimento de carboidratos, principalmente a sacarose e açúcares redutores, em ausência de compostos nitrogenados, originando o caramelo e compostos de aroma e sabor (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Assim o processo de torração segue até que seja atingida a coloração desejada da torra, o que constitui a última etapa, o resfriamento, o qual paralisa as reações e evita a carbonização dos grãos (SIVETZ; DESROSIER, 1979).

Dentre as alterações durante o processo de torração a coloração é a mais evidente. O ponto de torração define a cor da torra desejada, além de afetar diretamente a formação do sabor e aroma. As torras são classificadas em clara, média e escura. Muitas vezes o ponto de torra é determinado visualmente, porém como a torração está relacionada com a qualidade, é necessário realizar o acompanhamento da mesma. A torrefação pode ser acompanhada por meio de discos com padrões de torração sendo mais conhecidos os discos Agtron, ou por meio de colorímetros utilizando o sistema CIEL* a*b* (UEJO NETO, 2008, RODARTE et al., 2009; LEME et al., 2019).

Discos Agtron (Figura 1) correspondem a um conjunto de discos de cores, criados pela SCA (Specialty Coffee Association) e a empresa Agtron, de altíssima resolução baseados nos resultados obtidos em um equipamento de avaliação da torração que funciona com base no princípio de reflexão de feixes de luz incidentes no café. O ponto de torração é verificado por uma escala de coloração que vai de zero para as mais escuras e cem para as mais claras (RODARTE, 2009; LEME et al., 2019).

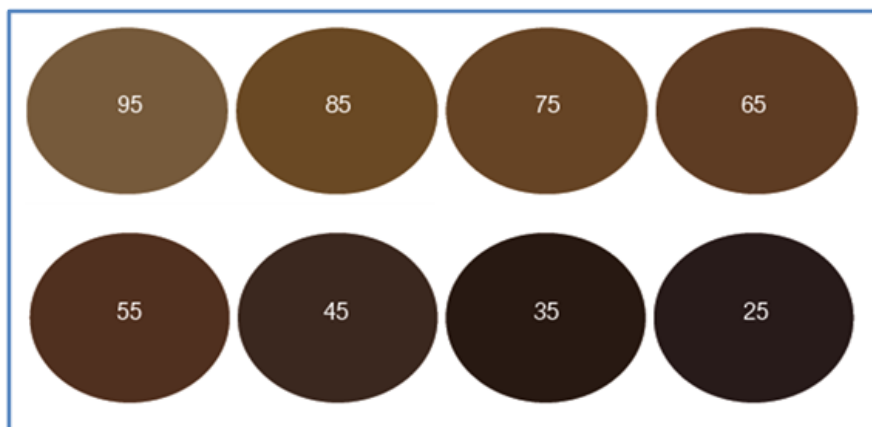


Figura 1. Classificação das torra segundo Sistema Agtron.

Fonte: (PROBAT, 2008).

Na torração inicialmente os grãos apresentam coloração esverdeada. Ao atingirem temperatura de 90°C - 130°C, ocorre a expansão dos grãos, os quais adquirem coloração marrom- clara (disco Agtron 80-75). Neste ponto, ocorre formação de um aroma mínimo, possuindo um sabor parecido com chá. É importante destacar que neste ponto o óleo é mantido no interior do grão. Em temperaturas de 170°- 190°C, chega-se ao estágio do primeiro *crack*, no qual os grãos apresentam coloração marrom- escura (disco Agtron 74- 85) e bebida com acidez mais acentuada. A 210° - 220°C, encerra-se o estágio do primeiro *crack* (disco Agtron 64-60). Na temperatura de 224°- 230°C, o óleo está levemente visível e então inicia-se o estágio do segundo *crack* (disco Agtron 60-50) neste ponto a bebida apresenta-se com acidez balanceada e corpo completo. Na temperatura 230°- 235°C, os grãos assumem coloração marrom- escura (disco Agtron 49- 45), e já apresentam óleo na superfície. A bebida apresenta baixa acidez e corpo pesado, emergindo um amargor adocicado. A 235° - 240°C, os grãos estão pretos (Agtron 44- 35) e a bebida tem como característica o amargor, neste ponto a acidez e o aroma decrescem. Na temperatura 240°- 246°C , os grãos estão pretos escuros (Agtron 34-25), cobertos com óleo e o sabor de queimado se sobressai. Na temperatura 246°- 265°C, os grãos perdem o sabor característico do café (Agtron 24-15) (MELO, 2006; RODARTE et al., 2009).

A recomendação de cafés comerciais para bebida descrita segundo ABIC (2018) para cafés torrados em grão ou torrados e moídos é de ponto de torra variando entre 45 e 75 pontos no Disco Agtron, ou equivalente, e isso corresponde exatamente a classificação denominada Moderadamente Escura a Moderadamente Clara.

Segundo Cid e Peña (2016) o nível de torra pode ser determinado também pelo sistema tridimensional de cores da Commission Internationale de l'Eclairage- CIE (1986) denominado de CIE $L^*a^*b^*$, pelos parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , C^* e H° já citado no item anterior (2.) e pelo cálculo da perda de massa, uma vez que a torra escura ocasiona maior percentual de perda quando comparada a torra clara (SCHENKER; ROTHGEB, 2017).

O parâmetro L^* representa a luminosidade da amostra, variando de zero a 100, em que as amostras com valores próximos a 0 são mais escuras enquanto que com valores próximos a 100 são mais claras. Os componentes cromáticos a^* e b^* variam entre +120 e -120, onde: $+a^*$ indica vermelho, $-a^*$ verde, $+b^*$ amarelo e $-b^*$ azul (HUNT, 1991). A tonalidade da cor ou matiz (H°) é uma comparação entre a cor em observação e exemplos previamente conhecidos. De modo geral, trata-se da identificação da cor (ou comprimento de onda) dominante, isto é, a determinação de uma luz monocromática que corresponda, aproximadamente, à cor observada. Já a saturação (C^*) refere-se ao grau de pureza de uma cor, ou seja, alguma graduação que represente uma cor qualquer como uma grandeza entre uma onda monocromática (espectro de frequência com um único fator na frequência da onda) e a luz branca (que contém todas as cores). Assim, as cores monocromáticas têm saturação máxima e a luz branca, mínima (SIMÕES, 2000).

Rabello (2016) em seu trabalho definiu os pontos de torra de cafés com base em padrões de cor utilizando o sistema Agtron e o CIEL $^*C^*H^\circ$. Para torras mais clara esta trabalhou com Agtron de valor 61,0 e parâmetros de cor correspondentes a $L^*= 23,9$, $C^*= 18,6$, $H^\circ= 61,2$, torras médias tiveram Agtron de 82,0 e $L^*= 28,1$, $C^*= 22,2$ e $H^\circ= 61,6$ e em torras escuras Agtron de 95,0 o que equivalem a $L^*= 29,15$, $C^*= 26,36$ e $H^\circ= 63,83$.

Outro parâmetro físico importante de ser analisado durante o processo de torração é a perda de massa que corresponde a diferença de massa entre o café quando grão cru (verde) e o torrado. A perda de massa pode variar de acordo com fatores genéticos, umidade inicial do grão cru, condições de armazenamento, processo e o nível de torra utilizados, em geral essa perda pode variar entre 12 e 20% e surge como resultado da liberação de água que é vaporizada durante a torração, além de transformações da matéria orgânica em substâncias voláteis e do desprendimento da película prateada. Nos estágios iniciais do processo de torra a taxa de perda de massa do café torrado normalmente é maior devido a desidratação dos grãos quando verdes e consequentemente a evaporação da água, enquanto a perda de matéria orgânica se dá nos estágios mais avançados do processo (BICHO et al., 2012; SCHENKER; ROTHGEB, 2017).

Uma das maneiras de determinar o nível de torra é pelo cálculo da perda de massa (Equação 1), de acordo com Schenker e Rothgeb (2017). Segundo Sivetz (1963) as taxas de perda de massa variam entre 13% para torra clara, 15% para torra média e 17% para torra escura.

$$\Delta m = \frac{m_{\text{verde}} - m_{\text{torrado}}}{m_{\text{verde}}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde, Δm é o percentual de perda de massa do café torrado; m_{verde} é a massa dos grãos de café verde (kg) e m_{torrado} é a massa dos grãos de café torrados (kg).

4. Óleo de café

O óleo vegetal extraído a partir do café tem como composto principal os triacilgliceróis com ácidos graxos e possui composição semelhante ao encontrado em óleos vegetais comestíveis comuns (SPEER; KOLLING- SPEER, 2006).

O óleo de café pode ser extraído utilizando-se métodos químicos e físicos. Dentre os métodos químicos têm-se aqueles que utilizam solventes orgânicos, mas para o uso em alimentos é necessário a realização de uma etapa de purificação ou refino, o que torna o processo economicamente inviável (OLIVEIRA, et al., 2001; OLIVEIRA, 2013). Nos últimos anos novas técnicas de extração de óleo têm sido desenvolvidas, como por exemplo o processo de extração com fluido supercrítico (FREITAS; LAGO, 2007; HURTADO- BENAVIDES et. al, 2016). Esse processo tem como vantagem o aumento dos compostos de interesse e o rendimento do processo, porém é caro devido ao custo dos equipamentos, assim produtos de baixo valor agregado e baixo rendimento, não podem ser economicamente extraídos por esse processo (MAUL et al., 1996).

Dentre os métodos físicos o mais utilizado para alimentos é o processo de prensagem mecânica a frio ou expeller pressing é um método que trabalha com extração de óleos a alta pressão. O método de prensagem em temperaturas mais altas pode aumentar a eficiência de extração, porém os óleos prensados a frio possuem menor teor de acidez e iodo, e em geral são mais claros que os óleos extraídos por solventes conforme reportado por Patel et al. (2016). Krumreich et al. (2018) estudando óleos obtidos por prensagem mecânica verificaram que este era o melhor método de extração, já que resulta em óleo de melhor qualidade.

Atualmente algumas indústrias do ramo cafeeiro vem diversificando seu portfólio de produtos oferecidos e tem trabalhado com extração de óleo de café verde e torrado (torra média). A Figura 2 (a,b) ilustra os modelos de extração mais utilizados pelas indústrias.

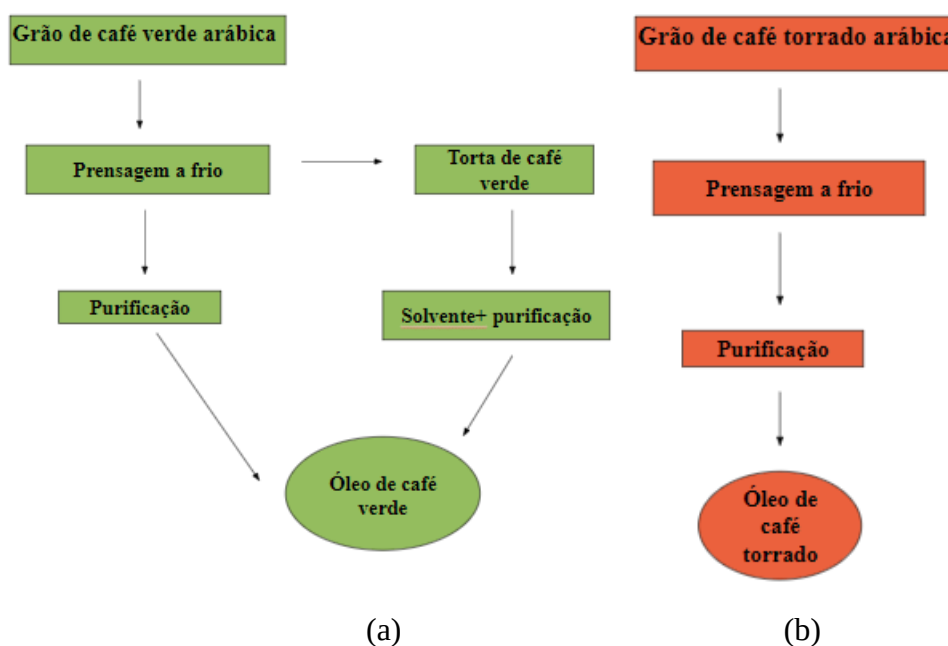


Figura 2. Métodos de extração do óleo do café: verde (a) e torrado (b).

Fonte: Adaptado Cooxupé (2021).

Para a produção do óleo de café verde os grãos entram no equipamento de prensagem mecânica crus e beneficiados, normalmente trabalha-se com grãos de peneira baixa e formato moca. Em geral, a torta é recirculada sobre os rolos compressores até oito vezes para que se obtenha alta eficiência e rendimento de extração. A seguir, o óleo se direciona para a etapa de purificação que consiste em procedimentos de filtração que podem variar de acordo com a finalidade requerida para o óleo. A torta obtida da prensagem mecânica segue para novo processo de extração com auxílio de organossolventes seguidos para purificação (COOXUPÉ, 2021).

No processo de extração do óleo de café torrado obtido através de prensagem mecânica a frio, geralmente trabalha-se com cafés de pior qualidade ou até com defeitos sendo estes torrados em torra média. O ideal é promover a extração do óleo logo após o descanso do processo de torração, pois assim o óleo presente nos grãos torrados não sofre processo de oxidação. Frequentemente são inseridos grãos de café torrados na prensa mecânica a frio e o

processo de recirculação da torta depende do nível de torra presente nestes cafés, trabalha-se com café torrado em grãos para que não ocorra entupimento no processo de prensagem. Após prensagem o óleo obtido é também purificado (SANCHES, 2016; COOXUPÉ, 2021). O café torrado moído pode ser usado para extração do óleo de café torrado, mas este é extraído comumente pelo processo de extração com solventes, já que a etapa de moagem aumenta a superfície de contato com o solvente.

4.1 Composição química do óleo

Os principais componentes da fração lipídica presente nos grãos de café são os triacilgliceróis (Tabela 2), sendo que a fração lipídica é pouco alterada durante o processo de torrefação e protege os compostos aromáticos da degradação no decorrer do processo (FOLSTAR, 1985).

Tabela 2. Principais classes de lipídios presentes nos grãos de café.

Compostos lipídicos	(% p/p)
Ésteres Esteróis	$1,2 \pm 0,1$
Triglicerídeos	$75,5 \pm 1,7$
Ésteres Terpenos	$15,1 \pm 1,2$
Esteróis Livres	$1,5 \pm 0,2$
Ácidos Graxos Livres	$1,2 \pm 0,2$
Acilgliceróis parciais	$5,5 \pm 0,3$
Lipídios polares	$0,6 \pm 0,2$
Não- identificados	$1,0 \pm 0,1$

Fonte: Adaptado Nikolova- Damyanova et al. (1998).

No que diz respeito aos ácidos graxos presentes nos óleos de café verde e torrado Turrati (2001), Voytena et al. (2018) e Raba et al. (2015) apresentaram a composição dos mesmos da variedade arábica (Tabela 3).

Tabela 3. Composição de ácidos graxos (% de teor total de ácidos graxos; mg.g- óleo) dos óleos de cafés verde (OCV) e torrado (OCT).

Ácidos graxos (%)	TURRATI (2001)		VOYTENA et al. (2018)		RABA et al. (2015)	
	OCV	OCT	OCV	OCT	OCV	OCT
Ácido Mirístico C14:0	-	-	0,10±0,001	0,06±0,003	-	-

Ácido Palmítico C16:0	33,7	34,5	34,78±0,24	33,81±0,27	38,3 + 1,9	37,4 + 1,3
Ácido Esteárico C18:0	9,1	8,9	7,45±0,04	7,42±0,02	7,89 + 0,34	6,70 + 0,22
Ácido Oleico C18:1 n9	10,4	10,2	7,92±0,06	8,79±0,01	9,34 + 0,50	8,91 + 0,39
Ácido Vacênico C18:1 n7	-	-	0,43±0,006	0,41±0,009	-	-
Ácido Linoleico C18:2 n6	41,0	40,3	43,28±0,07	43,59±0,13	39,9 + 4,8	43,6 + 3,7
Ácido γ-Linolênico C18: 3 n6	-	-	2,73±0,038	2,45±0,013	-	-
Ácido α-Linolênico C18: 3 n3	1,0	1,1	1,43±0,01	1,37±0,008	1,25 + 0,37	0,92 + 0,19
Ácido cis-11-Eicosanóico C20: 1 n9	-	-	0,26±0,009	0,27±0,005	-	-
Ácido Araquídico C20:0	3,9	4,0	-	-	3,24 + 0,27	2,41 + 0,17
Ácido Behênico C22:0	0,6	0,7	-	-	-	-
Outros	-	-	1,62	1,82	-	-

É possível observar que os principais ácidos graxos encontrados nos óleos de café verde e torrado são os ácidos palmítico e linoleico (MAZZAFERA et al., 2008). Além disso, o óleo de café apresenta considerável quantidade de matéria insaponificável sendo os principais constituintes desta fração dois álcoois diterpênicos, o cafestol e caveol, os quais ocorrem na forma livre ou como monoésteres de ácidos graxos (LAGO, 2001; TURRATI, 2001; VOYTENA et al., 2018). Em relação a estes compostos alguns estudos demonstram que parte desta fração especialmente o caveol pode atuar na diminuição de inflamações e como princípio ativo de muitas propriedades cosméticas desejáveis como retenção de umidade, penetração na pele e aderência (KIM et al., 2006, VOYTENA et al., 2018).

O óleo do café arábica tem sido usado como ingrediente ativo em muitos produtos alimentícios com o intuito de aumentar a estabilidade oxidativa de produtos (WAGEMAKER,

2015; ŚWIECA et al., 2017). Além disso, atualmente há vários estudos que trabalham com a incorporação de extratos de café verde microencapsulados, liofilizados, café verde moído (farinha) em produtos de panificação ou lácteos visando benefícios como aumento dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante (ZAIN et al., 2018; ŚWIECA et al., 2017; DONMEZ et al., 2017). Embora apenas o óleo do café verde seja amplamente disseminado na indústria, o óleo do café torrado também é uma fonte importante de compostos bioativos e portanto tem também um alto potencial a ser estudado (VIGNOLI et al., 2014; VOYTENA et al., 2018).

Os antioxidantes são compostos capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídios, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poli- insaturados e as bases do DNA (BIANCHI; ANTUNES, 1999; GÜLÇİN, 2012).

O café contém compostos com capacidade antioxidante que podem ser constituintes naturais e compostos formados pelo processo de torração, tais como a cafeína, ácidos clorogênicos, ácidos hidroxicinâmicos e produtos da reação de Maillard (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). Por suas propriedades redutoras e estrutura química, estes compostos desempenham um papel importante, na inativação de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto no início como no final da propagação do processo oxidativo (ABRAHÃO et al., 2010).

Vários métodos são utilizados para caracterizar a capacidade antioxidante. No entanto, não existe um método universal único para medir atividade antioxidante de maneira precisa e quantitativa (PRIOR et al., 2005). Em geral, os métodos são numerosos e baseiam-se em fundamentos diversos, o que pode acarretar interferências e limitações. Dessa forma preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas *in vitro*, já que nenhum ensaio usado, isoladamente irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma determinada amostra (ALVES et al., 2010; ABRAHÃO et al., 2019).

Os principais métodos de avaliação da capacidade antioxidante podem atuar sobre radicais livres por dois diferentes mecanismos: transferência de elétrons livres (TEL) e transferência de átomos de hidrogênio (TAH). Os métodos baseados em transferência de elétrons livres detectam a capacidade de um composto antioxidante em transferir um elétron, para reduzir qualquer substância, incluindo metais e radicais livres, alterando a coloração da solução a medida que o composto oxidante sofre redução. Já os métodos analíticos, que se baseiam na transferência de átomos de hidrogênio, avaliam a capacidade de um antioxidante

em inibir a ação de radicais livres por doação de átomos de hidrogênio (ABRAHÃO et al., 2019; GÜLÇİN, 2012; HUANG et al., 2005).

Os vários métodos usados para avaliar o potencial antioxidante do café incluem DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina)-6-sulfônico) e a determinação de compostos fenólicos totais (método de Folin-Ciocalteu) (BORRELI et al., 2002, GONZÁLEZ et al., 2005).

O método Folin- Ciocalteu é utilizado para quantificação dos compostos polifenólicos totais em alimentos. A mistura dos reagentes ácido fosfomolibdídico e fosfotungstístico, em que o molibdênio e o tungstênio apresentam estágio de oxidação avançado e na presença de substâncias redutoras como os compostos fenólicos, formam os compostos molibdênio e tungstênio azuis. Assim, com a alteração da coloração consegue-se determinar a concentração das substâncias redutoras, mesmo estas podendo não necessariamente apresentar natureza fenólica (SOUSA et al., 2007).

Os compostos fenólicos são constituintes químicos de estrutura química variada com anéis aromáticos conjugados com grupos hidroxila, esses compostos apresentam alta eficiência na estabilização de radicais livres. Os grupos carboxílicos e carbonílicos presentes em vários compostos fenólicos também proporcionam significativa inibição da rancidez oxidativa por quelação de metais (VALENZUELA; NIETO, 1996).

Vignoli et al. (2014) analisaram o teor de compostos fenólicos de cafés arábica e robusta torrados em diferentes pontos de torra e moídos. O método de Folin- Ciocalteu identificou uma diminuição de compostos fenólicos em ambas amostras dos cafés (28,2 para 18,6g de ácido gálico/ 100g aproximadamente). Provavelmente esta perda se deu durante o processo de torração (PRIOR et al., 2005).

Daglia et al. (2000) afirmaram que apesar de alguns compostos fenólicos serem destruídos com a torração, participam da reação de Maillard, originando vários produtos. Esses produtos também podem apresentar propriedades antioxidantes, com mecanismos de ação que envolvem a quelação de metais, interrupção de reações em cadeia pela doação de um átomo de hidrogênio, reduzindo hidroperóxidos a produtos não radicalares e captura do radical hidroxil (DAGLIA et al., 2000; BORRELLI et al., 2002; ADAMS et al., 2005).

Segundo Voytena et al. (2018) o teor de compostos fenólicos total do óleo do café verde varia de $0,73 \pm 0,09$ mg equivalentes de ácido gálico /g de óleo, enquanto que o óleo de café torrado apresentou quantidades significativamente maiores variando entre $2,24 \pm 0,12$ mg equivalentes de ácido gálico /g de óleo. Para Oliveira (2001) e Oliveira (2013) a baixa

concentração de compostos fenólicos encontradas nos óleos de café verde e torrado se deve ao seu caráter lipofílico e também está relacionado ao método de extração que é a prensagem a frio dos grãos. Outras técnicas foram desenvolvidas visando o aumento dos compostos de interesse e o rendimento do processo, como extração supercrítica e extração com etanol já citados anteriormente, mas apesar de garantirem uma maior recuperação de compostos fenólicos são geradores de resíduos químicos.

O método de determinação da atividade antioxidante DPPH é baseado na redução da taxa de um radical de nitrogênio orgânico e bastante estável de coloração violeta, e que durante a reação de redução do radical DPPH apresenta decréscimo de absorbância que pode ser evidenciada pela mudança de cor para o amarelo. A partir dos resultados da absorbância determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais (%ASRL) (SUCUPIRA et al., 2014; MENSOR et al., 2001, RABA et al., 2015).

Voytena et al (2018) durante ensaio com DPPH observaram que tanto o óleo de café verde como o óleo de café torrado foram capazes de sequestrar os radicais livres existentes, porém o óleo de café torrado apresentou atividade superior ao óleo de café verde em todas as concentrações que foram testadas.

Raba et al. (2015) estudaram a capacidade antioxidante por DPPH, de óleos de café verde e torrado de café arábica extraídos com éter de petróleo em duas diferentes condições: bruto e aquecido (1 hora a 200° C). A Figura 3 (a,b) ilustra os resultados obtidos pelos autores.

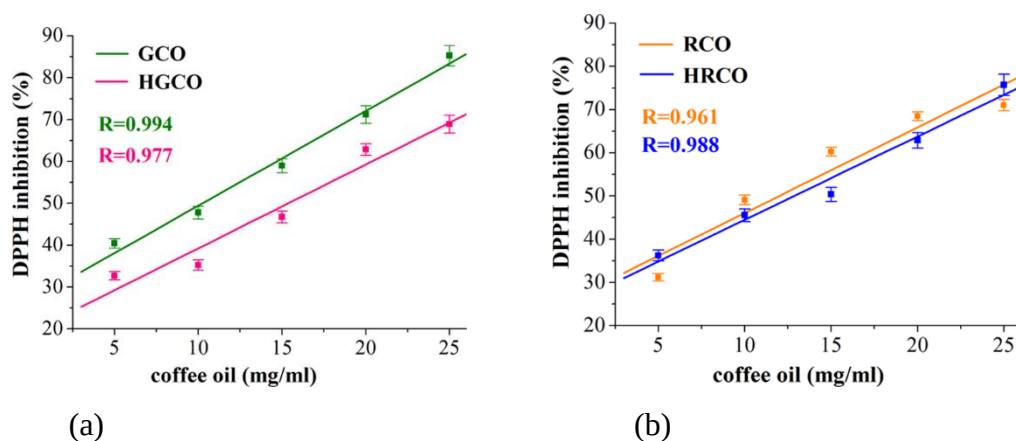


Figura 3. (a) Inibição de DPPH (%) versus concentração de GCO (óleo de café verde) e HGCO (óleo de café verde aquecido) e (b) Inibição de DPPH (%) versus concentração de RCO (óleo de café torrado) e HRCO (óleo de café torrado aquecido).

Fonte: Raba et. al (2015).

Segundo os autores o óleo de café verde aquecido apresentou uma diminuição de inibição de DPPH significativa, já para os óleos torrados não houveram mudanças importantes nos perfis de inibição de DPPH versus concentrações de RCO e HRCO isso revela que ambos óleos apresentaram comportamento diferentes frente ao aquecimento submetido, o que contribuiu para diferentes compostos antioxidantes com potencial para eliminar os radicais livres, bem como por produtos de oxidação de lipídios, como o alcóxil ($\text{RO}\cdot$), peróxil ($\text{ROO}\cdot$) e radicais alquil ($\text{R}\cdot$) gerados em resposta ao estresse térmico (RABA et al., 2015).

Para Lee et al. (2007) óleos vegetais que contém muitos compostos eliminadores de radicais livres necessitam de um tempo de oxidação maior para alterar os padrões de absorbância do DPPH.

Segundo Spper; Kolling- Speer (2006) e Ferrari et al. (2010) a atividade antioxidante do óleo de café verde e torrado está diretamente relacionada ao seu conteúdo de antioxidantes naturais como a presença de esteróis, fosfatídeos, tocoferóis e diterpenos. A presença de compostos antioxidantes em óleos de café diminui a absorbância do DPPH e aumenta o percentual de inibição proporcionalmente à concentração do óleo.

O processo de torração diminui o conteúdo de compostos antioxidantes como o α -, β - tocoferol e o conteúdo total de tocoferóis, similarmente a um tratamento térmico quando aplicado a um óleo, assim supõe-se que nos estágios iniciais da oxidação lipídica, desencadeada pelo aumento da temperatura, as mudanças na absorbância do DPPH são devido ao consumo de captadores de radicais livres, enquanto que em uma fase mais avançada de oxidação ocorrerá a formação de compostos lipídicos oxidados, os quais são capazes de reagir com os radicais DPPH, ocasionando alterações na absorbância do DPPH (SPPER; KOLLING- SPEER, 2006; YEO et al., 2010; YEO et al., 2012).

Em amostras de óleo de café que passaram por tratamento térmico, os valores de inibição do DPPH não refletem apenas o potencial antioxidante dos captadores de radicais livres restantes, mas também as propriedades pró-oxidantes dos produtos de oxidação (RABA et al, 2015). Conforme reportado por Lee et al. (2007) o método DPPH não é uma medida da quantidade de produtos de oxidação, mas está diretamente relacionado à concentração de antioxidantes doadores de hidrogênio ou radicais lipídicos gerados por processos termo-oxidativos. Para Raba et al. (2015) as alterações na porcentagem de inibição do DPPH em resposta a formação de radicais livres em óleos oxidados podem ser um indicador para prever a estabilidade de óleos submetidos a processos térmicos.

Outro método de verificação da atividade antioxidante concerne no radical ABTS que ocorre a partir de um iniciador o ácido 2,2- azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6- sulfônico este método baseia-se na inibição da absorbância do radical positivo ABTS +, que possui espectro de absorção com comprimento de onda de 734nm (GÜLÇİN, 2012).

Sacchetti et al. (2009) avaliando o efeito do grau de torrefação na atividade de eliminação de radicais ABTS da bebida do café torrado observaram aumento desta atividade em torras médias em comparação com o café verde devido a um aumento na atividade antioxidante da fração não fenólica. No entanto, as bebidas em torra escura apresentaram diminuição da atividade antioxidante devido á perda da fração fenólica, já que nesta torra não houve equilíbrio pelo aumento da atividade antioxidante da fração não fenólica (PERRONE et al., 2012; VIGNOLI et al., 2011).

Abrahão et al. (2019) encontraram valores significativos para a capacidade antioxidante a partir do método ABTS e DPPH. Os autores avaliaram extratos microencapsulados obtidos a partir da borra do café expresso e encontraram valores próximos a 140, 38 M Trolox/g base seca e o DPPH sugeria uma atividade de sequestrar o radical livre de 83,99% indicando que os compostos apresentam concentrações significativas (WOLSKA et al., 2017; ALVES et al., 2010).

Budryn et al. (2012) estudaram as alterações oxidativas a partir de óleos de café robusta torrados extraídos com auxílio de éter de petróleo. Eles verificaram que o uso de temperaturas moderadamente altas durante o processo de torração gera maiores alterações oxidativas nos óleos. No entanto, o processo de torrefação produz melanoidinas, relatadas como o composto responsável pela capacidade antioxidante nas frações de alto peso molecular isoladas do café torrado (DAGLIA et al., 2000; LIU e KITTS, 2011; PERRONE et al., 2012). Além disso, alguns compostos heterocíclicos voláteis produzidos durante a torrefação também foram descritos como potenciais antioxidantes (YANAGIMOTO et al., 2004). O hidroximetilfurfural, composto intermediário na reação de Maillard, apresentou capacidade antioxidante semelhante ao 2,6-dibutil-4-metilfenol e α - tocoferol (SHINGHARA et al., 1998).

Apesar dos muitos estudos que abordam a composição química e a capacidade antioxidante, pouco foi relatado sobre a relação entre essa atividade biológica e as variações na composição de óleos de café em relação aos compostos que são formados e /ou destruídos em diferentes fases do processo de torrefação.

4.1.1 Compostos bioativos

A síntese de compostos bioativos em plantas, ocorre via metabolismo secundário, onde a plasticidade genética somada a fatores bióticos e abióticos garantem a produção de compostos específicos para a proteção e sinalização, estes podem ser utilizados na dieta humana (REZENDE, 2016). Estas substâncias são capazes de interagir com o organismo humano, podendo atuar como antioxidante e ainda trazer benefícios (STELMACH et al., 2015).

Existem vários trabalhos na literatura que relatam o potencial antioxidante dos compostos bioativos e também a ação contra os males da hipertensão, doenças cardiovasculares, câncer entre outras (MORAIS et al. 2009; KRIS- ETHEERTON et al. 2002). O café apresenta como principais compostos bioativos a cafeína, a trigonelina e os compostos fenólicos, os quais têm como destaque os ácidos clorogênicos.

4.1.1.1 Cafeína

A cafeína é um alcaloide nitrogenado importante presente no grão de café, corresponde a um metabólito conhecido por suas propriedades fisiológicas e farmacológicas, principalmente em relação ao efeito estimulante do sistema nervoso central, além de ter ação ergogênica, apresentar elevado potencial antioxidante e atividade genoprotetora (MOREIRA et al., 2014; BRAVO et al., 2013).

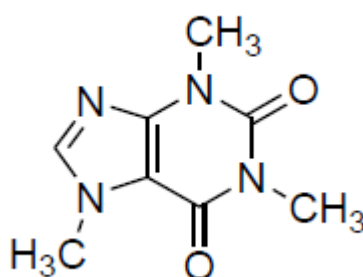


Figura 4. Estrutura química da cafeína.

Fonte: (BREZOVÁ et al., 2009).

A cafeína apresenta esta atividade antioxidante devido ao fato de conseguir inibir a lipoperoxidação induzida por radicais hidroxilas ($\text{OH}\cdot$), peróxidos ($\text{ROO}\cdot$) e o oxigênio singlete, este apresenta capacidade similar à glutathione e superior ao ácido ascórbico (CLIFFORD et al., 1991).

Além disso, a cafeína é altamente resistente ao calor, inodora e apresenta sabor amargo bastante característico, o que contribui para o sabor e aroma do café (KITZBERGE et al., 2013).

Dessalegn et al. (2008) e Kathurima et al. (2009) estudaram a qualidade de bebida e as características físicas e químicas dos grãos de diversas cultivares de café arábica e observaram não haver correlação entre as características físicas ou o teor de cafeína com a qualidade de bebida.

Rodarte et al. (2009) estudou o comportamento dos compostos bioativos dentre eles a cafeína, em cafés provenientes da região do Sul de Minas Gerais submetidos a diferentes pontos de torração e observaram não haver degradação de cafeína em nenhum nível de torra. Para Farah (2012) o conteúdo de cafeína é altamente dependente das espécies de café, não sendo alterado significativamente durante a torrefação dos grãos de café.

O teor de cafeína presente nos grãos de café quando crus corresponde a aproximadamente 12g/Kg (SCREENATH, 1997). A Portaria nº 377 de 26 de abril de 1999, aprova o Regulamento Técnico para fixação de identificação e qualidade de café torrado em grão e café torrado e moído, nesta estão descritas as características mínimas de qualidade e ela se refere ao teor de cafeína máximo para cafés torrado em grão e café torrado e moído este deve apresentar teor máximo 0,7g/100g (ANVISA, 1999).

Apesar da cafeína ser considerada um alcaloide polar e hidrossolúvel conteúdos importantes foram observados tanto no óleo de café verde como no óleo de café torrado (VOYTENA et al., 2018). Oliveira et al. (2005) também identificaram teores de cafeína no óleo de café torrado obtido por prensagem, porém estes não a quantificaram. A Tabela 4 apresenta alguns estudos com óleos, extratos de cafés e a relação entre as porcentagens de cafeína encontradas.

4.1.1.2 Trigonelina

A trigonelina compreende a uma N- metil betaína, muito solúvel em água que tem importância tanto sensorial como nutricional, pois tem efeito sobre o sistema nervoso central, e sobre a secreção da bile e a motilidade intestinal (CLARKE & MACRAE, 1985).

Durante o processo de torrefação a trigonelina sofre degradação térmica e gera alguns compostos voláteis como os pirróis e piridinas, que ajudam a contribuir para o aroma do café. Também ocorre a desmetilação da trigonelina formando a niacina, uma importante vitamina para o metabolismo humano (DE MARIA et al., 1999; KITZBERGE et al., 2013). O conteúdo

de trigonelina em café corresponde entre 1 a 3% do peso seco dos grãos (FARAH, 2012). A Tabela 4 exhibe estudos que avaliaram o teor de trigonelina em óleos e extratos de café verde e torrado.

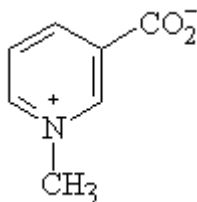


Figura 5. Estrutura química da trigonelina.

Fonte: SALDAÑA et al.(1997).

4.1.1.3 Ácidos clorogênicos

Os ácidos clorogênicos e compostos relacionados são os principais componentes da fração fenólica dos grãos de café. Os principais grupos de ácidos clorogênicos encontrados em café verde incluem os ácidos cafeoilquínicos, dicafeoilquínicos, feruloilquínicos, p-cumaroilquínicos e ésteres mistos dos ácidos caféico e ferúlico com o ácido quínico, havendo pelo menos três isômeros por grupo (FARAH; DONANGELO, 2006).

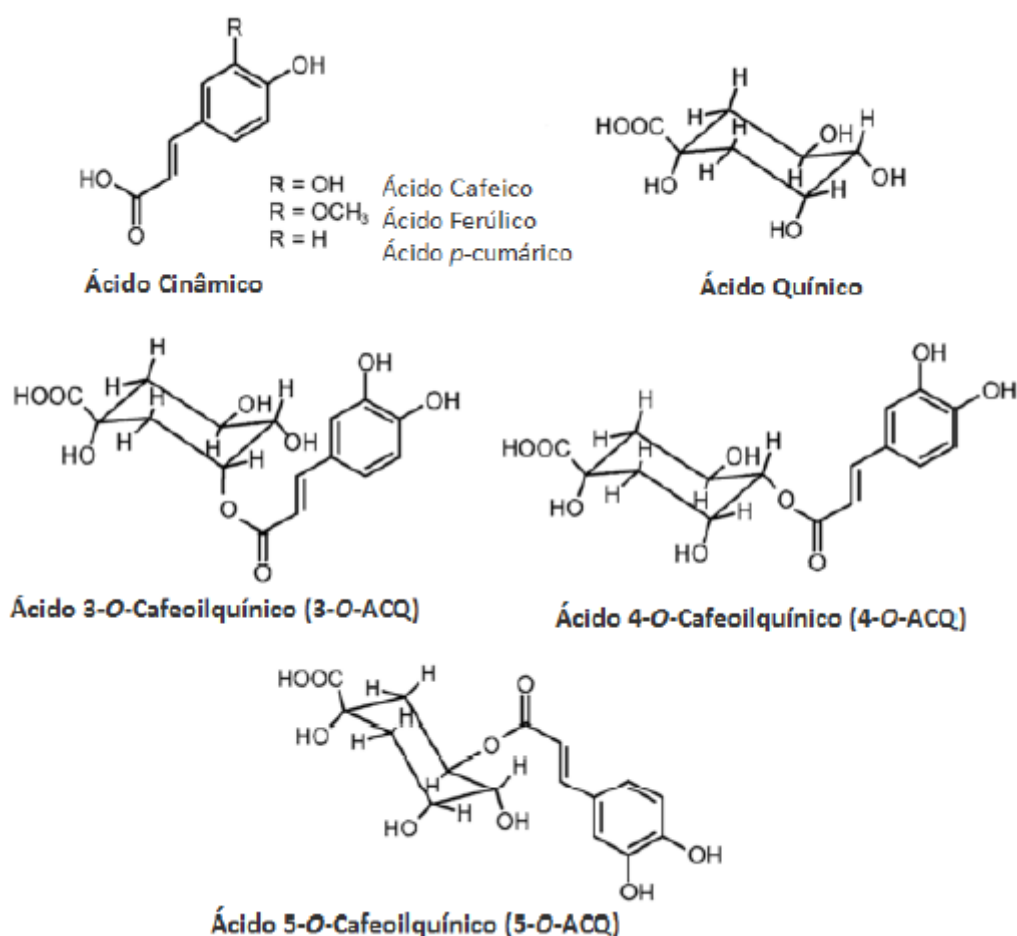


Figura 6. Ácidos clorogênicos encontrados no café.

Fonte: JESZKA-SKOWRON et al., 2016.

A atividade antioxidante dos ácidos clorogênicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Essas características desempenham um papel importante na neutralização de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, em razão da ressonância do anel aromático presente na estrutura dessas substâncias (ABRAHÃO et al., 2010).

Os grãos de café verde são conhecidos como uma das principais fontes alimentares mais ricas em ácidos clorogênicos e compreendem nove isômeros principais, sendo eles três de ácidos cafeoilquínicos (3-,4- e 5- ácidos cafeoilquínicos), três de ácidos dicafeoilquínicos (3,4; 3,5 e 4,5- di ácidos cafeoilquínicos) e três de ácidos feruloilquínicos (3-,4- e 5- ácidos feruloilquínicos). O ácido 5- cafeoilquinóico é o mais abundante nos grãos de café verde, compreendendo mais de 50% do peso seco de ácidos clorogênicos totais (NARITA; INOUE, 2015).

A literatura geralmente descreve uma diminuição na capacidade antioxidante dos grãos de café à medida que o grau de torrefação aumenta, o que está principalmente associado a degradação dos ácidos clorogênicos (SOMPORN et al., 2011). Com a torração, os ácidos clorogênicos são convertidos em compostos de aroma e podem ser incorporados a melanoidinas (BEKEDAM et al., 2008; MOREIRA et al., 2012).

Variações no conteúdo dos ácidos clorogênicos de cafés arábica de diferentes cultivares com diferenças nos graus de torração foram relatadas por Farah et al. (2005) e Perrone et al. (2008). Ivamoto et al. (2013) sugeriram que a variação poderia ser atribuída a diferenças genéticas nas vias metabólicas biossintéticas desses compostos.

Farah et al. (2006) descreveram que o teor de ácido 5- cafeoilquinóico (5- CQA) varia de 2 a 13g/Kg para cafés com boa qualidade de xícara com graus de torra de escuros a leves. E uma faixa de 3 a 20 g/Kg foi associada a cafés de pior qualidade, cafés com defeitos principalmente verdes. Porém, Zanin et al. (2016) relata que o conteúdo de ácido 5- cafeoilquinóico em cafés de torração média e de boa qualidade de xícara geralmente são mais altos, os autores ainda indicam que através de condições adequadas de colheita e pós-colheita é possível oferecer cafés torrados brasileiros com boa qualidade de xícara e variados graus de conteúdo de ácidos clorogênicos.

A Tabela 4 abaixo expõe alguns estudos que verificaram o teor de ácidos clorogênicos em óleos e extratos de café.

Tabela 4. Estudos sobre determinação de compostos bioativos e quantificação da atividade antioxidante em óleos e extratos de café verde e torrados.

Matéria prima estudada	Composto químico analisado	Método de análise utilizado	Principais resultados	Referências
Óleo de café torrado (torra média) extraído por prensagem mecânica a frio.	cafeína	- As análises foram realizadas nos tempos inicial 0, 6 e 12 meses. - A cafeína foi determinada por Cromatografia gasosa.	Os teores de cafeína encontrados variaram de 0,32% a 0,34%.	Sanches et al. (2020).
Extratos de café verde e torrado extraído em Soxhlet com auxílio de éter de petróleo e metanol.	Ácido 5- cafeoilquinico	Método de análise foi HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance).	Os extratos de café verde apresentaram teor de ácido 5- cafeoilquinico de $3,36 \pm 0,02$ g/100g base seca. Extratos de café torrado com teor de ácido 5- cafeoilquinico de $0,17 \pm 0,03$ g/100g base seca.	Coelho et al. (2014).

Extrato aquoso da borra de café expresso.	Atividade antioxidante, compostos fenólicos, cafeína e ácidos clorogênicos.	Para determinação da atividade antioxidante e dos compostos fenólicos utilizou-se DPPH e Folin- Ciocalteu respectivamente. A cafeína e os ácidos clorogênicos foram obtidos por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).	Os resultados foram: para DPPH (%) $83,99 \pm 2,38$, fenólicos totais (mg ácido gálico/g base seca) $7,57 \pm 0,52$, cafeína (mg/g base seca) $6,12 \pm 0,83$ e ácidos clorogênicos (mg 5-ACQ/g base seca) $3,71 \pm 0,40$.	Abrahão et al. (2019).
Café arábica e robusta em torra leve e escura.	Atividade antioxidante, compostos fenólicos, cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos.	Na avaliação da atividade antioxidante foi utilizado o método de ABTS, os compostos fenólicos foram avaliados por Folin- Ciocalteu. A determinação da cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos foi por meio de HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).	Os resultados obtidos para atividade antioxidante média de arábica e robusta foram 48,2g para torras leves 36,4 g de TROLOX/100g para torras escuras. O teor de compostos fenólicos médio de arábica e robusta diminuiu de 28,2 para 18,6g de ácido gálico/100g à medida que o grau de torra aumentou. Para cafeína o valor médio foi de 4,70g/100g para café arábica e 7,20g/100g para o café robusta. Quanto ao teor de trigonelina houve diminuição quanto ao nível de torra para ambos, o café arábica foi de 3,3 para 1,4g/100g para café robusta de 2,2 para 0,2g/100g. Os ácidos clorogênicos (5-ACQ) em cafés arábica diminuíram de 5,96 em torras leves para 0,22g/100g e em cafés robusta de 6,19g para 0,13g/100g à medida que o nível de torra aumentou.	Vignoli et al. (2014).
Óleo de café verde e torrado obtido por prensagem mecânica a frio.	Atividade antioxidante, compostos fenólicos e cafeína.	O teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante foram determinados por intermédio das metodologias de Folin- Ciocalteu e DPPH. O teor de cafeína foi determinado através de Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE).	O teor de compostos fenólicos do óleo de café verde foi de $0,73 \pm 0,09$ mg de ácido gálico/ g óleo e o óleo de café torrado foi de $2,24 \pm 0,12$ mg de ácido gálico/g óleo. O teor de DPPH (%) obtido foi maior no óleo de café torrado em comparação ao óleo de café verde. Os resultados do DPPH em TEAC (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox) em mmol/g óleo o óleo de café verde apresentou teor de $8,76 \pm 0,20$ e o óleo de café torrado $9,96 \pm 0,13$. O teor de cafeína foi de $209,63 \pm 1,13$ mg/g extrato seco para frações polares do óleo de café verde e $171,35 \pm$	Voytena et al. (2018).

			1,13 mg/g extrato seco das frações polares do óleo do café torrado.	
Cafés beneficiados torrados e moídos da espécie arábica.	Ácidos clorogênicos total e Ácido 5-cafeoilquinico.	O método utilizado foi HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).	O conteúdo total de ácidos clorogênicos variou de 19,7 a 35,2 g /Kg para os 32 cafés arábica torrados estudados, que diferiram no tratamento pós-colheita, no local de cultivo e na qualidade da xícara. Os autores observaram uma variação de 205% para o teor de 5-CQA, que apresentou um valor médio de 12,2 g / kg.	Zanin et al. (2016).
Óleo de café verde e torrado de café arábica das cultivares IPR 99 e Catuaí (extraído em Soxhlet com auxílio do solvente éter de petróleo).	Atividade antioxidante	A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos: ABTS e DPPH.	A atividade antioxidante pelo método de ABTS apresentou variação de 1,20 a 1,55 mg/100g, não havendo diferença significativa entre as amostras. Para o DPPH a cultivar Catuaí (verde e torrada) e a cultivar IPR 99 torrada apresentaram a melhor atividade antioxidante.	Silva et al. (2015).
Óleo de café verde e torrado extraídos em equipamento de Soxhlet com auxílio de éter de petróleo.	Atividade antioxidante e compostos fenólicos.	A atividade antioxidante foi determinada por ABTS e DPPH. Os compostos fenólicos foram determinados por Folin-Ciocalteu.	O teor de compostos fenólicos correspondeu a $343,0 \pm 1,73$ no óleo de café verde e para o torrado $808,3 \pm 1,53$. Quanto aos resultados da atividade antioxidante por DPPH(%) para o óleo de café verde ficou entre 89,82% e para o torrado 85,77%. Porém, os resultados do ABTS apresentam os teores em μM trolox/g óleo sendo o verde $4190,49 \pm 36,09$ e o torrado $9669,26 \pm 19,61$.	Ribeiro (2015)
Extrato aquosos e extratos encapsulados de café verde.	Compostos fenólicos, atividade antioxidante, cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos.	Os compostos fenólicos foram determinados por Folin- Ciocalteau. A atividade antioxidante foi determinada por ABTS e DPPH. A cafeína, trigonelina e o ácido 5-cafeoilquinico foram quantificadas e identificadas por uPLC (Cromatografia Líquida de Ultra Performance).	As quantificações identificaram que os teores foram: fenólicos totais (mg ácido gálico/g) $212,57 \pm 14,40$; atividade antioxidante por ABTS (μM trolox/g) $1421,20 \pm 38,69$; por DPPH (μM trolox/g) $1238,99 \pm 106,52$; cafeína (mg/g) $84,58 \pm 15,05$; trigonelina (mg/g) $47,90 \pm 7,81$ e ácidos clorogênicos (mg/g) $178,44 \pm 27,65$.	Carmo (2019)

4.2 Compostos aromáticos do óleo de café

Os compostos voláteis que estão presentes no óleo de café são componentes resultantes do processo tecnológico aplicado ao café cru para óleo de café verde, e a torrefação, que tem como uma das funções a formação de aromas, sabor e cor, para óleo de café torrado (DE MARIA et al., 1999).

Segundo Calligaris et al. (2009) e González et al. (2011) o perfil dos compostos voláteis do café pode variar de acordo com o local de cultivo, variedade botânica e, principalmente, o grau e tipo de torrefação do café, tendo um enorme efeito sobre o aroma do óleo de café. Ryan et al. (2004) descreveram alguns compostos como cetonas, pirazinas, furanos, fenóis e pirróis como as principais substâncias responsáveis pelo aroma de grãos de café torrado. Para Jorge (2009) o óleo de café é considerado um importante transportador de aroma e sabor de café torrado o qual contém uma porção significativa de compostos aromáticos e as principais classes de compostos encontrados no aroma do óleo do café torrado são: aldeídos, cetonas, furanos, piridinas, pirazinas, fenólicos, pirróis, indóis, lactonas e ésteres. A maioria dos compostos são resultados da reação entre aminoácidos e açúcares (Reação de Maillard) e da degradação de lipídios.

Roselius et al. (1982) definem o óleo de café torrado obtido por compressão como sendo um composto formado por uma fração de lipídios e uma típica fração de compostos orgânicos voláteis (VOCs) de aroma de café, que contém uma alta proporção de constituintes aromáticos de baixa e média volatilidade.

Oliveira et al. (2005) analisaram o óleo de café torrado obtido por prensagem utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-MS), identificaram muitos hidrocarbonetos aromáticos e alguns compostos heterocíclicos que têm sido considerados de alto impacto para o aroma do café, dentre estes destacam-se o 2-furil-metanotiol, ocaveofurano, o N-furil-2-metil-pirrol, o 2- etilfurano, o N-etil-2-formil-pirrol, a tiobutirolactona e o 2-acetil-3-metil-tiofeno.

O óleo de café verde é pouco atrativo no que condiz aos compostos voláteis, porém quanto ao óleo de café torrado este tem sido amplamente utilizado como aromatizante em sorveterias, bebidas e indústrias de café solúvel ou como ingrediente natural em empresas de cosméticos.

Atualmente existem várias técnicas de preparação, identificação e quantificação dos compostos voláteis presentes em alimentos. Dentre os métodos de preparação de amostras que tem como base a adsorção tem-se a microextração em fase sólida (SPME), o qual tem sido escolhido para análises de voláteis devido a não utilização de solventes, por ser de amostragem rápida, baixo custo, fácil operação e sensibilidade (SIDES et al., 2000).

O método envolve extração e pré- concentração utilizando uma fibra de sílica fundida (Figura 7), revestida com um material adsorvente (polímero de fase estacionária) que está protegido dentro de uma agulha do dispositivo da SPME. Após adsorção os compostos podem ser dessorvidos termicamente no injetor do cromatógrafo (OLIVEIRA et al., 2007).

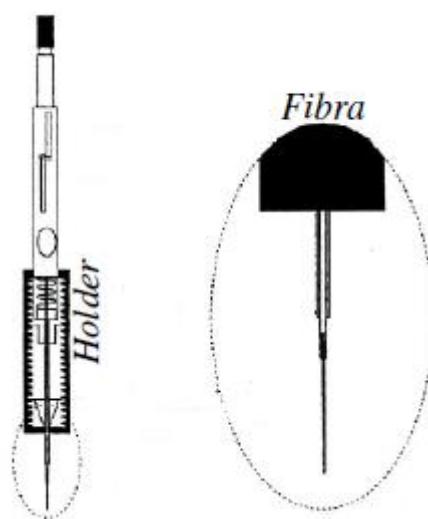


Figura 7. Exemplo do holder e da fibra utilizados no SPME.

Fonte: Valente, Augusto (2000).

O método de amostragem por headspace é um método em que a fibra é exposta na fase vapor do líquido (no caso o óleo de café) por determinado tempo para alcançar o equilíbrio. Dois tipos de equilíbrio ocorrem: entre a amostra e o ar, e entre o ambiente e a fibra (ROBERTS et al., 2000). Então após a exposição aos voláteis as fibras são acopladas a um cromatógrafo gasoso (CG) ou a um cromatógrafo gasoso- espectrômetro de massa (CG-MS), onde os analitos serão dessorvidos termicamente, enquanto a separação e a quantificação ocorrem (BULDINI et al., 2002).

A tabela 5 expõe alguns estudos que identificaram e quantificaram compostos aromáticos em óleos de café. Desta forma, é de grande interesse uma investigação e estudo dos óleos obtidos de café em diferentes processos de torra e qualidades, pois é primordial que a

indústria cafeeira obtenha informações para definição da composição aromática destes produtos, já que assim este poderá conferir aroma a outros produtos alimentícios e ser altamente aplicado na indústria de alimentos.

Tabela 5. Compostos voláteis identificados a partir de estudos com óleo de café torrado.

Referências	Hurtado- Benavides et al. (2016)	Sanches et al. (2020)	Getachew e Chun (2016)
Óleo de Café estudado e método utilizado	-Óleo de café arábica torrado (Colômbia) extraído com auxílio de fluido supercrítico (CO ₂). -Método usado foi headspace acoplada ao Detector de Ionização de Chamas por Cromatografia Gasosa.	-Óleo de café torrado da espécie arábica (Brasil) extraído por meio de prensagem mecânica a frio seguido de filtração. -Método utilizado consistiu em Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massas.	-Óleo de café arábica torrado (Etiópia) extraído através de fluido supercrítico (CO ₂),microencapsulado e livre. -Método consistiu em headspace acoplado ao espectrômetro de massas e Cromatógrafo Gasoso.
Composto Identificado	1-etilpirrol	(S) -2- (N- (N-Benzilprolil) amino (benzofenona))	Acetaldeído
Composto Identificado	piridina	1,1,1,5,7,7,7-Heptametil-3,3-bis (trimetilsiloxi) tetrasiloxano	2-metilfurano
Composto Identificado	tiazol	1,2,3 – Benzenotriol Detectado 1,2-Etanodiol, 1,2-di-4-piridinil	2-metilbutanal
Composto Identificado	1-hidroxi-2-propanona	1,3,5,7,9,11-Hexaetil Biciclo (5.5.1) hexa siloxano	1-metilpirrol
Composto Identificado	2,5-dimetilpirazina	1,4,7,10,13,16-Penta Ciclopentadieno, 3-fenil	Piridina
Composto Identificado	2,6- dimetilpirazina	1,4-benzenodiol, 2,3,5-trimetil	Pirazina
Composto Identificado	2-etil-5-metilpirazina	1-Etanona, 1 (4- (4-fluorofenil) metoxi) -3-metoxifenil	2-metoximetilfurano
Composto Identificado	2-furancarboxaldeído	1H-pirrol, 1- (2-furanilmetil)	2-metilpirazina
Composto Identificado	2- metil-3,5-dimetilpirazina	2 (1H) -piridinona, 3-metil	2,5-Dimetilpirazina

Composto Identificado	acetato de furanmetanol	2-(2-(2-(2-(2-(2-(2-(2-(2-Hidroxietoxi) etoxi) etoxi) etoxi) etoxi) etoxi) etoxi) etanol	2,6-Dimetilpirazina
Composto Identificado	5- metil-2-furancarboxaldeído	2,4,6-Cicloheptatrien-1-ona, 3,5-bis-trimetilsilil	2-etilpirazina
Composto Identificado	6,7-di-hidro-5-metil-5H-ciclopentapirazina	2-furancarboxaldeído, 5-metil	2,3-dimetilpirazina
Composto Identificado	propionato de furfurilo	2-furanmetanol, acetato	Furfural
Composto Identificado	2-formol-1-metilpirrol	2-piridinamina, 3-metil	2-acetilfurano
Composto Identificado	2-furfurilfurano	3-buten-2-ona, 4- (2-furanil)	Acetato de 2-furanmetanol
Composto Identificado	furanometanol	3-furanmetanol	5-metilfurfural
Composto Identificado	1-(6-metil-2-pirazol)-1-etanona	3-isopropoxi-1,1,1,7,7,7-hexametil-3,5,5-tris (trimetilsiloxi) tetrasiloxano	2-metoxifenol
Composto Identificado	álcool furfúrico	Ácido 3-piridinocarboxílico, 4-hidroxi	2-acetilpirrol
Composto Identificado	2-etil-4-metil-2,5-furandiona	Ácido acético	Éter difurfúrico
Composto Identificado	ácido 3- metil-2-butenóico	Benzenamina, 2-etoxi	4-etil-2-metoxifenol
Composto Identificado	2-metil-1H-pirrol	Benzeno (2.2.1) heptan-2-ol, 2- (1-ciclopenten-1-il)	4-metilfenol
Composto Identificado	β-Damascenona	Ácido benzenoacético, alfa, 3,4-tris (trimetilsilil) oxi, trimetilsilil éster	4-etilfenol
Composto Identificado	2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	Biciclo (2.2) heptan-2-ol, 2- (1-ciclopenten-1-il)	2-metoxi-4-vinilfenol
Composto Identificado	guaiacol	Bicyclo (3.3.0)oct-2-em-6-one, 3-methyl	1-furanil-2-formilpirrol
Composto Identificado	2-metoxifenol	Caffeine	
Composto Identificado	3-etil-2-hidroxi-2-ciclopenten-1-ona	Ciclotetrasiloxano, 5-metil-2- (1-metiletilideno)	
Composto Identificado	3- hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona	Ciclotetrasiloxano, octametil	
Composto Identificado	éter difurfural	Etanona, 1- (1H-pirazol-4-il)	
Composto Identificado	2-formilpirrol	Etanona, 1- (1H-pirrol-2-il)	
Composto Identificado	4-etilguaiacol	Furazan-3-carboxamida, oxima, 4-amino-N, N-dimetil	
Composto Identificado	4-etil-2-metoxifenol	Maltol	

Composto Identificado	eicosanol	m-aminofenil acetileno	
Composto Identificado	4-metilfenol	2-furoato de metila	
Composto Identificado	γ -decalactona	Fenol, 2-metoxi	
Composto Identificado	4- vinilguaiaacol	Pirazina, metil	
Composto Identificado	2-metoxi-4-vinilfenol	Pirazol, 1,4-dimetil	
Composto Identificado	1-furfuril-2-formil pirrol	Piridina	
Composto Identificado	ácido benzóico	Pirrol (3,4-c) pirazol-4,6 (3H, 5H) -diona, 5-(2-fluorofenil) -3a, 6a, di-hidro-6a-metil	

Os principais grupos relatados por Getachew e Chun (2016) incluem aldeídos, cetonas, furanos, pirróis, pirazinas, piridinas e compostos fenólicos. Todos esses compostos são típicos do sabor do café torrado, porém vale mencionar que, devido à complexidade da fração aromática do café, algumas variáveis deverão interferir diretamente na composição destes compostos, como: o tipo de técnicas agrícolas, cultivo, altitude e região (AKIYAMA et al., 2005; SANCHES et al., 2020).

Hurtado- Benavides et al. (2016) em estudo com óleo de café torrado extraído a partir de CO₂ supercrítico definiram que os compostos pertencentes a família dos furanos (% área relativa) (21,74- 29,64%), seguidos de pirazinas (12,5- 22,86%), cetonas (5,0- 17,14%), fenóis (6,45- 17,07%), pirróis (a partir de 7,69% para 12,50%), piridinas (2,17- 3,23%), lactonas (2,17- 3,70%), tiofenos (2,38- 3,23%), tiazoles (2,17- 2,50%), ácidos carboxílicos (2,55- 7,69%) entre outros (Tabela 5), foram detectados e identificados. Segundo os autores o grupo da família furanos foram os compostos em maior proporção no óleo de café torrado. Para González- Rios et al. (2007) os furanos são o principal tipo de compostos presentes no café arábica, seguidos por cetonas, pirazinas, piridinas e pirróis.

O grupo furanos está normalmente relacionado as características agradáveis em alimentos e bebidas, além de serem formados pela degradação térmica dos açúcares e carboidratos são associados a aroma de frutas, grama e couro (PETISCA et al., 2013). O grupo pertencente a família de pirazinas são ligados ao aroma e sabor de amendoim e de café torrado como o composto 2- etil-3-metilpirazina (AKIYAMA et al., 2005; MAYER et al., 2000; HURTADO- BENAVIDES et al., 2016).

Outros trabalhos relatam que alguns compostos descritos pelos autores na Tabela 5 (5-metil-2-furancarboxaldeído, acetato de furanometanol, éter difurfurílico, 2-furfurilfurano, 2-metoxi-4-vinilfenol, 2-furancarboxaldeído, 4-etil-2-metoxifenol, 2-hidroxi -3-metil-2-ciclopenten-1-ona) são compostos que exibem notas agradáveis como caramelo, nozes tostadas, amendoim, doce, aromático, maçã, amêndoa entre outros (GONZALEZ- RIOS et al. 2007 ;

RIBEIRO et al., 2009; MAYER et al. 2000). Além disso, a fração volátil do óleo de café contém um complexo grupo de compostos químicos presentes no sabor e aroma dos grãos torrados originais e da bebida do café (HURTADO- BENAVIDES et al., 2016).

4.3 Óleo de café e a aplicação em alimentos

O óleo de café torrado obtido por prensagem mecânica representa um subproduto importante da indústria alimentícia. É importante esclarecer essa questão, pois existe um grande interesse em seu uso para aumentar o potencial aromático do café solúvel e da bebida de café, ou como aromatizante para doces, bolos, sorvetes e pudins. Normalmente, o óleo de café torrado é usado para minimizar a incidência de pó fino quando adicionado ao café solúvel. Este óleo forma uma camada superficial e evita a fragmentação de grãos de café solúveis.

Alguns estudos apontam para a dificuldade de recompor o aroma de café ao produto solúvel, devido principalmente a volatilização dos compostos que constituem o óleo e que são sensorialmente necessários para a preservação do aroma de café e através do uso do óleo de café torrado estes aromas podem voltar a ficar presentes ao final da produção (OLIVEIRA et al., 2009).

Outra utilização do óleo de café torrado na indústria pode se dar através da sua adição aos grãos de café antes da sua moagem. Estes óleos podem ser previamente aromatizados com diversos aromas como os de chocolates, rum, baunilha, entre outros (NATURE'S FLAVORS, 2021) conferindo ao café aromas diferenciados.

Além do óleo de café, os extratos de sementes, folhas da planta do café também são utilizados como fonte de aroma e como agente condicionador para a pele. Quanto a indústria de cosméticos o emprego do óleo de café torrado tem sido empregado para formulação de batons e produtos onde se tem o intuito de lhe conferir aroma (CAMPO RESEARCH, 2020).

Quanto ao óleo de café verde a característica mais discutida atualmente é a capacidade de bloquear a radiação solar UVB (280 a 320nm), a qual mesmo possuindo capacidade bronzeadora, causa eritema na pele humana, sem contudo, impedir a passagem de raios UVA (320 a 400nm) relacionados ao bronzeamento saudável (CONNOCK, 1999; GROLLIER e PLESSIS, 1988). Em geral, estas funções estão associadas a presença de compostos como compostos fenólicos, diterpenos cafestol e caveol, seus ésteres e compostos com atividade antioxidante (BERTHOLET, 1988; VOYTENA et al., 2018).

Atualmente algumas empresas tem utilizado o óleo do café torrado para preparo de bebidas que tem a base láctea, a aveia e a soja, estas são bebidas que tem como apelo o sabor de café. A Tabela 6 retrata alguns estudos e seus principais resultados referentes ao óleo e extratos de café verde e torrado quando adicionados em produtos alimentícios diversos.

Tabela 6. Incorporação de óleo/ extrato de café verde e torrado em produtos alimentícios.

Referências	Produto Adicionado	Produto Final	Concentração adicionada	Principais resultados
Dönmez et al.,(2017)	Extrato de café verde	Iogurte	1 e 2g /100g	- O extrato café verde diminuiu significativamente a taxa de sinérese durante o armazenamento e melhorou a consistência do produto. - Os autores mencionam ainda que os polifenóis presentes no café verde podem interagir com micelas de caseína no iogurte, e essa interação proteína-polifenol promove a força da rede de caseína e estabiliza a estrutura do produto.
Carmo (2019)	Extrato aquoso e encapsulados de café verde	Bebida Láctea	5% de extrato de café verde encapsulado	- O autor verificou um aumento dos compostos bioativos devido a liberação controlada do material ativo encapsulado. - Além disso, parâmetros como atividade antioxidante e acidez foram avaliados nos tempos 0 e 7 dias, estas não apresentaram nenhuma diferença entre os tempos de armazenamento.
Dziki et al (2015)	Café verde moído/farinha	Pão de trigo	1,2,3,4 e 5g/100g	Através de um teste de aceitação com escala hedônica estruturada em nove pontos os

				autores avaliaram os atributos de cor da crosta e migalha, textura, aroma, gosto e aceitação geral. Os resultados demonstraram que as amostras tiveram boa aceitação sensorial. Os pães apresentaram aumento do teor de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante.
Oliveira et al. (2009)	Óleo de café torrado e mistura aromática de café.	Cafés instantâneos obtidos por: spray dry e liofilização.	20 p.p.b.	- As bebidas de café instantâneos liofilizado apresentaram melhores características sensoriais ou aceitação. - A amostra de café instantâneo liofilizado ao qual foi adicionado o óleo de café torrado apresentou maior aceitação do que as demais amostras. - O aroma e o sabor do café das amostras de café instantâneo liofilizado aos quais a mistura aromática foi adicionada não apresentaram diferença quando comparadas às amostras sem a mistura, mostrando que o impacto desses compostos aromáticos na bebida não foi relevante com respeito a esses atributos.

4.3.1 Iogurtes com incorporação de óleos vegetais

O iogurte, yogur ou yoghurt é um leite fermentado, portanto pode ser definido como o produto obtido da coagulação e diminuição do pH por fermentação láctea. Sua origem deve situar-se no Oriente Médio ou na Índia. Os pastores nômades, ao armazenar o leite sempre nos mesmos recipientes, foram selecionando uma microbiota que fermentava o leite e produzia um

alimento de sabor agradável. Além disso, o alto grau de acidez conseguido não permitia o desenvolvimento de bactérias patogênicas. Assim, perceberam que o seu consumo não lhes causava nenhum mal, então esse produto tornou-se popular e era oferecido às crianças na desmama (ORDOÑEZ, 2005).

O iogurte é caracterizado por utilizar dois tipos específicos de culturas lácteas. São elas as bactérias *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgáricus*, que atuam em simbiose, podendo ou não serem complementadas com outras bactérias ácido-láticas que contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007).

O iogurte pode ser classificado em tradicional, batido ou líquido de acordo com o processo em que é submetido na sua elaboração:

- Iogurte tradicional (set yogurt): no qual o processo de fermentação ocorre dentro da própria embalagem, não sofre homogeneização e o resultado é um produto firme, mais ou menos consistente;
- Iogurte batido (stirred yogurt): o processo de fermentação ocorre em fermentadeiras ou incubadoras com posterior quebra do coágulo;
- Iogurte líquido (fluid yogurt): o processo de fermentação é realizado em tanques; é comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa ou do tipo cartonadas (ROBERT, 2008, BRASIL, 2000).

Os laticínios trabalham em grande quantidade com iogurte batido, já que este permite aos produtores adicionar estabilizantes para prevenção de sinérese durante a vida de prateleira (LUCEY SINGH, 1998).

A seguir tem-se o fluxograma básico de produção do iogurte:



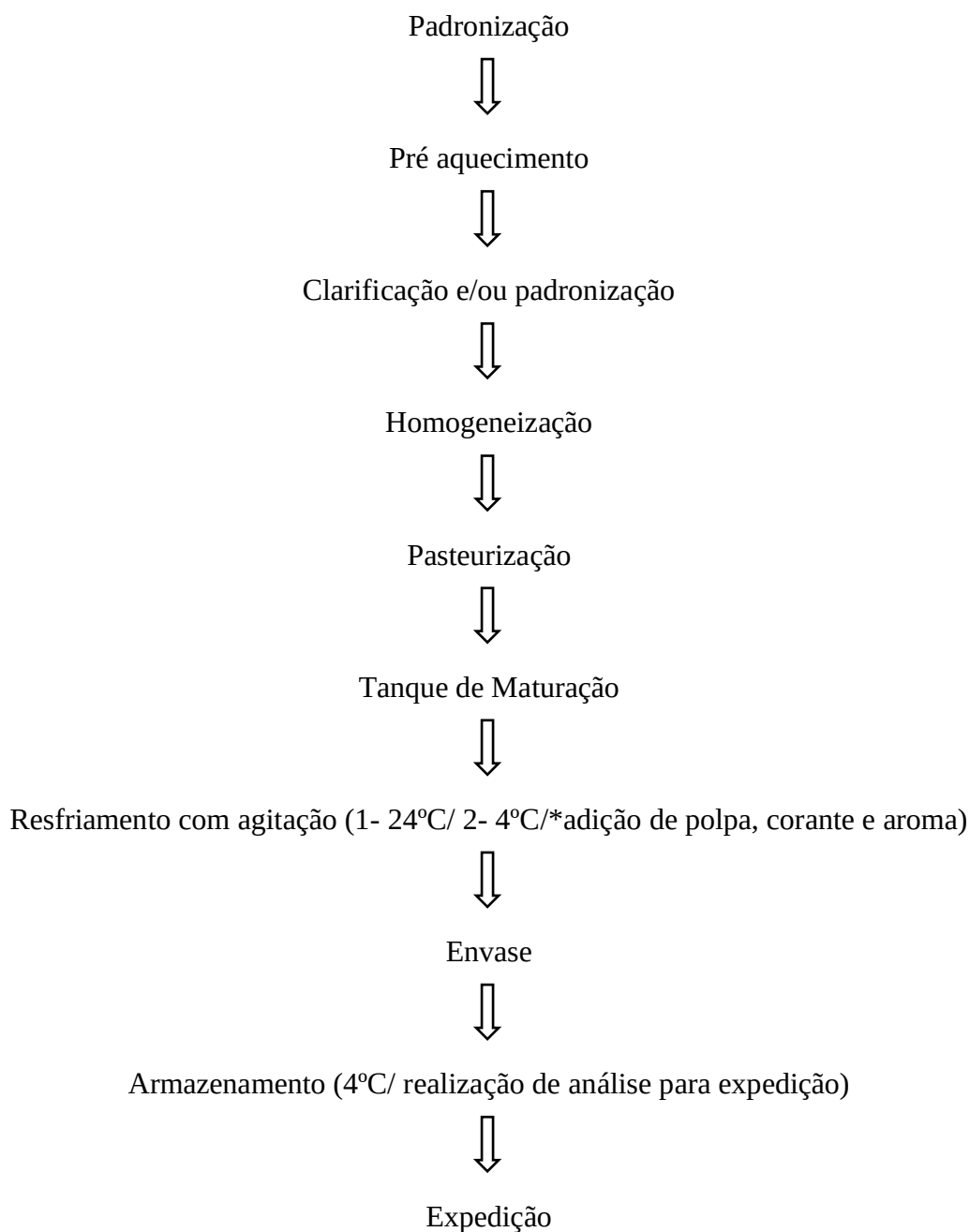


Figura 8. Fluxograma básico de produção de iogurte.

Fonte: VIDAL (2018).

Durante o processamento de iogurte é ideal a obtenção de uma matéria prima de boa qualidade, avaliada quanto aos parâmetros de acidez, estabilidade térmica, densidade e carga microbiana. A próxima etapa consiste na padronização do leite que é realizada por meio da adição de leite em pó ou concentrado para elevar o teor de sólidos totais, aumentando a consistência e incorporação de soro. A seguir ocorrerá a homogeneização para redução do

tamanho dos glóbulos de gordura, além de melhorar a estabilidade do coagulo, originando um produto mais liso e cremoso, nesta fase a temperatura deve situar entre 50°C e 60°C. Na pasteurização deverá haver uma modificação mais drástica na temperatura visando promover uma maior desnaturação da caseína e das proteínas do soro, isso provocará uma maior hidratação do coagulo, incorporação do soro, consistência e viscosidade do produto final. O líquido segue para o maturador e é então resfriado a temperatura entre 40°C e 45°C, onde são adicionados os agentes edulcorantes, corantes, aromas e inoculado o fermento. É importante destacar que os aromas podem ser adicionados antes ou após a fermentação. Após a inoculação é recomendado uma homogeneização por dois minutos e incubação por aproximadamente 4 horas para que a fermentação da lactose em ácido láctico ocorra e assim se estabeleça a coagulação ácida e desenvolvimento das características sensoriais do produto. O pH deve situar em torno de 4,4 a 4,7. E por fim, o produto deverá ser resfriado para paralização da multiplicação da cultura láctea. Após redução da temperatura pode adicionar a polpa e outros aromas (VIDAL, 2018; ORDOÑEZ, 2005).

Dentre as proteínas presentes no leite figura se destaque as caseínas que se encontram sob a forma de dispersão coloidal, formando partículas de tamanho variável. Essas partículas que dispersam a luz e que, portanto, conferem ao leite sua cor branca característica, recebem o nome de micelas (ORDOÑEZ, 2005). Em iogurtes a caseína desempenha um papel importante na formação da matriz de gel por meio da agregação de micelas de caseína à medida que o pH se aproxima de 4,6 como resultado da produção de ácido láctico durante a fermentação (CUI et al., 2014; DONMEZ et al., 2017).

Jakobek (2015) define em seu estudo que os polifenóis têm a capacidade de interação com as proteínas, resultando na formação do complexo proteína-polifenol. A formação deste complexo já foi discutida por muitos pesquisadores (SIEBERT et al., 1996; JOBSTL et al., 2004; RICHARD et al., 2006; DONMEZ et al., 2017).

O tipo de interação entre os polifenóis e as proteínas tem como base interações fracas, principalmente hidrofóbicas, van der Waals, ligação de ponte de hidrogênio e interações iônicas formadas entre cadeias laterais de aminoácidos e os anéis polifenólicos aromáticos, indicando que esta associação entre os polifenóis e as proteínas é um fenômeno de superfície (HASNI et al. 2011; DONMEZ, MOGOL e GOKMEN, 2017).

Duarte e Farah (2011) sugeriram que as interações entre os constituintes do leite e os polifenóis do café podem produzir um efeito negativo na biodisponibilidade dos polifenóis do café, em humanos. Porém, estudos sugerem efeitos positivos adicionais das interações

polifenol-proteína. Segundo Shpigelman et al. (2010) definem as proteínas como bons carreadores de polifenóis no trato gastrointestinal. Além disso, os complexos podem proteger os polifenóis contra a degradação oxidativa conforme descrito por Shpigelman et al. (2010).

Por outro lado, a associação entre os polifenóis e proteínas pode afetar a atividade antioxidante dos polifenóis conforme citado por Hasni et al. (2011) que investigou essa associação em presença das proteínas do leite, na verdade devido estas interações de proteína do leite e polifenol a atividade antioxidante dos polifenóis foi mascarada (ARTS et al., 2002).

Para Donmez et al. (2017) os polifenóis presentes no café podem interagir com as micelas da caseína do iogurte, e através desta interação proteína- polifenol promover a força da rede de caseína e ajudar na estabilização da estrutura do produto final.

Guimarães et al. (2020) formularam bebidas fermentadas probiótica mista utilizando extrato hidrossolúvel de amêndoas, farinha de linhaça e principalmente óleos vegetais amazônicos de pequi e açaí. As bebidas acrescidas dos óleos amazônicos apresentaram as melhores características nutricionais e mais elevados teores de polifenóis e atividade antioxidante. Portanto, a adição dos óleos foi eficiente, já que os elevados valores se mantiveram mesmo após o processamento do produto.

4.3.2 Análise Sensorial

A qualidade de um produto está relacionada às características que compõem o alimento sendo assim a análise sensorial constitui uma ótima ferramenta para este tipo de avaliação. Na análise sensorial o homem é utilizado como instrumento de medida através dos seus cinco órgãos do sentido (visão, tato, audição, olfato e paladar) além de medir a percepção e a reação humana diante dos atributos de um alimento, analisar se o produto avaliado tem qualidade superior aos produtos concorrentes e prever se o consumidor irá gostar do produto com base em suas características (ABNT et al., 2014; GULARTE, 2002).

Existem diferentes métodos de avaliação sensorial, tais como os métodos afetivos, os quais avaliam a preferência ou aceitação dos consumidores, os métodos discriminativos ou de diferença, os quais indicam se há diferenças entre as amostras, e os métodos descritivos (DUTCOSKY, 2011).

O teste de aceitação, tipo de método afetivo muito utilizado para melhoria da qualidade de produtos, avalia o quanto o consumidor gosta ou desgosta do produto. As escalas utilizadas

nestes testes podem ser balanceadas ou não balanceadas. Há várias escalas para medir a aceitação, sendo as mais utilizadas a hedônica, de atitude e a do ideal. (DUARTE, 2015).

A determinação da aceitação pelo consumidor é fundamental no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos. Assim, a análise sensorial representa um importante instrumento para estimar a aceitação do produto pelos consumidores (LEITE, 2009).

A escala do ideal avalia o alimento com base em um valor intermediário de ideal relacionado ao produto entre os extremos de “muito mais do que o ideal” a “muito menos do que o ideal” para cada um dos atributos que se deseja avaliar (SCHIDT e MIGLIORANZA, 2010). Entre os métodos sensoriais é o mais adequado para se medir a quantidade ideal de um determinado componente a ser adicionado para provocar a melhor aceitação e preferência de um grupo de julgadores. A escala do ideal é o método afetivo mais aplicado, tanto quanto a confiabilidade e validade de seus resultados como a simplicidade em sua aplicação. Nessa análise, os julgadores avaliam as amostras e registram suas respostas em escala específica, o quão ideal essas amostras encontram-se em relação ao atributo que se deseja avaliar (DUARTE, 2015).

Ribeiro et al. (2017) avaliou sensorialmente formulações de iogurte elaborados com diferentes concentrações de extrato de café. Eles obtiveram através de um teste de ordenação-preferência a concentração de extrato de café comercial de 0,1% e a avaliaram, por meio de um teste de aceitação com consumidores mostrando que o iogurte sabor de café tem uma importante parcela de mercado.

No entanto, não há dados na literatura que evidenciam a utilização de óleos de café em iogurtes, além disso é importante obter informações relevantes a padronização e estabilidade destes produtos, assim como verificar atributos de qualidade e aceitação que atendam às necessidades dos consumidores.

5. Conclusão

A composição química do café é bastante explorada em diversos estudos, porém o café contém um importante composto que corresponde ao seu óleo. O óleo obtido tanto do café verde como do torrado apresenta uma série de elementos e dentre estes tem-se o destaque para os compostos fenólicos e aqueles que apresentam atuação bioativa como a cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos. Além disso, os óleos de café têm potente ação antioxidante que aliado a composição aromática variada instiga um maior conhecimento a respeito destes óleos extraídos

a partir de cafés de diferentes pontos de torração e qualidade. A disseminação da utilização destes óleos de café como potentes flavorizantes e aromatizante trás o interesse na utilização em produtos fermentados como o iogurte. A presença dos compostos fenólicos nos óleos se utilizados como saborizantes em iogurtes induz a formação do complexo polifenol-proteína, o que poderia proteger a degradação destes compostos durante a vida de prateleira. Portanto, o complexo potencializa a possível utilização dos óleos como aromatizantes na indústria de alimentos. Diante deste contexto, o desenvolvimento de produtos, técnicas e processos que promovam a preservação do flavor (aroma e sabor) de café, em produtos alimentícios onde se utiliza o seu óleo como reconstituente aromático consiste em uma alternativa promissora para pesquisas de alta relevância para a indústria.

6. Referências Bibliográficas

ABIC. **Norma de Qualidade Recomendável e Boas Práticas de Fabricação de Cafés Torrados em Grão e Cafés Torrados e Moídos**, Rio de Janeiro, jun. 2018. Online. Disponível em: < <http://abic.com.br/src/uploads/2017/07/2.8.1-Norma-de-qualidade-PQC.pdf>>. Acesso em 2 set. 2019.

ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 414– 420, 2010.

ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1799–1804, 2008.

ABRAHÃO, F. R.; ROCHA, L. C.R.; SANTOS, T. A., CARMO, E. L.; PEREIRA, L.A. S.; BORGES, S. V.; PEREIRA, R. G. F. A. P.; BOTREL, D. A. Microencapsulation of bioactive compounds from espresso spent coffee by spray drying. **Food Science and Technology**, v. 103, p. 116-124, 2019.

ADAMS, A.N.; BORRELLI, R.C.; FOGLIANO, V.; KIMPE, N. Thermal degradation studies of food melanoidins, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.10, p.4136-4142, 2005.

AGUIAR, J.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Microencapsulation of natural antioxidants for food application - The specific case of coffee antioxidants - A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 58, p. 21–39, 2016.

AKIYAMA, M.; MURAKAMI, K.; IKEDA, M.; IWATSUKI, K.; KOKUBO, S.; WADA, A.; TANAKA, K. Characterization of flavor compounds released during grinding of roasted robusta coffee. **Food Science and Technology**, v. 11, p. 298-307, 2005.

ALCANTARA, M. **Caracterização sensorial de bebidas de café utilizando técnicas sensoriais baseadas na percepção do consumidor: Uma comparação com Análise Descritiva Clássica**. 2017, Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro- RJ, 2017.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.

ALVES, H. M. R.; VOLPATO, M. M.L.; VIEIRA, T. G. C.; BOREM, F. M.; BARBOSA, J. N. Características ambientais e qualidade da bebida dos cafés do estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, 2011, 32, 261, 7-16. Disponível em:<http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_agropecuário/ia_café_producao_qualidade.pdf>. Acesso em: 19 de out 2020.

ANVISA. **Portaria no 377, de 26 de abril de 1999**. Aprova o Regulamento Técnico referente a Café Torrado em Grão e Café Torrado Moído. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 29. abr. 1999. Seção 1, p.22-29.

ARTS, M. J. T. J.; HAENEN, G. R. M. M., WILMS, L. C. ; BEETSTRA, S. A. J. N.; HEIJNEN, C. G. M.; VOSS, H. P. et al. Interactions between flavonoids and proteins: Effect on the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 1184-1187, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **NBR 12806: análise sensorial de alimentos e bebidas: terminologia**. Rio de Janeiro, 2014.

BECKER, L. V. **Iogurte probiótico com teor reduzido de lactose adicionado de óleo de linhaça**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria -RS, 2009.

BERTRAND, B.; GUYOT, B.; ANTHONY, F.; LASHERMES, P. Impact of the coffea canephora gene introgression on beverage quality of C. Arabica. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 107, n. 3, p. 387–394, 2003.

BERTHOLET, R. **Preparation of a mixture of cafestol and kahweol**. United States Patent nº. 4,748,258. US Patent & Trademark Office, 1988.

BIANCHI, M. D. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.

BICHO, N.C. et al. Use of colour parameters for roasted coffee assessment. **Food Science and Technology**, v. 32, n.3, p. 436-442, 2012.

BEKEDAM, E. K. et al. Incorporation of chlorogenic acids in coffee brew melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 6, p. 2055-2063, 2008.

BORÉM, F. M. **Processamento do café**. In: Pós-colheita do café. Lavras: UFLA, 2008. cap. 5, p.127-158.

BORGES, M. L. A. et al. Efeito da torração em parâmetros físicos de cafés de diferentes qualidades. **Revista Brasileira de Armazenamento**, n. 8, p. 6-13, 2004.

BORRELLI, R.C.; VISCONTI, A.; MENNELLA, C.; ANESE, M.; FOGLIANO, V. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 22, p.6527- 6533, 2002.

BRASIL, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº8, de junho de 2003.** Aprova o regulamento técnico da identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru. Brasília, 2003. Disponível em: <<http://www.ministerio.gov.br>>. Acesso em :29 ago. 2019.

BRASIL, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 46 de 23 de outubro de 2007** - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de de Leites Fermentados. Disponível em: <<http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/instru%C3%87%C3%83o-normativa-n%C2%BA-46-de-23-de-outubro-de-2007.pdf>>. Acesso em: jul. de 2020.

BRASIL, **Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**, Resolução nº 5 de 13 de novembro de 2000. Disponível em: www.agricultura.gov.br/sislegis. Acesso em: agost. 2020.

BRAVO, J. et al. Antioxidant and genoprotective effects of spent coffee extracts in human cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 60, p. 397–403, 2013.

BREZOVÁ, V.; ŠLEBODOVÁ, A.; STAŠKO, A. Coffee as a source of antioxidants: an EPR study. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 859–868, 2009.

BUDRYN, G.; NEBESNY, E.; ZYZELEWICZ, D.; ORACZ, J.; MISKIEWICZ, K.; KACZMAREK- ROSICKA, J. Influence of roasting conditions on fatty acids and oxidative changes of Robusta coffee oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 114, p. 1052- 1061, 2012.

BULDINI, P.L.; RICCI, L.; SHARMA, J.L. Recent applications of sample preparation techniques in food analysis. **Journal of Chromatography A.** , v. 975, p. 47-70, 2002.

CALLIGARIS, S.; MUNARI, M.; GIANMICHELE, A.; BARBA, L. Insights into the physico chemical properties of coffee oil, Eur. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 1270-1277, 2009.

CAMPO RESEARCH. **Coffee oil, novel function ingredients for cosmetic formulations.** Disponível em <<http://www.camporesearch.com/campo/products/coffee2.html>>. Acesso em: 15 de maio de 2020.

CARMO, L.B. **Extrato de café verde microencapsulado com diferentes agentes e métodos de secagem e sua aplicação em bebida láctea: efeitos sobre características físico-químicas, estabilidade e aspectos sensoriais.** 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES, 2019.

CARVALHO, et al. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário. Qualidade do café**, Belo Horizonte, v.18, n.187, p.5-20, 1997.

CASAL, S.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; ALVES, M.R.; FERREIRA, M.A. Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid and caffeine content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.3420-3424, 2000.

CIE Colorimetry. **CIE Central Bureau Kegelgasse.** 2. ed. Wien, Austria: Publication nº 15.2, 1986.

CID, M.C.; PEÑA, M.P. Coffee: analysis and composition. **Encyclopedia of Food and Health**, Kidlington, p. 225-231.

CUI, B.; LU, Y. M.; TAN, C. P.; WANG, G.Q.; LI, G. H. Effect of cross-linked acetylated starch content on the structure and stability of set yoghurt. **Food Hydrocoll.**, v. 35, p. 576-582, 2014.

CLARKE, R. J. Conteúdo de água e minerais. In: CLARKE, RJ; MACRAE, R. (Eds.). **Café, I** : Química. Londres; Nova York: Elsevier Applied Science Publishers Co Ltd., p. 42-82, 1985.

CLIFFORD, M. N.; RAMIREZ-MARTINEZ, J. R. Phenols and caffeine in wetprocessed coffee beans and coffee pulp. **Food Chemistry**, v. 40, n. 1, p. 35-42, 1991.

COELHO, C. et al. Nature of phenolic compounds in coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 31, p. 7843–7853, 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Conab). **Análise mensal- café, janeiro 2019**. Disponível em : <https://www.conab.gov.br/historico-mensal-de-cafe/item/download>. Acesso em: jul. 2019b.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de café. V. 8 - SAFRA 2021 - N.3 - Terceiro levantamento | SETEMBRO 2021**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>. Acesso em: 13 out., 2021.

CONNOCK, A & E. **Coffee oil**. Documento interno. Hampshire, England. 1999.

COOXUPÉ. Disponível em: <https://www.cooxupe.com.br/>. Acesso em: 04 jan. 2021.

CLARKE, R. J. Conteúdo de água e minerais. In: CLARKE, R.J.; MACRAE, R. (Eds.). **Café, I : Química**. Londres; Nova York: Elsevier Applied Science Publishers Co Ltd., p. 42-82, 1985.

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

DE MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A.; TRUGO, L.C. Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. **Química nova**, v.22, p.209-217, 1999.

DESSALEGN, Y. et al. Genetic diversity and correlation of bean caffeine content with cup quality and green bean physical characteristics in coffee (*Coffea arabica* L.). **Journal of the Science of Food Agriculture**, v.88, n.10, p.1726-1730, 2008.

DÖNMEZ, O.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. **Journal of Dairy Science**. v.100, n. 2, p. 901- 907, 2017.

DUARTE, G. S.; FARAH, A. Effect of simultaneous consumption of milk and coffee on chlorogenic acids' bioavailability in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 7925- 7931, 2011.

DUARTE, L.G.R. **A avaliação do emprego do café torrado como aromatizante na produção de cervejas**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Microbiologia Aplicada)- Universidade de São Paulo, 2015.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial dos alimentos**. 3. Ed. Curitiba: Champagnat, 2011.

DZIKI, D.; GAWLIK-DZIKI, U.; PECIO, Ł.; RÓZYŁO, R.; ŚWIECA, M.; KRZYKOWSKI, A.; RUDY, S. Ground green coffee beans as a functional food supplement - Preliminary study. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, p. 691–699, 2015.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488–495, 2012.

FARAH, A. **Coffee constituents**. In: Chu, Yi-Fang (ed.). *Coffee: Emerging health effects and disease prevention*: John Wiley & Sons, Oxford, England, p. 21–58, 2012.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 23–26, 2006.

FARAH, A. et al. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1505–1513, 2005.

FENNEMA, R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. São Paulo: Artmed, 2010.

FIGUEIREDO, L.P. et al. Avaliação das características físicas dos grãos de café (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tempos de fermentação natural. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 6., 2009, Vitória. **Anais**. Brasília: EMBRAPA Café, 2009. 1 CD-ROM.

FOLSTAR, P. Lipids. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Eds.). **Café, I** : Química. Londres; Nova York: Elsevier Applied Science Publishers Co Ltd., 1985. p. 203-222.

FREITAS, S. P.; LAGO, R. C. A. Dados de equilíbrio para o processo de extração de óleos de café e girassol usando etanol. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 3, p. 220-224, 2007.

GETACHEW, A. T.; CHU, B. S. Optimization of coffee oilflavor encapsulation using response surfacemethodology. **Food Science and Technology**, v.70, p. 126- 134, 2016.

GONZÁLEZ, S.; ESCRIG, A. J.; CALIXTO, F. S. Atividade antioxidante in vitro de cerveja fabricada usando diferentes procedimentos (italiano, café expresso e filtro) **Química dos Alimentos**, v. 90, p. 133- 139, 2005.

GONZÁLEZ, H. M.; GONZALEZ, S.; ROSALES, T. Café (*Coffea arabica* L.): compuestos volátiles relacionados con el aroma y sabor. **UNACAR Tecnociencia**, p. 35-45, 2011.

GONZALEZ- RIOS, O.; SUAREZ-QUIROZA, M.; BOULANGER, R.; BAREL, M.; GUYOT, B.; GUIRAUD, J.; SCHORR- GALINDO, S. Impact of ecological post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee **J. Food Compos. Anal.**, v. 20, p. 289- 296, 2007.

GROLLIER, J. F., PLESSIS, S. **Use of coffee bean oil as a sun filter**. United States Patent nº. 4,793,990. US Patent & Trademark Office, 1988.

GUIMARÃES, S. C. N.; ALVES, D. T. V.; SOUZA, R. B. M.; COSTA, C. E. F.; MELO, K. C.; OLIVEIRA, I. S.; SOARES, S. D.; SANTOS, O. V. Desenvolvimento de formulações fermentadas probióticas mistas enriquecidas com óleos de frutos amazônicos **Brazilian Journal of Development**. , v. 6, n. 3, p. 10882-10901, 2020.

GULARTE, M. A. **Manual de análise sensorial de alimentos**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2002.

GÜLÇİN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology, Berlin**, v. 86, n. 3, p. 345–391, 2012.

HASNI, I.; BOURASSA, P.; HAMDANI, S.; SAMSON, G.; CARPENTIER, R.; TAJMIR-RIahi, H. A. Interaction of milk α - and β -caseins with tea polyphenols. **Food Chemistry**, v. 126, p. 630- 639, 2011.

HERNANDEZ, J. A. et al. Analysis of the heat and mass transfer during coffee batch roasting. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 4, p. 1141-1148, 2007.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.

HUNT, R.G. Colour displays and colorimetry. In: TOWNSEND, K.G.; JACKSON, G.B.; TV and video engineer's reference book. **Oxford: Butterworth-heinemann**, v.9, p. 1-12, 1991.

HURTADO-BENAVIDES, A.; DORADO, D. A., CAMARGO, A.P.S. Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.113, p.44–52, 2016.

ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso coffee: the chemistry of quality**. San Diego: CRC Press, 1995.

IVAMOTO, S. T., POT, D., LANNES, S. D., DOMINGUES, D. S., VIEIRA, L. G. E., & PEREIRA, L. F. P. Nucleotide diversity of genes related to chlorogenic acid biosynthesis of coffea. **Coffee Science**, v. 8, p. 148-156, 2013.

JAKOBEK, L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. **Food Chemistry**. v.175, p. 556- 567, 2015.

JESZKA-SKOWRON, M. et al. Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 8, p. 1403–1409, 2016.

JOBSTL, E.; O'CONNELL, J. ; FAIRCLOUGH, J. P. A.; WILLIAMSON, M. P. Molecular model for astringency produced by polyphenol/protein interactions. **Biomacromolecules**, v. 5, p. 942- 949, 2004.

JORGE, N. **Química e tecnologia de óleos vegetais** São Paulo: Cultura Acadêmica: Universidade Estadual Paulista, Pró-Reitoria de Graduação, 2009.

KATHURIMA, C.W. et al. Evaluation of beverage quality and green bean physical characteristics of selected Arabica coffee genotypes in Kenya. **African Journal of Food Science**, v. 3, n. 11, p. 365-371, 2009.

KITZBERGER, C.S.G. et al. Diterpenos em café verde e torrado de cultivares de *Coffea arabica* crescendo nas mesmas condições edafoclimáticas. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 30, p. 52-57, 2013.

KOSKEI, K. R.; PATRICK, M.; SIMON, M. Effects of coffee processing technologies on physic-chemical properties and sensory qualities of coffee. **Academic Journals**, v. 9, n 4, p. 230-236, 2015.

KIM, H. G. et al. The coffee diterpenes kahweol inhibits tumor necrosis factor- alpha- induced expression of cell adhesion molecules in human endothelial cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 217, n.3, p. 332- 341, 2006.

KRIS- ETHEERTON, P. M.; HECHER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSHI, A. E.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. E.; ETHEERTON, T. D. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, v. 113, n. 9, p. 71-88, 2002.

KRUMREICH, F. D.; BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; JANSEN-ALVES,C.; ZAMBIAZI, R. C. Bioactive compounds and quality parameters of avocado oil obtained by different processes. **Food Chemistry**, v. 257, p. 376- 381, 2018.

LAGO, R. C. A. Lípidios em grãos de café. **Boletim do Ceppa**, v. 19, n. 2, p. 319-340, 2001.

LEE, J. M.; CHUNG, H.; CHANG, P. S.; LEE, J. H. Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 662- 669, 2007.

LEITE, C.L. **Aceitação e preferência por cafés submetidos a diferentes métodos de extração de cafeína**. 2009. Dissertação (Mestrado em Nutrição em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, 2009.

LEÓN, K.; MERY, D.; PEDRESCHI, F.; LEÓN, J. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. **Food Research International**, v. 39, p.1084-1091, 2006.

LEME, D. S.; SILVA, S. A., BARBOSA, B. H. G.; BORÉM, F. M.; PEREIRA, R. G. F. A. Recognition of coffee roasting degree using a computer vision system. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 156, p. 312–317, 2019.

LIMA, A. R. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; ABRAHÃO, S. A.; DUARTE, S. M. S.; PAULA, F. B. A. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 20-24, 2010.

LIU, Y.; KITTS, D. D. Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews. **Food Research International** , v. 44, p. 2418-2424, 2011.

LOVEDAY, S. M.; SARKAR, A.; SINGH, H. Innovative yoghurts: Novel processing technologies for improving acid milk gel texture. **Trends in Food Science & Technology**, v. 33, n. 1, p. 5-20, 2013.

LUCEY, J.A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. **Food Research International**, v. 30, n. 7, p. 529-539, 1998.

MALTA, M. R. Processamento e qualidade do café. **Informe Agropecuário**, 2011, 32, 261, 7-16. Disponível em: <http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_agropecuario/ia_cafe_producao_qualidade.pdf>. Acesso em: 16 de out 2020.

MALTA, M. R.; CHAGAS, S.J. de R. **Colheita, preparo e secagem do café**. In: REIS, P.R.; CUNHA, R.L. da (Ed.). *Café arábica: do plantio à colheita*. Lavras: U.R. EPAMIG S.M., 2010.

MARCUCCI, C. T. et al. Teores de trigonelina, ácido 5-cafeoilquínico, cafeína e melanoidinas em cafés solúveis comerciais Brasileiros. **Química Nova**, v. 36, n. 4, p. 544–548, 2013.

MAUL, A. A.; WASICKY, R.; BACCHI, E. M. Extração por fluido supercrítico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n. 2, 1996.

MAYER, F.; CZEMY, M.; GROSCHE, W. Sensory study of the character impact aroma compounds of a coffee beverage EUR. **Food Research Technology**, v. 211, p. 272- 276, 2000.

MAZZAFERA, P. et al. Extraction of green coffee oil using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 44, p. 186- 192, 2008.

MELO, W. L. B. **A importância da informação sobre o grau de torra do café e suas características organolépticas da bebida**. Brasília: EMBRAPA, 2004. (Comunicado Técnico).

MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n.1, p. 27-30, 2001.

MONTEIRO, M.A.M. **Caracterização da bebida de café (Coffea arábica L.): análise descritiva quantitativa, análise tempo-intensidade e testes afetivos**. 2002. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

MOREIRA, A. S. et al. Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. **Food & Function**, v. 3, n. 9, p. 903-915, 2012.

MOREIRA, I. et al. Efeito do solvente na extração de ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina em *Coffea arabica*. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 39-43, 2014.

MORGANO, M.A. et al. Determinação de umidade em café cru usando espectroscopia NIR e regressão multivariada. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 12-17, 2008.

NARITA, Y.; INOUE, K. Chlorogenic Acids from Coffee. In: PREEDY, V. (Ed.). **Coffee in Health and Disease Prevention**. London: Academic Press. 1 ed. 2015. p. 189– 199.

NATURE'S FLAVORS. Disponível em: <<http://www.Naturesflavors.com/coffee.oils.html>>. Acesso em: 18 de janeiro de 2021.

NIKOLOVA-DAMYANOVA, B.; VELIKOVA, R.; GULAB, N.J. Lipid classes, fatty acid composition and triacylglycerol molecular species in crude coffee beans harvested in Brazil. **Food Research International**, v. 31, p. 479-486, 1998.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006.

OLIVEIRA, A. L.; CABRAL, F. A.; EBERLIN, M. N.; CORDELLO, H. M. A. B. Sensory evaluation of black instant coffee beverage with some volatile compounds present in aromatic oil from roasted coffee. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.1, p. 76-80, 2009.

OLIVEIRA, A. L.; CRUZ, P. M.; EBERLIN, M. N.; CABRAL, F. A. Brazilian roasted coffee oil obtained by mechanical expelling: compositional analysis by GC- MS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 677-682, 2005.

OLIVEIRA, E. M.; LEME, D.S.; BARBOSA, B.H.G.; RODARTE, M. P.; PEREIRA, R.G.F.A. A computer vision system for coffee beans classification based on computational intelligence techniques. **Journal Food Engineering**, v.171, p. 22-27, 2016.

OLIVEIRA, E.R.M.; MOURA, B.S.; COELHO, G.L.V. Análise de flavor por microextração em fase sólida (SPME). **Revista Universidade Rural**, v. 27, n.1, p.1-9, 2007.

OLIVEIRA, A. L. et al. Sensory and yield response surface analysis of supercritical CO₂ extracted aromatic oil from roasted coffee. **Journal of Food Science and Technology**, v. 38, p. 38-42, jan. 2001.

OLIVEIRA, P. M. A. **Óleo de grãos de café verde obtido por extração supercrítica, extração com fluido pressurizado e comparação de sua composição com o óleo de café extraído pelos pequenos produtores do estado de São Paulo** – análise da concentração de compostos bioativos. 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

ORDOÑEZ, J.A. et al. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PATEL, V. R.; DUMANCAS, G. G.; VISWANATH, L. C. K.; MAPLES, R.; SUBONG, B. J. Castor Oil: Properties, Uses, and Optimization of Processing Parameters in Commercial Production. **Lipid Insights**. v. 9, p. 1-12, 2016.

PERRONE, D.; FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 4265- 4275, 2012.

PERRONE, D., FARAH, A., DONANGELO, C. M., DE PAULIS, T., & MARTIN, P. R. Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. **Food Chemistry**, v. 106, p. 859- 867, 2008.

PETISCA, C.; PÉREZ, T.; FARAH, AD; PINHOA, O.; FERREIRA, I. Furans and other volatile compounds in ground roasted and espresso coffee using headspace solid-phase microextraction: effect of roasting speed **Food Bioprod. Process.**, v. 9, p. 233- 241, 2013.

PIMENTA, C.J.; ANGÉLICO, C.L.; CHALFOUN, S.M. Challenges in coffee quality: Cultural, chemical and microbiological aspects. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 4, p. 337-349, 2018.

PRIOR, R. L.; XIANLI, W.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v. 53, p. 4290- 4302, 2005.

PROBAT. **Manual de aplicaciones en la industria del café**. Reim, Germany, 2008.

QUAST, L. B.; AQUINO, A. D. Oxidação dos lipídios em café arábica (*Coffea arábica* L.) e café robusta (*Coffea canephora* P.) **B.CEPPA**. v.22, n.2, p.325-336, 2004.

RABA, D. N.; POIANA, M. A.; BOROZAN, A. B.; STEF, M. ; RADU, F.; POPA, M. V. Investigation on crude and high- temperature heated coffee oil by ATRFTIR Spectroscopy along with antioxidant and antimicrobial properties. **PLoS ONE**, v. 10, n. 9, 2018.

RABELO, M. H. S. **Limiar de percepção sensorial da presença de grãos Quakers em café natural especial**. Lavras: UFLA, 2016. Dissertação (mestrado acadêmico) –Universidade Federal de Lavras, 2016.

RICHARD, T.; LEFEUVRE, D.; DESCENDIT, A.; QUIDEAU, S.MONTI, J. P. Recognition characters in peptide–polyphenol complex formation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**. v. 1760, n. 6, p. 951- 958, 2006.

RIBEIRO, F. C. ; BORÉM F. M.; GIOMO, G. S.; LIMA, R. R.; MALTA, M. R.; FIGUEIREDO, P. F. Storage of green coffee in hermetic packaging injected with CO₂ . **Journal of Stored Products Research**, v. 47, p. 341- 348, 2011.

RIBEIRO, J. F. A.; BOSI, M. G.; LUCIA, S. M. D. Análise sensorial de iogurte elaborado com diferentes concentrações de extrato de café. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 1, p. 26-37, 2017.

RIBEIRO, J. M. **Estudo da composição química e das atividades antioxidante e antibacteriana dos óleos extraídos dos grãos de café (*Coffea arabica*) cru e torrado**. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Programa de Pós-Graduação em Química, Diamantina, 2015.

ROBERTS, D.D.; POLLIEN, P.; MILO, C. Solido-phase microextraction methods development for headspace analysis of volatile flavor compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2430-2437, 2000.

RIBEIRO, J. S.; AUGUSTO, F.; SALVA, T. J.; THOMAZIELLO, R. A.; FERREIRA, M. M. Prediction of sensory properties of Brazilian Arabica roasted coffees by headspace solid phase microextraction-gas chromatography and partial least squares. **Anal. Chim. Acta**, v. 634, p. 172- 179, 2009.

ROBERT, N. F. **Dossiê técnico – Fabricação de iogurtes**. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Rede tecnológica do Rio de Janeiro – REDETEC. Julho de 2008. Disponível em: <<http://www.sbvt.ibict.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MzIw>>. Acesso em: agosto de 2020.

RODARTE, M. P. ; ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; MALTA, M. R. Compostos não voláteis em cafés da região sul de Minas submetidos a diferentes pontos de torração. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 5, p. 1366-1371, 2009.

RODRIGUES, M. A. A. et al. Evaluation of physical properties of coffee during roasting: agricultural engineering international the CIGR. **Journal of Scientific Research and Development**, v. 5, p. 1-12, 2003.

RYAN, D.; SHELLIE, P.; TRANCHIDA, P.; CASILLI, A.; MONDELLO, L.; MARRIOTT, P. Analysis of roasted coffee bean volatiles by using comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry **J. Chromatogr. A**, v. 1054, p. 57- 65, 2004.

SACCHETTI, G.; MATTIA, C. D.; PITTIA, P.; MASTROCOLA, D. Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 74- 80, 2009.

SALDAÑA, M. D. A.; MAZZAFERA, P.; MOHAMED, R. S. Extração dos alcalóides: cafeína e trigonelina dos grãos de café com CO₂ SUPERCRÍTICO. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 4, 1997.

SANCHES, M. Z. .; SILVA NETO, E. de S. .; UENO, C. T.; SHIRAI, M. A. .; SAKANAKA, L. S. . Roasted coffee oil (*Coffea arabica*): Characterization of fatty acids, qualification of aromatic compounds and quantification of caffeine content. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e76291110618, 2020.

SATO, Y.; ITAGAKI, S.; KUROKAWA, T.; OGURA, J.; KOBAYASHI, M.; HIRANO, T.; et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 403, p.136- 138, 2011.

SCREENATH, H. L. Development of caffeine in free coffee varieties. **Indian Coffee**, v. 61, n. 10, p. 13-14, 1997.

SCHENKER, S.; ROTHGEB, T. **The roast: creating the beans' signature**. Amsterdam: Academic Press, 2017.

SCHOLZ, M. et al. Sensory attributes and physico-chemical characteristics of the coffee beverage from the IAPAR cultivars. **Coffee Science**, v. 8, n. 1, p. 6-16, 2013.

SEMEN, S.; MERCAN, S.; YAYLA, M.; AÇIKKOL, M. Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. **Food Chemistry**, v. 215, p. 92–100, 2017.

SHINGHARA, A.; MACKU C.; SHIBAMOTO, T. **Atividade antioxidante de extratos de café fermentado. Em alimentos funcionais para prevenção de doenças II: Plantas medicinais e outros alimentos**, Symposium Series ACS, American Chemical Society, Washington, p. 101 - 109, 1998.

SHPIGELMAN, A.; ISRAELI, G.; LIVNEY, Y. D. Thermally-induced protein-polyphenol co-assemblies: Beta lactoglobulin-based nanocomplexes as protective nanovehicles for EGCG. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 735-743, 2010.

SIEBERT, K. J.; TROUKHANOVA, N. V.; LYNN, P. Y. Nature of polyphenol-protein interactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 80- 85, 1996.

SIQUEIRA, H. H.; ABREU, C. M. P. Composição físico-química e qualidade do café submetido a dois tipos de torração e com diferentes formas de processamento. **Ciência e Agrotecnologia** , v. 30, n. 1, p. 112-117, 2006.

SILVA, J. R. **Otimização do processo de torração por meio de monitoramento de parâmetros físicos propriedades sensoriais**. 2008. Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2008.

SILVA, L. S. S.; SOUZA, M. C. C.; KITZBERGER, C. S. G.; SCHOLZ, M. B. S. Caracterização do óleo de café com diferentes teores de diterpenos. Em: **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, Curitiba- PR, 2015.

SIMÕES, A. S. **Segmentação de imagens por classificação de cores: uma abordagem neural**. 2000. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

SIVETZ, M. **Coffe processing technology**. Westport, 1963.

SIVETZ, M.; DESROSIER, N. W. **Coffee technology**. Westport, 1979.

SCHMIDT, C.A.P.; MICLIORANZ A, É. Análise sensorial e o café: uma revisão. **Revista Científica Inovação e Tecnologia**, v. 1, n. 2, p. 21- 28, 2010.

SOARES, W. L.; SILVA, T. M.; JUNIOR FRANCO, K. S.; BRIGANTE, G. P. Qualidade do café arábica por diferentes granulometrias. **Ciência Agrícola**, v. 17, n. 1, p. 31-35, 2019.

SOUSA, C. M. D. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOMPORN, C. ; KAMTUO, A.; THEERAKULPISUT, P. ; SIRIAMORNPUN, S. Efeitos do grau de torrefação na atividade de eliminação radical, fenólicos e compostos voláteis de grãos de café arábica (*Coffea arabica* L. cv. Catimor) **Revista Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 46, p. 2287 - 2296, 2011.

SPEER K., KOLLING- SPEER, I. The lipid fraction of the coffee bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 201- 216, 2006.

SIDES, A.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S. Developments in the extraction techniques and their application to analysis of volatiles in foods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 19, n. 5, p. 322-329, 2000.

STELMACH, E.; POHL, P.; MADEJA, A. S. The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. **Food chemistry**, v. 182, p. 302- 308, 2015.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263- 269, 2014.

ŚWIECA, M.; GAWLIK-DZIKI, U.; DZIKI, D.; BARANIAK, B. Wheat bread enriched with green coffee – in vitro bioaccessibility and bioavailability of phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1451–1457, 2017.

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

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. **Food Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 219-227, 1984.

TURRATTI, J. M. (2001). Extração e caracterização de óleo de café. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Vitória, 2001. **Resumos expandidos**. Brasília: EMBRAPA Café, 1533-1539.

UEJO NETO, E. Sutilezas do ton- sur- ton da torra do café. **Jornal do café**, n. 162, p. 58- 59, 2008.

VALENZUELA, A.; NIETO, S. Synthetic ad natural antioxidants: food quality protectors. **Grasas y Aceites**, v. 47, n.3, p. 186-196, 1996.

VALENTE, A.L.P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, v. 23, n. 4, 2000.

VIDAL, A. M. C. **Obtenção e processamento do leite e derivados**. 2018. Tese (Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos)- Universidade de São Paulo, 2018.

VIDAL, H.M. **Composição lipídica e a qualidade do café (Coffea arábica L.) durante armazenamento**. 2001. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa- Viçosa, 2001.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G. Determinação de ácidos carboxílicos e fenólicos em café solúvel utilizando HPLC/DAD. **Revista Analytica**, v. 27, p.76-79, 2007.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G., BENASSI, M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**, v. 124, p. 863- 868, 2011.

VIGNOLI, J. A.; VIEGAS, M.C.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International**. v. 61, p. 279- 285, 2014.

VOYTENA, A. P L. et al. Phytochemical Profile and in vitro Assessment of the Cytotoxicity of Green and Roasted Coffee Oils (Coffea arabica L.) and their Polar Fractions. **Records of natural products**, v. 12, n. 2, p. 169- 174, 2018.

WANG, X.; LIM, L. **Physicochemical characteristics of roasted coffee**. Ed.- Coffee in health and disease prevention. London: Elsevier, 2015.

WAGEMAKER, T. A. L.; SILVA, S. A. M.; LEONARDI, G. R.; CAMPOS, P. M. B. G. Green *Coffea arabica* L. seed oil influences the stability and protective effects of topical formulations. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 34- 40, 2015.

WOLSKA, J. et al. Levels of antioxidant activity and fluoride content in coffee infusions of arabica , robusta and green coffee beans in according to their brewing methods. **Biological Trace Element Research**, v. 179, n. 2, p. 327–333, 2017.

YANAGIMOTO, K.; OCHI, H.; LEE, K. G.; SHIBAMOTO, T. Antioxidative activity of heterocyclic compounds found in coffee volatiles produced by Maillard reaction . **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 592- 596, 2004.

YEO, J. D.; JEONG, M. K.; LEE, J. H. Application of DPPH absorbance method to monitor the degree of oxidation in thermally-oxidized oil model system with antioxidants. **Food Science and Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 253- 256, 2010.

YEO, J. D.; JEONG, M. K.; LEE, J. H Correlation of antioxidant content and absorbance changes of DPPH during lipid oxidation. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 1, p. 199-203, 2012.

ZAIN, M. Z. M.; BABA, A. S.; SHORI, A. B. Effect of polyphenols enriched from green coffee bean on antioxidant activity and sensory evaluation of bread. **Journal of King Saud University - Science**, v. 30, n. 2, p. 278–282, 2018.

ZANIN, R. C. et al. Good cup quality roasted coffees show wide variation in chlorogenic acids content. **LWT - Food Science and Technology**, v. 74, p. 480–483, 2016.

ZEFERINO, L. B. et al. Efeito da concentração de sólidos solúveis do extrato de café conilon no índice de refração, na densidade e na viscosidade do extrato. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, p. 1- 11, 2010.

Capítulo II. Evaluation of physical parameters of green and roasted arabica coffee using the Scilab® free software

O segundo capítulo foi submetido na revista Coffee Science, descreve a composição física e química dos grãos de cafés crus e torrados utilizados no estudo.

EVALUATION OF PHYSICAL PARAMETERS OF GREEN AND ROASTED ARABICA COFFEE USING THE SCILAB® FREE SOFTWARE

ABSTRACT

The physical and chemical parameters of coffee beans make it possible to assess beverage quality before and after the roasting process. Currently, the use of software as a tool provides the verification and compilation of graphics, resulting in a better visualization of techniques and data separation. The physical parameters of soft, hard and rio coffees were evaluated regarding type, sieve and color, and the chemical composition was represented by moisture content, ether extract, protein, ash, soluble solids and total titratable acidity. Different roasting levels were assessed for the beverages and the parameters color and mass loss were verified. The results were analyzed with the aid of the Sisvar software and graphics were plotted using the Scilab® free software. Rio coffees showed lower physical classifications in relation to type and showed a darker color; for sieving, all showed a higher percentage of flat coarse beans. The moisture content showed values according to the current legislation; ether extract, protein content and ash were as expected. The rio beverage had lower levels of soluble solids and higher total titratable acidity. After the roasting process, the parameters L^* , b^* , C^* and H^* showed a decrease, since the mass loss increased with the roasting level, but there was no difference between beverages. The samples were well located within the roasting scopes and

L* was the parameter that best differentiated the samples, thus constituting an important factor for determining the roasting point.

Index terms: *Coffea arabica* L., quality, roasting, color, free software.

INTRODUCTION

Coffee represents one of the main crops of economic importance in Brazil. It is estimated that production for this year will be approximately 46.88 million processed bags and, of this total, approximately 68% corresponding to Arabica coffee (Conab, 2021).

Among the main producing and exporting states is the state of Minas Gerais, with emphasis on the Southern region (Alves et al., 2011). The region has climatic conditions, favorable water demand for plant development, in addition to the production of coffees with peculiar characteristics, and has dozens of coffee producing and processing farms, also constituting a pole of companies related to the coffee sector (Carvalho et al., 2007; Barbosa et al., 2010; Toledo, 2019).

Coffee quality is directly related to the physical characteristics and chemical composition of raw beans: through this factor, it is possible to infer about the behavior of these coffees during the roasting process (Borém, 2008; Oliveira et al., 2013).

The physical evaluation of coffee is described through Normative Instruction N°8 (IN8) of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA), which classifies coffee according to category, subcategory, group, subgroup, class, type, granulometry, aroma, flavor, beverage and color. Classification by type is performed by counting the beans containing extrinsic and intrinsic defects in a sample containing 300 grams of processed coffee. Defects are separated and counted using the Official Classification Table; equivalence is then made and the type of coffee is determined (Brasil, 2003; Pimenta et al., 2018).

The classification regarding shape and size aims to guarantee a uniform roasting process by separating the beans before roasting. A set of sieves is used to separate the beans according to shape (mocha or flat) and size (large, medium or small) (Brasil, 2003; Soares et al., 2019; Pimenta et al., 2018).

The classification for color is divided into eight classes: bluish green, sugarcane green, green, yellowish, yellow, brown, leaded, whitish and discrepant (Brasil, 2003). As the color classification describes nuances very close to coloring, only a trained panelist can identify differences between the colors of the raw beans, but there are objective methods for these evaluations such as colorimeters. The three-dimensional color system of the *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE, 1986), called CIE Lab, is a noticeably uniform system, in which the Euclidean distance between two different colors corresponds approximately to the color difference perceived in the human eye (Hunt, 1991).

Through this system, color parameters are evaluated, such as L^* , which represents sample luminosity, varying from 0 to 100; values close to zero are darker, while those close to 100 are lighter. Other chromatic components such as a^* and b^* range from +120 to -120 where, $+a^*$ indicates red and $-a^*$ green; for parameter $+b^*$, it is yellow and $-b^*$, blue. The chroma component C^* indicates sample saturation and H° corresponds to the tone or hue, which indicates color variation in the plane formed by the coordinates a^* and b^* (Bicho et al., 2012).

According to Ribeiro et al. (2011), color has a great economic importance, since discolored beans receive a lower market price. Oliveira et al. (2013) observed significant sensory differences between different coffee beverages. Better quality coffees retain their characteristic color, while poorer coffees undergo oxidative reactions, with consequent bleaching.

The chemical composition of Arabica coffee beans depends on genetic and environmental factors, besides pre- and post-harvest management conditions (Abrahão et al., 2008). The perceived acidity in coffee, for example, is influenced by climatic conditions during harvest and drying, place of origin, type of processing and ripening stage (Siqueira; Abreu, 2006). For Carvalho et al. (1994), the total titratable acidity of processed coffee beans has an inverse relationship with beverage quality.

Soluble solids are parameters capable of determining the content of solids in a coffee sample. According to Lopes et al. (2000), a high content of soluble solids can ensure beverage body, thus yielding a good quality beverage.

Other important chemical constituents for determining the characteristics of raw Arabica coffee beans are: moisture, lipid, protein and ash content. Moisture content is a relevant parameter that predicts processing and storage conditions. Coffees with very high moisture contents can allow the activity of microorganisms and enzymes, in addition to altering the sensory characteristics of the product (Morgano et al., 2008).

The lipids present in raw beans are precursors of the organoleptic characteristics of post-roasted coffee (Borém, 2008). Gurlart et al. (2007) observed that higher quality coffees have integral walls and membranes with a higher lipid concentration in these places whereas, for lower quality coffees, these concentrations were greater in the center of the cell. With regard to coffee bean proteins, these are free in the cytoplasm or may be linked to a cell wall polysaccharide (Toci; Farah; Trugo, 2006). For Abic (2016), the raw bean has a wide variety of minerals such as potassium, magnesium, calcium, sodium, iron, among others.

One of the most important processes in the formation of the aroma and flavor of coffee is roasting; during this process, the coffee beans are subjected to high temperatures in a controlled time. This process generates a series of physical, chemical and sensory changes

(Gabriel-Guzmán et al., 2017; Schenker; Rothgeb, 2017; Caporaso et al., 2018; Craig et al., 2018).

For the determination of the end-point of roasting, some indicators are used to predict the roasting level, such as color, aroma, volume and temperature of the beans (Hernandez et al., 2008). The color can vary from light brown to dark, as a function of the level of pyrolysis reactions and malanoidin formation (Cid; Peña, 2016; Schenker; Rothgeb, 2017; Gabriel-Guzmán et al., 2017).

According to Cid and Peña (2016), the use of colorimeters to determine color using the color parameters L^* , a^* , b^* , C^* and H^* provides a quick method of evaluating the roasting point. Another physical parameter for a quick verification of the roasting process is the calculation of mass loss, as darker roasted beans lead to a greater mass loss, compared to lighter roasted beans (Schenker; Rothgeb, 2017).

Currently, the use of software to detect physical parameters of coffees is gaining relevance. Leme et al. (2019) used the Matlab[®] software and compiled a mathematical model to identify roasting levels.

Free software has the advantage of not generating costs, such as the Scilab[®], which corresponds to a software for scientific computing that presents a high-level programming language and provides an environment focused on the development of programs for solving numerical problems (Kwong, 2016; Campbell et al., 2006). It is a highly used tool in Engineering and provides easy data separation, in addition to providing a better understanding of methods and techniques (Kwong, 2016; Buksman et al., 2019; Sanches et al., 2013; Almeida et al., 2012).

This study aimed to identify the physical and chemical behavior of arabica coffees of different beverage types and analyze the physical parameters after the roasting process in order to distinguish the roasting types using the Scilab[®] Software.

MATERIAL AND METHODS

Collection and physical evaluation of samples

Commercial samples of soft, hard and rio coffees of the species *Coffea arabica* L., harvest 2019/2020, processed dry were acquired from Cooperativa Regional dos Cafeicultores de Poços de Caldas. Each treatment containing 20 samples of 3Kg.

The experiment was conducted at the Soil Analysis Laboratory of IFSuldeMinas - Inconfidentes Campus. The samples were homogenized and quartering was performed, obtaining 300g for the physical classification related to type. Thus, the samples were submitted to a new quartering, reducing them to 100g to determine the sieve based on Normative Instruction N°8; the process was carried out in triplicate (Brasil, 2003).

These samples were analyzed for color parameters (L^* , a^* , b^* , C^* and H°) with the aid of a digital colorimeter CM-2300 Konica Minolta - Illuminant D65 (Konica Minolta, Japan) previously calibrated with a white dish. The samples were placed in a 60-mm Petri dish for reading and calculating the parameters according to the methodology described by Bicho et al. (2012). Readings were performed at 10 points in the samples to allow the calculation of the mean of these parameters.

Chemical evaluation of raw coffee beans

The moisture content was evaluated in an oven at 105 °C, according to the Association of Official Analytical Chemists – AOAC (1995), with modifications. The analyses of ether

extract, protein (using 6.25 as a correction factor) and ash were carried out according to the AOAC (1995).

An extract was prepared from 10g of sample in 100mL of distilled water; they were subjected to stirring for 15 minutes using a magnetic stirrer at 150 rpm. Subsequently, they were filtered through No. 3 Whatman filter paper. The content of soluble solids was read on a digital refractometer (Atago Pal-1 digital – Atago, USA). Total titratable acidity was determined according to the AOAC methodology (1995). All analyses were performed in quadruplicate.

Evaluation of the roasting process of the samples

For the roasting process, the samples of each beverage (soft, hard and rio) were divided into 20 plots containing 300 grams.

The samples were roasted in a laboratory roaster (T2BL Pinhalense) in different roasting degrees: light, medium and dark. The initial temperature of the thermometer coupled to the roaster was 150 °C; subsequently, the beans were inserted in the cylinder, with a decrease of approximately 25 °C due to the temperature difference between the beans and the interior of the roaster. Thermal equilibrium was achieved after a few minutes. The average roasting time was approximately 10 minutes for light roasting, 12 minutes for medium and 14 minutes for dark.

The shade of the final color of the beans was visually determined and subsequently measured with the aid of a colorimeter. Readings of color parameters were performed according to item (Collection and physical evaluation of samples).

At the end of the roasting process, the mass loss Δm was calculated to verify the roasting level, according to Bicho et al. (2012).

Statistical analysis and graph plotting

For statistical analysis, the software Sisvar version 5.6 (Ferreira, 2014) was used, and analysis of variance (Anova) was performed, when a difference was detected by the F test ($p < 0.05$); a Tukey test was then applied at 5% probability.

The software Scilab[®] 6.1.0. was used for the construction of three-dimensional and two-dimensional graphs, using color parameters as vectors. In addition, values of L^* , a^* and b^* were determined to constitute scopes for each roast.

RESULTS

Physical analysis

The results obtained after classification regarding type are shown in Table 1.

Table 1. Physical classification for type.

Samples	DEFECTS												
	Extrinsic							Intrinsic					
	H	St	Bf	Co	S	Bl	G	So	B	Br	Bg	Sh	TYPE
SB	-	-	-	-	-	-	-	14	8	Clean= 2	-	-	2
HB	5	-	4	-	-	29	14	48	102	Clean= 8 Dirty= 12	19	23	6
RB	5 1	3	-	1	6	146	9	208	103	Clean= 41 “Rendado”= 3 Dirty= 40	-	-	Out of type

Caption: SB- soft beverage, HB- hard beverage, RB- rio beverage, H- husk, St= stick, Bf= bean fragment, Co= coconut, S= stone, Bl= black, G= green, So.= sour, B= broken, Br= brocade, Bg= badly grained and Sh= shell.

The results obtained after the physical classification using the sieves are shown in Table 2 below.

Table 2. Classification results for sieve.

Samples	Big flat (%)	Medium flat (%)	Small flat (%)	Mocha (%)	Bottom (%)
SB	86.630a	13.110a	0.190a	0.069a	0a
HB	58.145b	32.526b	7.448b	1.770b	0.111a
RB	55.119b	35.748c	7.691b	1.009b	0.433b

Caption: SB- soft beverage, HB- hard beverage, RB- rio beverage

*Means followed by the same letter, within the same column, do not differ by the Tukey test at 5% probability ($P < 0.05\%$).

The color parameters of the coffee beans obtained after evaluation are shown in Table 3.

Table 3. Color parameters of raw coffee beans.

Samples	L*	a*	b*	H*	C*
SB	47.560 $\pm$ 2,847a	5.183 $\pm$ 1,722a	30.400 $\pm$ 1,878a	80.433 $\pm$ 2,644a	30.864 $\pm$ 2,096a
HB	51.508 $\pm$ 4,135 a	2.530 $\pm$ 0,858b	26.685 $\pm$ 1,858b	84.661 $\pm$ 1,495b	26.812 $\pm$ 1,924b
RB	42.532 $\pm$ 4,935b	4.270 $\pm$ 1,565ab	28.925 $\pm$ 2,280ab	81.773 $\pm$ 2,571ab	29.262 $\pm$ 2,455ab

Caption: SB- soft beverage, HB- hard beverage, RB- rio beverage.

*Means($\pm$ standard deviation) followed by the same letter, within the same column, do not differ by the Tukey test at 5% probability ($P < 0.05\%$).

Chemical analysis of raw coffee beans

Table 4 presents the results obtained after chemical analyses.

Table 4. Chemical composition of raw arabica coffee beans.

Samples	Moisture (%)	Ether extract (%)	Proteins (%)	Ash (%)	TTA (*)	SS (% dry matter)
SB	11.1960 $\pm$ 0,542a	16.8718 $\pm$ 1,033a	8.87485 $\pm$ 1,072a	4.3494 $\pm$ 0,388a	133.4994 $\pm$ 15,607a	42.8093 $\pm$ 3,632a
HB	11.6622 $\pm$ 1,271ab	15.6447 $\pm$ 0,631a	11.5408 $\pm$ 0,567b	5.0535 $\pm$ 1,202a	126.3643 $\pm$ 20,003a	41.4961 $\pm$ 4.601a
RB	12.4157 $\pm$ 3,533b	16.4239 $\pm$ 1,219a	9.6845 $\pm$ 1,629ab	4.8810 $\pm$ 1,494a	159.3790 $\pm$ 11,547b	36.3107 $\pm$ 4,260b

Caption: SB- soft beverage, HB- hard beverage, RB- rio beverage.

*mL of 0.1 N NaOH /100 g sample.

**Means($\pm$ standard deviation) followed by the same letter, within the same column, do not differ by the Tukey test at 5% probability ($P < 0.05\%$).

Roasting Process

Table 5 shows the results obtained through the analysis of colorimetry and mass loss after the roasting process.

Table 5. Results of color parameters after the roasting process

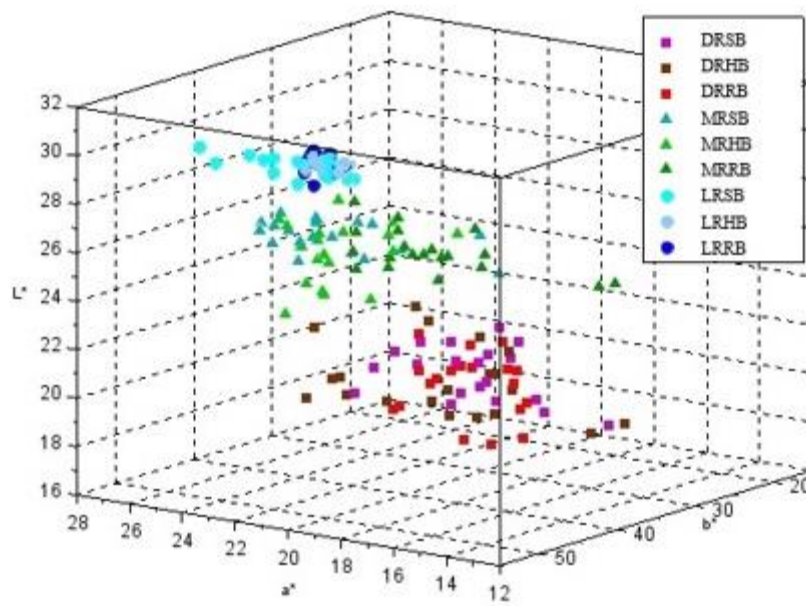
Samples	L*	a*	b*	C*	H*	Δm (%)
LRSB	30.4590 $\pm$ 0,526a	20.6005 $\pm$ 0,403ab	50.9225 $\pm$ 0,473a	54.9413 $\pm$ 0,494a	67.9881 $\pm$ 0,494a	11.980 $\pm$ 0,756a
LRHB	30.6340 $\pm$ 0,342a	19.9275 $\pm$ 0,476abc	50.1560 $\pm$ 0,392a	53.9716 $\pm$ 0,360a	68.3324 $\pm$ 0,534a	13.127 $\pm$ 0,362a
LRRB	30.5840 $\pm$ 0,261a	20.5000 $\pm$ 0,329ab	49.2980 $\pm$ 0,078a	53.3908 $\pm$ 0,137a	67.4558 $\pm$ 0,332ab	13.125 $\pm$ 0,678a
MRSB	26.6700 $\pm$ 0,919b	21.6455 $\pm$ 2,295b	43.6255 $\pm$ 1,433b	48.7730 $\pm$ 1,790b	63.6112 $\pm$ 2,382bc	15.078 $\pm$ 0,956b
MRHB	25.9505 $\pm$ 1,658b	21.7710 $\pm$ 1,973b	43.1545 $\pm$ 2,784b	48.4012 $\pm$ 1,861b	63.1289 $\pm$ 3,435bc	14.519 $\pm$ 1,023b
MRRB	26.7168 $\pm$ 1,036b	17.7668 $\pm$ 2,958c	43.9332 $\pm$ 2,169b	47.4323 $\pm$ 2,941b	68.0307 $\pm$ 2,941a	15.641 $\pm$ 0,319b
DRSB	20.4153 $\pm$ 1,474c	19.2758 $\pm$ 2,976ac	33.7811 $\pm$ 3,828c	38.9560 $\pm$ 2,746c	60.3090 $\pm$ 6,347c	16.870 $\pm$ 0,521c
DRHB	19.7570 $\pm$ 1,771c	20.7720 $\pm$ 3,271ab	31.4325 $\pm$ 5,308c	38.1223 $\pm$ 3,623c	55.7075 $\pm$ 7,894d	18.909 $\pm$ 2,071c
DRRB	20.1595 $\pm$ 1,089c	19.0975 $\pm$ 1,750ac	33.2585 $\pm$ 3,703c	38.4637 $\pm$ 2,572c	59.9648 $\pm$ 4,958cd	16.693 $\pm$ 0,251c

Caption: LRSB- light roast, soft beverage, LRHB- light roast, hard beverage, LRRB- light roast, rio beverage, MRSB- medium roast, soft beverage, MRHB- medium roast, hard beverage, MRRB- medium roast, rio beverage, DRSB- dark roast, soft beverage, DRHB- dark roast, hard beverage and DRRB- dark roast, rio beverage.

*Means($\pm$ standard deviation) followed by the same letter, within the same column, do not differ by the Tukey test at 5% probability ($P < 0.05\%$).

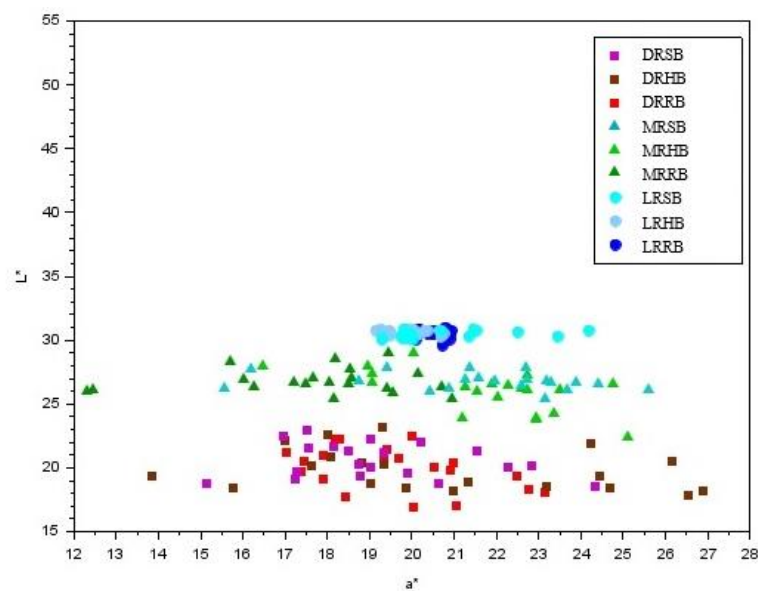
Graph 1 shows the location of the samples after the roasting process. The samples showed good separation between the different roast, despite differences in the beverage.

It is important to observe that the color consists of the formation of the three parameters (L^* , a^* and b^*); therefore, a three-dimensional view facilitates the verification of the correct roasting point.



Graph 1. Samples of different beverages in light, medium and dark roasting.

For a better visualization of the separation between the samples in the different roasting processes, Graph 2 was constructed, expressing the parameter L^* versus a^* .



Graph 2. Color parameters L^* and a^* of roasted coffee samples.

DISCUSSION

Physical analysis

As presented in Table 1, soft coffees did not present extrinsic defects (husk, stick, bean fragment, coconut and stone); for intrinsic defects, the presence of defects sour, broken and brocade was observed, but there was an absence of defects black and green. When making the equivalence using the Official Brazilian Classification Tables according to IN8, the soft beverage presented type 2. For hard coffees, the extrinsic defects found were husk and bean fragment, and the intrinsic ones corresponded to black, green, sour and broken, in addition to brocade and, when performing the defect equivalence, the result obtained was type 6. The rio beverage presented extrinsic (husk, stick, coconut and stone) and intrinsic (black, green, sour, broken and brocade) defects, and the number of beans exceeded the limit of 50 black beans and 100 sour beans and coffee was, therefore, classified as out of type (Brasil, 2003).

The presence of a high number of defects in the samples of rio beverage indicates problems during pre- and post-harvest handling. The black and sour beans defects that are in high concentration in these samples are indicative of complications: for sour unripe fruit harvest, delayed harvest and fruit contact with the ground and for blacks delayed harvest and fruit contact with the soil (Malta, 2011).

According to Giomo; Borém (2011), the presence of beans that present some type of defect, such as green, black and sour beans, are considered abnormalities, since they are related to some problem that occurred during the production process. Defects such as brocade, broken, impurities and foreign matter also present a high risk to coffee quality.

In general, coffee quality can be affected by several factors, but the presence of defective beans, especially black, green and sour, have an extremely negative influence during roasting and on beverage quality (Coelho and Pereira, 2002; Malta, Pereira and Chaga 2005; Malta,

2011). According to Farah et al. (2006), the addition of these defects leads to a reduction in coffee quality, also changing the chemical and sensory composition after the roasting process.

Soft, hard and rio coffees showed a higher percentage of flat beans (Table 2), which shows a good physical parameter of these coffees. However, the samples belonging to soft beverage were statistically different from hard and rio beverages, which were the same. Soft, hard and rio coffees of medium sieve were statistically different; however, for the flat small beans and mocha, the soft samples were different from hard and rio beverages at 5% significance. The bottom was the same for soft and hard beverages, and statistically different from rio.

In botany, the coffee fruit is considered a drupe, arising from the growth of a bilocular ovary. When mature, it has two stores that normally contain two plano-convex seeds that, in practice, are called flat-type grains. For genetic or environmental reasons one or two seeds may fail to develop or abort, resulting later in fruit with one or two empty stores. When this occurs in only one store and early in fruit development, the other store, which contains a normal embryo and endosperm, develops and occupies the entire volume of the ovary. Consequently, it results in a fruit that contains only an ovoid grain known as a mocha grain (Malta, 2011).

Mocha fruits occur most frequently on the tips and ends of the branches. The percentage of mocha also varies with the year, with the production, nutritional status and even with the variety (Medina Filho; Bordignon, 2003).

It is important to emphasize that large beans normally have preference in the market, as this characteristic is an indicator of bean development, since environmental factors that cause stress to plants, such as lack of water and unbalanced nutrition, interfere with bean size and, for this reason, large coffee beans can yield a better beverage (Giomo; Borém, 2011).

The parameter L^* , corresponding to luminosity (Table 3), presented higher values for soft and hard beverages, indicating lighter tones, whereas the rio beverage presented lower values, suggesting it to be darker. The color parameters a^* , b^* , C^* and H° were the same between soft and rio beverages and between hard and rio beverages, but soft and hard beverages were statistically different at 5% significance. The values of parameters a^* and b^* positive and H^* in the first quadrant indicate that all samples had orange tones.

The color of raw grains is quite variable, depending on the place of production, processing system (natural, peeled, pulped or demucilated), drying, storage time and conditions, presence of defects, among others (Pimenta et al., 2018; Giomo; Borém, 2011). The results regarding the darkening of the samples of rio beverage may have occurred due to several factors, but the high amount of defects present in the samples of rio beverage indicate that this may have been the primary factor. Defects of an intrinsic nature such as black, burnt, black green, brocades and extrinsic such as bark, sticks and stones can lead to darkening of the sample and appear due to improper conduction of processes during crop management at harvest and post-harvest (Malta, 2011).

According to Silva et al. (2008) the physical classification based on color, type and cup proof can be complemented with the adoption of chemical and physico-chemical methods that facilitate the evaluation of the condition of the coffees.

Chemical analysis of raw coffee beans

Raw arabica coffee beans (Table 4) showed an equal moisture content between soft and hard beverages, and hard and rio beverages. However, soft and rio samples were statistically different. The moisture content of processed raw coffee beans cannot exceed the maximum tolerance limits of 12.5% (twelve and a half percent); thus, the samples were within the limits established by IN°8 (Brasil, 2003).

For ether extract and ash content (Table 4), the samples were equal through the statistical test. The content of ether extract in arabica coffee varies according to the geographical origin of the plants, but it should be between 12 and 16% (Mazzafera et al., 1998; Folstar, 1985; Martinez et al., 2014). According to Goulart et al. (2007), better quality coffees, such as soft coffees, may have a higher lipid content if they have integral walls and membranes, and poorer coffees if they have any break in the walls or membranes and may express lower contents, in addition to greater concentration in the center of the cell.

The ash content is directly related to the type of processing, soil conditions and the use of fertilizers; the total ash values of the samples had similar results, close to 4% as reported by Clarke (1985).

The results obtained for proteins (Table 4) showed that the rio beverage was statistically equal to soft and hard, but there was a difference between soft and hard beverages. According to Toci; Farah and Trugo (2006), the protein content in the beans can vary from 8.7 to 16%; the majority is soluble in water. For Oliveira (2006), there is no evidence to indicate that the protein content of coffees of different qualities must be significantly different. It is important to observe that the results were based on the determination of raw nitrogen and multiplication by the factor 6.25, thus including caffeine and trigonelline nitrogen.

Regarding the total titratable acidity and content of soluble solids (Table 4), the soft and hard samples had statically equal values, but they were different from rio samples.

The higher levels of total titratable acidity present in samples of rio beverage are due to the high level of defects (Pimenta et al., 2018). In fact, problems related to poor conditions used throughout the production process can trigger the appearance of defects, which lead to increased acidity and consequent loss of quality (Borém et al., 2008). Thus, acidity can be influenced by

several factors such as unfavorable weather conditions during harvesting and drying, place of origin, type of processing and stage of maturation (Siqueira, Abreu, 2006).

The soluble solids content was lower in the river beverage, which indicates bad conditions during processing, since higher amounts of solids are desired for coffees, for industrial yield and to guarantee a full-bodied beverage. This solid fraction is composed of water and soluble compounds such as sugars, acids, vitamin C and some pectins, which may vary according to the type of processing, cultivar (different cultivars submitted to the same type of processing) and stage of maturation (Borém et al. ., 2008; Pimenta et al., 2018).

According to Pinto et al. (2002), the best beverages, such as strictly soft, soft, just soft and hard, have higher contents of soluble solids, while lower-quality coffees such as rio and “riado” exhibit greater acidity. For Abrahão et al. (2010), the final quality of the coffee beverage has a high correlation with the chemical composition of the green bean, suggesting that lower quality coffees have lower levels of sugars and higher total titratable acidity. According to Franca et al. (2005), the low quality of coffee provides a high acidity and this factor can be probably due to fermented beans.

Roasting Process

Through the statistical evaluation (Table 5), it is possible to observe that the different types of roasting were well identified even in beverages that present a difference in quality, and this is possible to visualize mainly through the parameters L^* , b^* and C^* .

According to Schenker and Rothgeb (2017), for an average roast, the value of L^* should be close to 26, indicating an average roast. It is possible to that, for lighter roast, these values tend to increase and the opposite will occur for darker roast.

The parameters L^* , b^* , C^* and H^o (Table 5) suffered a significant decrease with the increase in the intensity of the roasting process and were similar in the different beverages. The values of the parameter a^* were close among the samples; this is an important factor to highlight, as it shows that beverages of different qualities showed a similar behavior during the roasting process.

The obtained results corroborate with Bicho et al. (2012) for the parameters L^* , b^* , C^* and H^o , which also decreased as roasting intensity increased.

The mass variation (Table 5) of coffees caused by the roasting process can vary between approximately 12 and 20%, as a function of factors such as genetic origin, initial moisture, type of storage and, mainly, the roasting level. In general, a greater loss occurs at the beginning of the process due to bean dehydration and evaporation, while the loss of organic matter will happen at more advanced stages (Bicho et al., 2012; Schenker; Rothgeb, 2017).

Sivetz (1963) reports that the percentages of mass loss vary between 13% for light roast; 15% for medium roast and 17% for dark roast.

The samples in light roast were closer; however, in medium and dark roast, the samples were more spaced. Through Graph 1, it is clear to demonstrate the positioning of the samples and the difference between the roasting processes, facilitating the visualization of the samples in the color space.

In clear roast, all plots were positioned within the scope; in medium roast, two plots of rio beverage and one of hard beverage were outside the scope. In dark roast, although more widely spaced, only two hard beverage samples were positioned outside the scope.

Graph 2 yielded better sample allocation with regard to the roasting process, as the values of parameter a^* are close between the samples, the parameter L^* became determinant

for a better identification of the roasting point. Therefore, it is possible to recognize that, although the color space facilitates color identification and the scope reached by the samples, parameter L^* indicates the roasting point reached and, through this point, it is possible to discern the roasting level regardless of beverage quality. The obtained results corroborate those of Bicho et al. (2012), who describe that L^* and H° are reliable and easy to use parameters in the study of color changes that occur during roasting.

CONCLUSION

The physical and chemical behavior of coffees showed differentiation mainly between beverages with high quality difference. Samples of different beverages showed a similar behavior when the same roasting level was applied, revealing that color and mass loss are decisive physical parameters of in roasting.

The free software Scilab[®] proved to be an effective tool in the compilation of graphics for detecting the roasting point. In addition, the parameter L^* proved to be decisive in the identification of the roasting level.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was carried out with the support of the Federal Institute of Science, Education and Technology (Campus Inconfidentes) and the State University of Campinas.

REFERENCES

ABRAHÃO, S.A. et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 43 (12): 1799–1804, dez. 2008.

ABRAHÃO, S.A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 34 (2): 414–420, mar./abr. 2010.

ALMEIDA, E.S.; MEDEIROS, A.C.; FRERY, A.C. How good are MatLab, Octave and Scilab for computational modelling? **Computational & Applied Mathematics**, São Carlos, 31, 3, 2012.

ALVES, H.M.R. et al. Características ambientais e qualidade da bebida dos cafés do estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, 32 (261): 7-16, 2011. Available at: <http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_agropecuaria/ia_cafe_producao_qualidade.pdf>. Accessed on: Oct, 19, 2020.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis. 16 ed. Washington: AOAC, 1995. 2 v.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **Café e saúde: café e composição química**. Available at: <<http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=161&sid=81>>. Accessed on: Oct, 20, 2020.

BARBOSA, J.N. et al. Spatial distribution of coffees from Minas Gerais state and their relation with quality. **Coffee Science**, Lavras, 5 (3): 237-250, Sept./Dec. 2010.

BICHO, N.C. et al. Use of colour parameters for roasted coffee assessment. **Food Science and Technology**, Campinas, 32 (3): 436-442, 2012.

BORÉM, F.M. et al. Processamento e secagem dos frutos verdes do cafeeiro. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, 9: 19- 24, 2006.

BORÉM, F. M. Processamento do café. In: BORÉM, F. M. **Pós colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008. 631p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº8**, de junho de 2003. Aprova o regulamento técnico da identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru. Brasília, 2003. Available at: <<http://www.ministerio.gov.br>>. Accessed on: Jul, 8, 2020.

BUKSMAN, E. et al. Experimentando con Arduino y Scilab: propagación de calor en una barra metálica. **Revista Brasileira Ensino Física**, São Paulo, 41, 4, 2019.

CAMPBELL, S. L.; CHANCELIER, J. P.; NIKOUKHAH, R. Modeling and simulation in Scilab/Scicos. **Nova York**: Springer, 2006.

CARVALHO, L.G. et al. Clima. In: SCOLFORO, JR; CARVALHO, LMT de; OLIVEIRA, AD de (Org.). **Zoneamento econômico ecológico de estado de Minas Gerais**: componente geofísico e biótico. Lavras: UFLA, 2007. CD-ROM.

COMMISSION INTERNACIONALE DE L'ECLAIRAGE (CIE). **Colorimetry**. 2. ed. Viena: Central Bureau of the CIE, 1986. 78 p.

CIE Colorimetry (2nd ed). Wien, Austria: **CIE Central Bureau Kegelgasse** Publication n° 15.2.1986. 27 A-1030, 2016.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de café. V. 8 - SAFRA 2021 - N.3 - Terceiro levantamento | SETEMBRO 2021. Available at: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>. Accessed on: Oct, 13, 2021.

CAPORASO, N. et al. Variability of single bean coffee volatile compounds of Arabica and robusta roasted coffees analysed by SPME-GC-MS. **Food Research International**, Barking, 108: 628-640, 2018.

CARVALHO, V.D. et al. Relações entre a composição físico-química e química do grão beneficiado e da qualidade de bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 29 (3): 449-454, 1994.

CID, M.C.; PEÑA, M.P. Coffee: analysis and composition. **Encyclopedia of Food and Health**, Kidlington, p. 225-231.

CLARKE, R. J. Conteúdo de água e minerais. In: CLARKE, R.J.; MACRAE, R. (Eds.). **Café, I : Química**. Londres; Nova York: Elsevier Applied Science Publishers Co Ltd., 1985. p. 42-82.

COELHO, K.F.; PEREIRA, R.G.F.A. Influência de grãos defeituosos em algumas características químicas do café cru e torrado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 26 (2): 375-384, mar./abr. 2002.

CRAIG, A.P. et al. Mid infrared spectroscopy and chemometrics as tools for the classification of roasted coffees by cup quality. **Food Chemistry**, Barking, 245: 1052- 1061, Apr. 2018.

FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of brazilian coffee. **Food Chemistry**, Oxford, 98 (2): 373-380, 2006.

FOLSTAR, P. Lipids. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Eds.). **Café, I : Química**. Londres; Nova York: Elsevier Applied Science Publishers Co Ltd., 1985. p. 203-222. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-009-4948-5_6>. Accessed on: Nov, 17, 2020.

FRANCA, A.S. et al. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, 90: 84-89, 2005.

GABRIEL-GUZMÁN, M. et al. Fractality in coffee bean surface for roasting process. **Chaos, Solitons & Fractals**, Oxford, 99: 79-84, June 2017.

GIOMO, G.S.; BORÉM, F.M. Cafés especiais no Brasil: opção pela qualidade. **Informe Agropecuário**, 2011, 32, (261): 7-16. Available at: http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_agropecuário/ia_cafe_producao_qualidade.pdf>. Accessed on: Out, 16, 2020.

GOULART, P.F.P. et al. Aspectos histoquímicos e morfológicos de grãos de café de diferentes qualidades. **Ciência Rural**, 37 (3): 662-666, 2007.

HERNÁNDEZ, J.; HEYD, B.; TRYSTRAM, G. On-line assessment of brightness and surface kinetics during coffee roasting. **Journal of Food Engineering**, London, 87 (3): 314-322, 2008.

HUNT, R.G. Colour displays and colorimetry. In: TOWNSEND, K.G.; JACKSON, G.B.; TV and video engineer's reference book. **Oxford: Butterworth-heinemann**, 9, 1991. 1-12p.

KATHURIMA, C.W. et al. Evaluation of beverage quality and green bean physical characteristics of selected Arabica coffee genotypes in Kenya. **African Journal of Food Science**, 3 (11): 365-371, Nov. 2009.

KWONG, W.H. Resolvendo problemas de engenharia química com software livre Scilab. **São Carlos: EduUFSCar**, 2016. 667p.

LEME, D.S. et al. Recognition of coffee roasting degree using a computer vision system. **Computers and Electronics in Agriculture**, Amsterdam, 156: 312-317, Jan. 2019.

LINGLE, T.R. SCAA Arabica Green Coffee: defect handbook. **Long Beach:** Specialty Coffee Association of America, 2011. 29p.

LOPES, M.V. Avaliação da qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, 25: 3-8, 2000. Número especial.

LOPES, R.P; HARA, T.; SILVA, J.S. Avaliação da qualidade de grãos de café pela colorimetria. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, MG, 6 (3): 160- 169, 1998.

MALTA, M.R. Processamento e qualidade do café. **Informe Agropecuário**, 32, (261): 7-16, 2011. Available at: http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_agropecuario/ia_cafe_producao_qualidade.pdf>. Accessed on: Out, 16, 2020.

MARTINEZ, H.E.P. et al. Nutrição mineral do cafeeiro e qualidade da bebida. **Revista Ceres**, Viçosa, 61: 838-848, 2014.

MAZZAFERA, P. et al. Oil Content of green beans from some coffee species. **Bragantia**, (57): 45-48, 1998.

MEDINA FILHO, H.P.; BORDIGNON, R. Rendimento intrínseco: critério adicional para selecionar cafeeiros mais rentáveis. **O Agrônomo**, Campinas, 55(2): 24-27, 2003.

MORGANO, M.A. et al. Determinação de umidade em café cru usando espectroscopia NIR e regressão multivariada. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, 28 (1): 12-17, jan.-mar. 2008.

OLIVEIRA, P.D. et al. Aspectos fisiológicos de grãos de café, processados e secados de diferentes métodos, associados à qualidade sensorial. **Coffee Science**, Lavras, 8 (2): 211-220, 2013.

OLIVEIRA, L.S. et al. Proximate composition and fatty acids profile of green and roasted defective coffee beans. **LWT - Food Science and Technology**, Trivandrum, 39 (3): 235-239, Apr. 2006.

PIMENTA, C.J.; ANGÉLICO, C.L.; CHALFOUN, S.M. Challenges in coffee quality: Cultural, chemical and microbiological aspects. **Ciência e Agrotecnologia**, 42 (4): 337-349, Jul/Aug. 2018.

PINTO, N.A.V.D. et al. Avaliação de componentes químicos de padrões de bebida para o preparo de café expresso. **Ciência e Agrotecnologia**, 26: 826-829, 2002.

RIBEIRO, F.C. et al. Storage of green coffee in hermetic packaging injected with CO₂. **Journal of Stored Products Research**, Sapele, 47 (4): 341- 348, Oct. 2011.

SANCHES, R.D.; AMBROSIO, R.C.; ANGELUCCI, C.A. Integração numérica de leis de velocidade diferenciais com o uso do SCILAB. **Química Nova**, São Paulo, 36, 1, 2013.

SCHENKER, S.; ROTHGEB, T. The roast: creating the beans' signature. In: FOLMER, B. **The craft and science of coffee**. Amsterdam: Academic Press, 11: 245-271, 2017.

SILVA, D.H.; SILVA, T.J. **Revista CEPPG - CESUC** - Centro de Ensino Superior de Catalão, Ano XVI nº 28, 1º Semestre/2013.

SILVA, A. C. et al. Produtividade e potencial hídrico foliar do cafeeiro Catuaí, em função da época de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 12:21- 25, 2008.

SIQUEIRA, H.H.; ABREU, C.M.P. Composição físico-química e qualidade do café submetido a dois tipos de torração e com diferentes formas de processamento. **Ciência e Agrotecnologia**, 30 (1): 112-117, 2006.

SIVETZ, M. Coffe processing technology. **Westport**, 2 (379):162-186, 1963.

SOARES, W.L. et al. Qualidade do café arábica por diferentes granulometrias. **Ciência Agrícola**, Rio Largo, 17 (1): 31-35, 2019.

TOLEDO, E.F.T. Cafeicultura e desenvolvimento territorial: as cooperativas de café no sul de Minas Gerais. **Caderno de Geografia**, 29, Número Especial 2, 2019.

TOCI, A.; FARAH, A.; TRUGO, L.C. Efeito do processo de descafeinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés arábica e robusta antes e após a torração. **Química Nova**, São Paulo, 29 (5): 965-971, set./out. 2006.

Capítulo III- Influence of beverage quality and roasting process on the fatty acid profile and aromatic composition of Arabica coffee oils obtained by mechanical cold pressing.

O terceiro capítulo descreve a extração dos óleos de café bem como o seu rendimento, composição química (acidez e índice de peróxidos), análise do perfil de ácidos graxos e componentes aromáticos.

ABSTRACT

The present study aimed to study Arabica coffee oils extracted by mechanical cold pressing from soft, hard and rio beverage quality from green beans and light, medium and dark roasts. Extraction yield and the indices of acidity and peroxides were analyzed, besides the fatty acid composition measured by gas chromatography with a flame ionization detector (GC- FID) and volatile organic compounds (VOCs) evaluated by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME). The extraction yield was higher in medium and dark roast oils (ranging from 7.143 to 7.984%). To obtain a yield closer to severe roast samples, the cakes for extracting coffee green and light roast oils had to recirculate eight and three times, respectively. The oil acidity indices (AI) ranged from 1.8635 to 3.8215% oleic acid, with an increase inversely proportional to the beverage quality and directly to the roast intensity. The peroxide index (PI) had the same behavior, with the detail that green coffee oils presented a high peroxide index. The main fatty acids identified were linoleic (53.396-57, 412%), palmitic (23.679-25.024%), oleic (8.075-9.409%), stearic (3.605-4.142%), linolenic (1.922-2.163%) and arachidic (1.007-1.164%). VOCs in coffee oils belong mainly to the furans and pyrazines family. The composition and characteristics of these oils reveal how appealing they are to the food and pharmaceutical industries.

Key words: *Coffea arabica* L., coffee oil, roasting, beverage quality, volatile compounds, fatty acids.

1. Introduction

Coffee represents one of the main crops traded in the world. The oil extracted from green and roasted coffee beans consists primarily of triacylglycerols with fatty acids (around 75% of mass) in a similar proportion to that found in common vegetable oils (Speer & Kolling-Speer; 2001; Speer & Kolling-Speer, 2006; Ferrari et al., 2010; Oliveira et al., 2006).

The chemical composition of green and roasted coffee oil has been the subject of much investigation (Ferrari et al., 2010; Speer, Kolling-Speer, 2006; Raba et al., 2015; Hartman et al. 1968; Voytena et al., 2018; Budryn et al., 2012; Hurtado-Benavides et al., 2016; Ramirez, 2008). The chemical components of coffee oils are highly dependent on the characteristics of coffee beans and are related to the processing conditions, beverage quality, type of roasting procedure and method used for oil extraction.

Among the physical methods of oil extraction, the most common for food is the cold mechanical pressing process or expeller pressing, which uses high pressure for the oil extraction (López, 2007). Generally, the process of extracting roasted coffee oil obtained through mechanical cold pressing uses poorer quality coffee, even with defects, and roasted to a medium degree. The ideal is to promote the oil extraction right after the roasting process rest since the oil present in the roasted beans does not undergo the oxidation process. Moreover, roasted coffee beans are often used in the cold mechanical press to avoid clogging during the pressing process since the cake recirculation process depends on the coffee roasting level. The oil obtained is also purified afterward (Sanches, 2016; Cooxupé, 2021).

López (2007) and Oliveira et al. (2006) observed a better yield in coffee oil extracted from roasted beans than green beans. Turrati (2001) and Budryn et al. (2012) affirm that the

roasting process applied to the beans before oil extraction facilitates this operation since the coffee beans present water evaporation, carbohydrates breakdown, free amino acids, proteins and evaporation of other products of their composition.

Roasted coffee oil is a viscous, brown liquid with tonality related to the applied roasting point and pleasantly intense coffee aroma (Ferrari et al., 2010). Ryan et al. (2004) and Hurtado-Benavides et al. (2016) described some compounds such as ketones, pyrazines, furans, phenols, pyrroles, pyridines, lactones, thiophenes, thiazoles and carboxylic acids as the main substances present in roasted coffee oil. Several authors emphasize that the volatile compound profile in coffee oil can vary according to the place of cultivation, botanical variety and especially to coffee roasting degree and type, which have a huge impact on the oil aroma (Calligaris et al., 2009; González et al., 2011; Budryn et al., 2012).

Another chemical constituent present in coffee oils is the content of fatty acids, which can be considered as a chemical decipher through which the coffee varieties can be told apart (Nikolova-Damyanova et al., 1998; Hurtado-Benavides et al., 2016). Mazzafera et al. (2008) observed that the main fatty acids found in green and roasted coffee oils are palmitic and linoleic acids. Linoleic acid has been considered a potent marker to tell apart coffee samples from different environmental conditions (Pereira et al., 2015; Romano et al., 2014). Studies show the presence of saturated and unsaturated fatty acids in coffee oils, mainly stearic, palmitic, oleic, linoleic, linolenic and arachidic acid (Oliveira et al., 2005; Kobelnik et al., 2014; Hurtado-Benavides et al., 2016).

Despite the chemical composition of coffee oils having been studied in several works, in the literature, very few data is available regarding the beverage quality and roasting point to which the coffee beans went through before the oil extraction process. Since there is a need to carry out such investigations, this study aims to evaluate the extraction process yield, acidity

and peroxide index, fatty acids and volatile compound content present in coffee oils from different beverages (soft, hard and rio) and roasting processes (light, medium and dark), besides the coffee green oils.

2. Material and Methods

2.1 Material

2.1.1 Sample

Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) samples from the crop 2019/2020 of soft, hard and rio beverage qualities were roasted at the light (Agtron 76), medium (Agtron 61) and dark (Agtron 44) levels. Then, along with the green coffee samples, they were weighed and had their oils extracted using a 40kg/h capacity continuous press by Ecirted of the Regional Coffee Growers Cooperative of Guaxupé (Cooxupé).

2.2 Methods

2.2.1 Yield

The samples were weighed before and after the oil extraction and had their volume measured with a graduated cylinder. Thus, the yield was calculated according to Equation 1:

$$Y(\%) = \left(\frac{Volume}{Mass} \right) \times 100 \quad \text{Equation 1}$$

Where: *Y* represents the yield in percentage, *Volume* given in mL and *Mass* in grams.

2.2.2 Acidity and peroxide indices

The American Oil Chemists' Society (1992) standards were applied to determine the acidity (AI) and peroxide (PI) indices, being expressed in percentage (%) of oleic acid and mEq.O₂ /Kg, respectively.

2.2.3 Fatty acid analysis

The composition of fatty acid methyl esters (FAME) was extracted with n-heptane by transesterification using a methanolic potassium hydroxide solution as described by ISO 12966-4:2015.

The chromatographic analysis was carried out on an Agilent 7890A apparatus (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a split/splitless injector, a column DB-23 (60m × 0.25mm id., 0.25 µm film thickness) (Agilent J&W Scientific Inc., Folsom, CA, USA) and a flame ionization detector (FID). Injector and detector temperatures were kept at 250 and 280 °C, respectively. Hydrogen was the carrier gas at a flow rate of 1.0 mL/min. The flow rate of detector gas was 30/30/300 mL/min for H₂/N₂/synthetic air. The oven temperature was set at 50°C for the first minute, increasing to 175°C at a rate of 25°C per min, then to a final temperature of 223°C at a rate of 6°C per min and held for 25 min. Samples were injected in triplicate (n = 3) in split mode with a division ratio of 1:50 and injected volume of 1.0 µL. The results were calculated by the internal chromatographic peak normalization and expressed as a relative percentage of each fatty acid peak area, comparing the retention time of the FAME peak samples with the standards under the same experimental conditions, using the Supelco 37 FAME Mix for identification.

2.2.4 Evaluation of volatile compounds

Volatile organic compounds (VOCs) were determined by Gas Chromatography with Headspace Solid-Phase Microextraction using Flame Ionization Detector (HS-SPME-GC-FID). For analysis, 0.5g oil was placed in an 8mL flask, added with 1µL aqueous (Z)-3-hexenyl acetate (10µg/mL) as an internal standard, and hermetically sealed according to Abdelwareth et al. (2021). The flasks were shaken in a Speed Shaker at 300 rpm and heated at 65°C in an incubation time of 10 minutes. The SPME fiber chosen was the triple fiber

DVB/CAR/PDMS(divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane) from Supelco (Bellefonte, USA) with an extraction time of 20 minutes.

For VOCs separation and detection, the Shimadzu GC 17A version 3 system (Shimadzu Scientific Corporation, Kyoto, Japan) equipped with a VF-WAXms column (60 m x 250 μ m x 0.5 μ m, J & W Scientific Agilent, USA) was used. The oven was set to an initial temperature of 60°C then raised to 240°C at a rate of 3°C/min. The carrier gas was helium with an initial temperature of 250°C at a flow of 1mL/min. The compounds were identified using the retention time and the calculated linear retention indices (LRIs), considering a variation (Δ) of up to 30 between the calculated and tabulated values with a minimum match of 80%, regarding the relative retention rates reported by the NIST-Webbook, Supelco and Wiley 15 database. The concentration was measured in mg/kg and quantified from the internal standard according to Abdelwareth et al. (2021). The results express the average of three injections of each sample (Hurtado-Benavides et al., 2016; González et al., 2011; Bastidas, 2011 and Gonzalez-Rios et al., 2007).

2.2.5 Statistical analysis

The results of this study correspond to the average of three repetitions $\pm$ standard deviations. The analysis of variance ANOVA was carried out using the Sisvar statistical software developed by Ferreira (2014). Significant differences between means were compared by the Tukey test at a 5% probability level ($p < 0.05$). A principal component analysis (PCA) and a hierarchical cluster analysis (HCA) were applied using Past statistical software version 4.03 for sample analysis. PCA was applied to separate samples according to variable values based on linear correlations. HCA was based on the Euclidean metric to evaluate the sample similarities concerning the studied variables, and Ward's method formed and suggested groups of similar samples.

3. Results and discussion

3.1 Yield and Indices of acidity and peroxides

To obtain oil volumes similar in all treatments, the green coffee samples from all beverage qualities went through the extractor eight times, the light roast ones three times, and the medium and dark roast samples only once.

Table 1. Results of yield and indices of acidity and peroxides in coffee oils.

Coffee oil samples	Initial weight of coffee beans (Kg)	Oil extraction yield (%)	AI (% oleic acid)*	PI (mEq.O ₂ /Kg)*
Green coffee soft beverage oil – GS	15.9	6.35	1.86 ± 0.27 ^a	4.86 ± 0.07 ^{abc}
Green coffee hard beverage oil – GH	15.8	6.42	2.39 ± 0.19 ^{ab}	5.30 ± 0.61 ^{abc}
Green coffee rio beverage oil – GR	15.2	6.61	3.44 ± 0.21 ^{cd}	6.85 ± 1.64 ^{bc}
Light roast soft beverage oil – LS	14.1	6.67	2.68 ± 0.07 ^{abc}	2.87 ± 0.57 ^a
Light roast hard beverage oil – LH	14.4	6.74	2.44 ± 0.12 ^{ab}	3.94 ± 0.01 ^{ab}
Light roast rio beverage oil – LR	13.9	7.34	3.38 ± 0.01 ^{cd}	4.13 ± 0.04 ^{ab}
Medium roast soft beverage oil – MS	13.5	7.78	2.53 ± 0.67 ^{abc}	3.30 ± 1.17 ^a
Medium roast hard beverage oil - MH	14.0	7.14	3.00 ± 0.41 ^{bcd}	5.36 ± 0.59 ^{abc}
Medium roast rio beverage oil – MR	13.5	7.56	3.67 ± 0.01 ^d	6.65 ± 0.01 ^{bc}
Dark roast soft beverage oil – DS	13.6	7.61	3.63 ± 0.04 ^d	4.07 ± 0.01 ^{ab}
Dark roast hard beverage oil – DH	12.9	7.98	3.68 ± 0.44 ^d	5.74 ± 1.18 ^{abc}
Dark roast rio beverage oil - DR	13.2	7.65	3.82 ± 0.05 ^d	7.40 ± 0.03 ^c

*Means(± standard deviation) followed by the same letter do not differ by the Tukey test at 5% probability (P<0.05%).

The oil extraction yields (Table 1) report that the roasting process affects the extraction phase since the dark and medium roasted coffees were cold pressed only once and yielded the highest oil content for promoting the opening and release of oil from the interior of the beans. It was more difficult to extract oil in green and light roast samples than in severe roasts since they had to go through the extractor more times to obtain similar and satisfactory yields.

The heat applied during the roasting process helps the oil ooze from inside the beans and facilitates the pressing process in achieving better yields (Turrati, 2001). According to Budryn et al. (2012), this increment in more severe roasts is due to greater evaporation of water and decomposed products from the breakdown of carbohydrate, free amino acid and protein. Oliveira et al. (2006) also observed a relative increase in oil content during the roasting process.

López (2007) obtained a yield of 8.78% in the extraction of roasted coffee oil through cold pressing. Differences in oil yield reported in the literature are probably related to botanical variety, raw material, processing equipment, besides the coffee roasting process.

Ramirez (2008), using the Soxhlet extraction, found extraction yields between 6.10 and 9.83% to light and dark roasting degrees, respectively, corroborating the highest yield results for the darker roast samples in our work. Although the Soxhlet technique favors an increase in extraction yield, solvent traces are observed in the oil, hindering the application in food products (Reverchon et al., 2006; Hurtado-Benavides et al., 2016).

Hurtado-Benavides et al. (2016) extracted oil from Colombian coffee using a supercritical fluid process in their study and observed a yield of 8.89% under optimal temperature and pressure conditions. This process is advantageous for increasing yield and compounds of interest, nonetheless, it is expensive because of the equipment cost, so that low-added-value and low-yielding products cannot be economically extracted using it (Maul, Wasicky and Bacchi, 1996).

The acidity index (AI) in Table 1 reports the highest values for the dark roast samples, with the green oils presenting the lowest levels, especially the green coffee soft beverage oil. Soft, hard and rio beverages increased AI directly proportional with the roasting severity. Concerning beverage quality, in general, lower quality beverages had higher acidity levels (Pinto et al., 2002; Abrahão et al., 2010; Franca et al., 2005). The medium roast samples could be taken as an example of AI increase with the beverage quality decrease (medium roast soft beverage 2.53%, medium roast hard beverage 3.00% and medium roast rio beverage 3.67%). Thus, it is notorious that oil acidity increased as the beverage quality decreased and toasting intensity increased.

The AI values in our study corroborate the results reported by Raba et al. (2015) and Hartman et al. (1968), nonetheless, with a reduced elevation in all rio beverage oil and dark roast oil samples, as well as in the medium roast hard beverage oil.

Peroxide index (PI) is a quality parameter used to evaluate the oil production, storage and marketing processes. Furthermore, this content provides information concerning oil oxidation degree and a measure of the total amount of peroxides as primary oxidation products (Raba et al., 2015). The lowest PI was in the light roast soft beverage oil and the highest in the dark roast rio beverage oil. The heat of the roasting process probably led to greater production of primary oxidation hydroperoxide compounds, promoting higher PI values in samples of the same beverage quality but different roasting points. Another important fact is that the worst beverage quality coffees provided oils with high PI, probably due to pre- and post-processing conditions, which constitute the final quality of the beverage. The conditions to which the coffees go through the production chain may cause changes that affect the bean quality (Pimenta et al., 2018; Oliveira et al., 2006) and, consequently, the oil.

Therefore, similarly to what occurred in the AI, the PI increased as the beverage quality worsened and the roasting intensity increased, except for the green oil samples that showed high values. The elevated amount of recirculation during the oil extraction phase may have caused the PI increase. Nevertheless, the PI values, shown in Table 1, were below the established limit of 10 meq O₂/Kg for edible oils.

3.2 Fatty acid composition

Table 2 shows the fatty acid composition of Arabica coffee oils obtained under the conditions studied. All samples presented linoleic acid (C_{18:2n6c}) and palmitic acid (C₁₆) varying from 53.40 to 57.41% and 23.68 to 25.02%, respectively, as the principal fatty acids. In average proportion there are stearic (C₁₈ - 3.61- 4.14%), oleic (C_{18:1n9c}-8.08- 9.41%), linolenic (C_{18:3n3}-

1.92-2.16%) and arachidic (C₂₀-1.01-1.16%) acids. In lower percentages were found the following acids: caproic (C₆-3.61- 4.14%), myristic (C₁₄-0.08- 0.09%), pentadecanoic (C₁₅-0.03- 0.04%), palmitoleic (C_{16:1}-0.04- 0.05%), margaric (C₁₇-0.18-0.23%), eicosenoic (C_{20:1n9}-0.02- 0.40%), eicosadienoic (C_{20:2}-0.05- 0.07%), heneicosanoic (C₂₁-0.03- 0.03%), behenic (C₂₂ - 0.20- 0.25%) and lignoceric (C₂₄-0.09- 0.10%) acids. The acids heptadecenoic (C_{17:1}-0.004/0.005 - GH, LH, LR, MH and DS) and gamma-linolenic (C_{18:3n6}-0.005/0.014 - GH, LS, LH, LR, MH, DH, and DR) were found at low values in a few samples.

Similar results were obtained for oils from green and roasted coffee in different conditions (Turrati, 2001; Voytena et al., 2018; Raba et al., 2015; Getachew and Chun, 2016; Hurtado-Benavides et al., 2016; Ahangari & Sargolzaei, 2013).

Table 2. Fatty acid composition in percentage area of green and roasted oil samples of *Coffea arabica* L.

	C6	C14	C15	C16	C16 :1	C17	C17 :1	C18	C18 :1n 9c	C18: 2n6c	C18 :3n 6	C18 :3n 3	C20	C20 :1n 9	C20 :2	C21	C22	C24
GS	0.20 ± 0.02	0.08 ± 0.00	0.03 ± 0.00	24.5 0 ± 0.17	0.04 ± 0.00	0.20 ± 0.01	-	4.14 ± 0.02	9.41 ± 0.05	54.9 7 ± 0.59	-	1.98 ± 0.07	1.15 ± 0.00	0.37 ± 0.01	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.24 ± 0.01	0.09 ± 0.01
GH	0.10 ± 0.02	0.09 ± 0.00	0.03 ± 0.00	25.0 2 ± 0.04	0.04 ± 0.00	0.23 ± 0.01	0.01 ± 0.00	3.95 ± 0.02	9.29 ± 0.16	54.9 8 ± 0.20	0.01 ± 0.00	2.16 ± 0.01	1.10 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.09 ± 0.01
GR	0.17 ± 0.02	0.09 ± 0.00	0.03 ± 0.00	23.6 8 ± 0.53	0.04 ± 0.00	0.20 ± 0.00	-	3.61 ± 0.09	8.08 ± 0.19	55.4 9 ± 1.41	-	1.94 ± 0.05	1.01 ± 0.03	0.38 ± 0.02	0.06 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.22 ± 0.01	0.10 ± 0.00
LS	0.11 ± 0.02	0.08 ± 0.00	0.03 ± 0.00	24.8 2 ± 0.05	0.05 ± 0.00	0.18 ± 0.00	-	4.05 ± 0.02	9.11 ± 0.03	54.9 6 ± 0.17	0.01 ± 0.00	2.03 ± 0.01	1.16 ± 0.01	0.38 ± 0.01	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.25 ± 0.00	0.09 ± 0.00
LH	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.03 ± 0.00	24.9 9 ± 0.12	0.04 ± 0.00	0.20 ± 0.00	0.01 ± 0.00	3.91 ± 0.02	9.09 ± 0.07	54.8 9 ± 0.33	0.01 ± 0.00	2.16 ± 0.01	1.10 ± 0.01	0.37 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.24 ± 0.01	0.09 ± 0.00
LR	0.15 ± 0.03	0.09 ± 0.00	0.03 ± 0.00	24.1 5 ± 0.11	0.04 ± 0.00	0.19 ± 0.00	0.01 ± 0.00	3.61 ± 0.01	8.10 ± 0.07	56.9 2 ± 0.07	0.01 ± 0.00	1.94 ± 0.00	1.03 ± 0.00	0.40 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.22 ± 0.00	0.10 ± 0.00
MS	0.14 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.04 ± 0.01	24.4 0 ± 0.09	0.04 ± 0.00	0.20 ± 0.01	-	4.06 ± 0.01	9.20 ± 0.04	55.2 9 ± 0.16	-	2.04 ± 0.00	1.13 ± 0.00	0.38 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.24 ± 0.00	0.09 ± 0.00
MH	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.03 ± 0.00	24.3 9 ± 0.89	0.04 ± 0.00	0.19 ± 0.01	0.00 4 ± 0.00 0	3.80 ± 0.14	8.84 ± 0.33	53.3 9 ± 1.89	0.01 ± 0.00	2.09 ± 0.07	1.07 ± 0.03	0.35 ± 0.01	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.24 ± 0.02	0.09 ± 0.00

MR	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.03 ± 0.00	24.5 2 ± 0.03	0.04 ± 0.00	0.19 ± 0.00	-	3.61 ± 0.02	8.09 ± 0.06	57.4 1 ± 0.36	-	1.92 ± 0.01	1.01 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.07 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.21 ± 0.00	0.09 ± 0.00
DS	0.11 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.03 ± 0.00	24.3 6 ± 0.06	0.04 ± 0.00	0.19 ± 0.00	0.00 ± 0.00	4.09 ± 0.00	9.35 ± 0.00	56.0 9 ± 0.09	-	2.07 ± 0.01	1.12 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.09 ± 0.00
DH	0.21 ± 0.02	0.08 ± 0.00	0.03 ± 0.00	24.5 2 ± 0.12	0.04 ± 0.00	0.19 ± 0.00	-	3.87 ± 0.04	9.17 ± 0.11	54.9 9 ± 0.46	0.01 ± 0.00	2.13 ± 0.02	1.07 ± 0.01	0.38 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.09 ± 0.01
DR	0.15 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.03 ± 0.00	24.1 9 ± 0.08	0.04 ± 0.00	0.19 ± 0.00	-	3.57 ± 0.01	8.29 ± 0.24	56.9 8 ± 0.12	0.01 ± 0.00	1.89 ± 0.01	0.98 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.20 ± 0.00	0.09 ± 0.00

C₆- caproic, C₁₄- myristic, C₁₅- pentadecanoic, C₁₆- palmitic, C_{16:1}- palmitoleic, C₁₇- margaric, C_{17:1}- heptadecenoic, C₁₈- stearic, C_{18:1n9c}- oleic, C_{18:2n6c}- linoleic, C_{18:3n6}- gamma-linolenic, C_{18:3n3}- linolenic, C₂₀- arachidic, C_{20:1n9}- eicosenoic, C_{20:2}- eicosadienoic, C₂₁- heneicosanoic, C₂₂- behenic, C₂₄- lignoceric.

Table 3 shows the sums of saturated fatty acids (SFA; about 29.11 to 30.87%), monounsaturated fatty acids (MFA; 8.50 to 9.82%) and polyunsaturated fatty acids (PUFA; 55.54 to 59.40%), and those not identified (NI; 2.05 to 5.20%). These results present higher values for PUFA, and lower values for SFA and MFA, compared to those reported by Budryn et al., 2012; Alves et al., 2003; Speer & Kolling-Speer, 2006; Hurtado-Benavides, 2016; Kobelnik et al., 2014.

The linoleic acid is proportionally the largest and most important PUFA, exercising relevant nutritional value due to its involvement in prostaglandin synthesis and other biological processes, besides its role as a functional ingredient (Agueda, 2009; Hurtado-Benavides et al., 2016). Palmitic acid from the SFA fraction is found abundantly in the human diet (meat, butter, etc.), and its ingestion increases blood levels of low-density cholesterol (Dangarembizi et al., 2015).

Table 3. Percentage area of saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids in green and roasted coffee oil samples.

	ΣSFA	ΣMFA	ΣPUFA	NI
GS	30.66 ± 0.17	9.82 ± 0.04	57.00 ± 0.55	2.52 ± 0.37
GH	30.87 ± 0.03	9.72 ± 0.14	57.20 ± 0.17	2.21 ± 0.32

GR	29.11 ± 0.55	8.50 ± 0.17	57.50 ± 1.20	4.89 ± 1.92
LS	30.81 ± 0.02	9.53 ± 0.02	57.04 ± 0.14	2.61 ± 0.16
LH	30.76 ± 0.11	9.50 ± 0.06	57.10 ± 0.28	2.63 ± 0.45
LR	29.60 ± 0.08	8.55 ± 0.06	58.93 ± 0.06	2.93 ± 0.13
MS	30.41 ± 0.08	9.62 ± 0.03	57.38 ± 0.13	2.59 ± 0.23
MH	30.02 ± 0.86	9.24 ± 0.28	55.54 ± 1.61	5.20 ± 2.75
MR	29.87 ± 0.05	8.53 ± 0.06	59.40 ± 0.30	2.20 ± 0.41
DS	30.32 ± 0.04	9.41 ± 0.00	58.21 ± 0.07	2.05 ± 0.03
DH	30.32 ± 0.14	9.59 ± 0.09	57.18 ± 0.39	2.91 ± 0.61
DR	29.50 ± 0.06	8.73 ± 0.20	58.94 ± 0.10	2.84 ± 0.25

ΣSFA: Saturated fatty acids, ΣMFA: Monounsaturated fatty acids, ΣPUFA: Polyunsaturated fatty acids.
e NI= not identified.

In this work, it was not possible to verify a connection between the oil lipid contents and the application of different roasting processes since the lipid fraction was little altered during the roasting process (Folstar, 1985). The same behavior occurred for the difference in beverage quality in the samples since the values between the studied coffee oils were close.

3.3 Volatile compounds

The use of coffee oil as a flavoring in the food industry requires knowledge of its aromatic composition. The aromatic component analysis identified 79 compounds in all samples. Table 4 presents the sample components.

Table 4. Relative percentage of aromatic compounds in coffee oil samples.

Name of compound	Retenti on time (min)	LRI*	Samples												
			GS	GH	GR	LS	LH	LR	MS	MH	MR	DS	DH	DR	
Alcohols															
1- Butanol	19.85	1223	0.03 ± 0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1- Hexanol	26.14	1369	0.19 + 0.03	0.21 + 0.02	0.13 + 0.02	0.15 + 0.03	0.11 + 0.02	-	-	-	-	-	-	-	-

Phenylethyl Alcohol	49.09	1955	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.12 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.32 ± 0.06	0.55 ± 0.07	0.11 ± 0.00	0.82 ± 0.14	0.39 ± 0.06	0.39± 0.11
3- Octanol	27.80	1408	-	-	-	0.19 ± 0.02	0.42 ± 0.04	0.25 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.34 ± 0.04	-	-	0.34 ± 0.02	-
Benzyl alcohol	47.78	1916	-	-	-	0.02 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.25 ± 0.02	-	-	-	-	-
Maltol	51.16	2017	-	-	-	0.07 ± 0.01	-	-	1.41 ± 0.10	3.62 ± 0.72	0.94 ± 0.09	8.08 ± 1.61	-	-
3- Acetyl- 1- propanol	27.31	1397	-	-	-	-	-	-	-	0.17 ± 0.03	-	-	-	-
Total alcohols (%)			0.26	0.25	0.14	0.44	0.58	0.31	2.35	4.69	1.05	8.90	0.74	0.39
Ketones														
Acetoin	24.20	1324	-	-	-	-	0.02 ± 0.00	-	0.04 ± 0.01	-	0.04 ± 0.01	-	0.09 ± 0.01	-
2- Propanone, 1- (acetyloxy)	31.25	1488	-	-	-	0.11 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.22 ± 0.04	1.33 ± 0.10	-	0.66 ± 0.12	3.65 ± 0.24	2.01 ± 0.38	-
2- Propanone, 1- hydroxy	24.94	1342	-	-	-	-	-	-	0.13 ± 0.01	-	0.09 ± 0.01	-	-	-
2,3- Pentanedione	33.94	1556	-	-	-	0.02 ± 0.00	0.04 ± 0.01	-	0.28 ± 0.02	-	-	-	-	0.68 ± 0.17
Butyrolactone	39.42	1698	-	-	-	0.22 ± 0.02	-	-	0.66 ± 0.12	-	0.37 ± 0.06	1.43 ± 0.19	-	1.4 ± 0.21
1-(5- Methyl- 2- pyrazinyl)- 1- ethanone	41.07	1741	-	-	-	-	0.05± 0.01	-	-	-	0.21 ± 0.02	-	-	-
Ethanone, 1- (3- pyridinyl)	45.31	1851	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13 ± 0.02	-	-
2,5- Furandione, 3,4- dimethyl	43.11	1794	-	-	-	-	-	-	0.06 ± 0.00	-	-	-	-	-
2- Cyclopenten -1-one, 2- hydroxy-3- methyl	46.08	1871	-	-	-	-	-	-	0.69 ± 0.10	1.25 ± 0.23	0.47 ± 0.02	1.99 ± 0.36	1.45 ± 0.05	1.67 ± 0.11
2- Cyclopenten -1-one, 3- ethyl-2- hydroxy	48.41	1935	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.67 ± 0.06
2- Butanone, 1- (acetyloxy)	34.15	1561	-	-	-	-	-	-	0.27 ± 0.05	0.72 ± 0.12	-	0.89 ± 0.07	0.61± 0.09	-
Pineapple ketone	52.88	2068	-	-	-	-	-	-	-	-	0.13 ± 0.01	0.46 ± 0.04	0.27 ± 0.02	0.37 ± 0.05

	2- Hydroxy-3- pentanone	27.30	1396	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.19 ± 0.03	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.02
Total ketones (%)				-	-	-	0.35	0.21	0.22	3.46	1.97	1.97	8.77	4.61	4.95
Lactones															
	Butyrolactone	39.42	1698	-	-	-	-	0.12± 0.01	-	-	-	-	-	-	-
Total lactones (%)				-	-	-	-	0.12	-	-	-	-	-	-	-
Aldehydes															
	Belzaldehyde	34.87	1580	-	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.06 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.01	-	-	-	-	-	-
	Pentanal	10.63	966	-	-	0.05 ± 0.01	-	0.17 ± 0.02	-	-	-	-	-	-	-
	Butanal, 2-methyl	10.57	964	-	-	-	0.36 ± 0.05	-	0.25 ± 0.04	-	-	0.15 ± 0.01	-	-	-
	Hexanal	15.44	1112	-	-	-	0.07 ± 0.00	0.06 ± 0.01	-	-	-	-	-	-	-
	2-Triophenecarboxaldehyde	41.68	1757	-	-	-	-	-	-	0.11 ± 0.01	0.19 ± 0.03	0.05 ± 0.00	0.25 ± 0.03	-	-
Total aldehydes (%)				-	0.04	0.08	0.49	0.31	0.32	0.11	0.19	0.20	0.25	-	-
Amines															
	Pyridine	19.76	1221	-	-	-	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.18 ± 0.03	0.89 ± 0.12	2.92 ± 0.58	0.66 ± 0.12	5.21 ± 1.03	2.84 ± 0.25	4.50± 0.55
	Pyridine, 3-ethyl	28.47	1424	-	-	-	-	-	-	-	-	0.06 ± 0.01	-	-	0.57 ± 0.03
Total amines (%)				-	-	-	0.11	0.11	0.18	0.89	2.92	0.72	5.21	2.84	5.07
Esteres															
	Ethyl Acetate	9.82	941	0.85 ± 0.20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total esterres (%)				0.85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethers/Oxides															
	Allyl ether	10.55	963	-	-	-	-	0.11 ± 0.02	-	-	-	-	-	-	-

Total allyl ethyl ether (%)		-	-	-	-	0.11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carboxylic acids															
Butanoic acid, 3-methyl	39.74	1706	0.35 ± 0.04	0.75 ± 0.13	0.27 ± 0.04	1.39 ± 0.09	-	0.56 ± 0.02	1.37 ± 0.21	3.05 ± 0.31	0.84 ± 0.03	2.73 ± 0.43	1.84 ± 0.15	1.66 ± 0.08	-
2- Butenoic acid, 3-methyl	44.69	1835	-	-	-	0.12 ± 0.02	0.15 ± 0.01	-	0.44 ± 0.01	-	0.27 ± 0.01	-	-	-	-
Ácetic acid	31.03	1483	-	-	-	0.22 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.24 ± 0.02	1.21 ± 0.19	-	-	1.63 ± 0.31	-	2.18 ± 0.50	-
Hexanoic acid, 2- ethyl	49.76	1975	-	-	-	0.04 ± 0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Propanoic acid	34.57	1572	-	-	-	-	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.15 ± 0.03	0.45 ± 0.06	0.12 ± 0.01	-	0.30 ± 0.02	0.38 ± 0.06	-
Total carboxylic acids (%)			0.35	0.75	0.27	1.77	0.51	0.83	3.17	3.50	1.23	4.36	2.14	4.22	
Furan derivatives															
Furfural	31.88	1503	-	-	-	0.28 ± 0.04	0.39 ± 0.01	0.45 ± 0.0	4.91 ± 0.55	8.82 ± 1.12	2.43 ± 0.01	9.50 ± 1.18	3.41 ± 0.67	5.44 ± 0.22	-
Furfuryl formate	32.90	1529	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.17 ± 0.23	-	-	-
Ethanone, 1- (2- furanyl)	33.70	1549	-	-	-	0.02 ± 0.00	-	0.08 ± 0.01	1.14 ± 0.14	2.14 ± 0.37	0.50 ± 0.07	4.08 ± 0.55	1.76 ± 0.03	2.34 ± 0.08	-
2- Furancarbox aldehyde, 5- methyl	36.55	1624	-	-	-	0.03 ± 0.00	0.18 ± 0.0	0.21 ± 0.01	4.74 ± 0.94	-	2.13 ± 0.02	-	-	8.75 ± 0.57	-
3- Furanmetha nol	39.27	1694	-	-	-	2.36 ± 0.21	-	1.89 ± 0.16	-	-	-	-	-	-	-
2- Furanmetha nol, acetate	34.44	1569	-	-	-	-	-	-	2.68 ± 0.52	-	0.77 ± 0.05	-	-	-	-
Ethanone, 1- (2- furanyl)	33.69	1549	-	-	-	-	0.06 ± 0.01	-	-	-	-	-	-	-	-
Furan-3-one	23.22	1302	-	-	-	-	-	-	0.35 ± 0.04	1.21 ± 0.12	0.09 ± 0.01	2.01 ± 0.27	0.47 ± 0.08	-	-
2-n- Butyl furan	34.06	1559	-	-	-	-	-	-	-	0.06 ± 0.01	-	-	-	0.12 ± 0.03	-

Furaneol	52.86	2067	-	-	-	-	-	-	-	-	0.37 ± 0.05	-	-	-	-
2(3H)- Furanone, 5- acetyldihydr o	54.63	2121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.56 ± 0.09	-	0.63± 0.60
2- Acetyl-5- methylfuran	38.22	1667	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.30 ± 0.01	0.32 ± 0.08
3(2H)- Furanone, dihydro-2- methyl	23.21	1301	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.64 ± 0.19
Total furan derivatives (%)			-	-	-	2.71	0.64	2.63	13.82	12.63	5.95	18.34	5.95	18.24	
Pyrazines															
Pyrazine, methyl	23.30	1304	-	-	-	0.75 ± 0.06	0.87 ± 0.08	1.25 ± 0.21	2.14 ± 0.28	4.34 ± 0.70	1.66 ± 0.30	4.56 ± 0.74	2.96 ± 0.10	4.47 ± 0.44	
Pyrazine, 2,5- dimethyl	25.72	1360	-	-	-	0.69 ± 0.13	0.79 ± 0.11	0.72 ± 0.05	1.75 ± 0.06	-	1.32 ± 0.18	2.53 ± 0.33	1.84 ± 0.24	2.86 ± 0.68	
Pyrazine, 2,6- dimethyl	25.95	1365	-	-	-	0.26 ± 0.03	0.31 ± 0.04	0.37 ± 0.07	1.19 ± 0.05	2.30 ± 0.05	0.99 ± 0.01	3.28 ± 0.67	-	-	
Pyrazine, ethyl	26.29	1373	-	-	-	0.25 ± 0.01	0.30 ± 0.05	0.37 ± 0.03	0.72 ± 0.11	2.03 ± 0.33	0.87 ± 0.08	2.73 ± 0.34	1.52 ± 0.23	2.40 ± 0.22	
Pyrazine, 2,3- dimethyl	26.84	1386	-	-	-	0.10 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.20 ± 0.00	0.31 ± 0.02	0.77 ± 0.10	0.36 ± 0.01	1.19 ± 0.06	0.58 ± 0.07	0.94 ± 0.05	
Pyrazine, 2- ethyl- 6- methyl	28.40	1422	-	-	-	0.17 ± 0.01	0.39 ± 0.03	0.55 ± 0.01	1.58 ± 0.10	3.20 ± 0.54	1.90 ± 0.18	3.44 ± 0.62	2.17 ± 0.19	4.13 ± 0.06	
Pyrazine, 2- ethyl- 5- methyl	28.74	1430	-	-	-	0.36 ± 0.04	-	0.34 ± 0.03	0.89 ± 0.10	1.97 ± 0.38	0.69 ± 0.09	2.33 ± 0.33	1.45 ± 0.26	1.96 ± 0.19	
Pyrazine, 2,6-diethyl	31.63	1497	-	-	-	-	0.13 ± 0.01	0.05 ± 0.01	-	0.38 ± 0.06	-	0.41 ± 0.07	0.31 ± 0.01	0.15 ± 0.03	
Pyrazine, trimethyl	29.22	1441	-	-	-	0.19 ± 0.01	0.34 ± 0.03	0.29 ± 0.01	1.05 ± 0.13	-	0.57 ± 0.09	2.51 ± 0.49	-	1.59 ± 0.15	
2- Ethyl- 3,6- dimethylpyr azine	30.88	1480	-	-	-	0.33 ± 0.05	0.68 ± 0.08	0.81 ± 0.07	1.31 ± 0.06	3.74 ± 0.67	2.04 ± 0.08	2.44 ± 0.32	2.72 ± 0.17	4.73 ± 0.31	

	1-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	(5-2-1-ethanone	41.47	1751	-	-	-	0.02 ± 0.00	-	0.05 ± 0.00	-	0.53 ± 0.05	-	-	-	1.30 ± 0.16
	1-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	(6-2-1-ethanone	41.47	1751	-	-	-	-	-	-	0.33 ± 0.06	-	0.21 ± 0.01	-	-	0.77 ± 0.05
Total pyrazines (%)					-	-	-	3.14	3.97	5.00	11.27	19.28	10.62	25.42	13.55	25.30

Pyrroles																
	1H- Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl		38.81	16.82	-	-	-	0.02 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.01	1.11 ± 0.21	2.40 ± 0.30	0.66 ± 0.01	3.97 ± 0.63	1.89 ± 0.07	3.24 ± 0.10
	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)		51.22	2018	-	-	-	0.16 ± 0.01	0.28 ± 0.02	-	0.91 ± 0.07	0.73 ± 0.09	0.14 ± 0.01	2.28 ± 0.45	2.09 ± 0.29	-
	1H- Pyrrole-2-carboxaldehyde		53.21	2078	-	-	-	-	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.64 ± 0.05	1.29 ± 0.24	0.27 ± 0.03	2.39 ± 0.46	1.47 ± 0.09	1.72 ± 0.10
	1H- Pyrrole, 1-(2-furanylmethyl)		46.23	1875	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.16 ± 0.22	0.80 ± 0.02	1.03 ± 0.01
	1,5-Dimethyl-2-pyrrolecarbo nitrile		39.87	1710	-	-	-	-	-	0.17 ± 0.03	-	-	-	-	-	-
	Furfuryl pyrrole		46.23	1875	-	-	-	-	-	-	0.32 ± 0.06	-	-	-	-	-
	Pyrrolidine, 1- acetyl		46.84	1891	-	-	-	-	-	-	-	-	0.06 ± 0.00	-	-	-
Total pyrroles (%)					-	-	-	0.18	0.38	0.29	2.98	4.43	1.13	9.81	6.25	5.99

Aromatic hydrocarbons

	Toluene		14.27	1077	-	0.04 ± 0.00	-	0.02 ± 0.01	-	0.02 ± 0.00	-	-	-	-	-	-
	1- Hexene, 4- methyl		19.84	1223	-	-	0.02 ± 0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pentane, 3- methyl		7.00	855	-	-	0.07 ± 0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Benzene, 1,2- dichloro		30.14	1463	-	-	-	0.01 ± 0.00	-	-	-	-	-	-	-	-
	2- Methoxy-4- vinylphenol		58.45	2242	-	-	-	0.04 ± 0.01	0.18 ± 0.01	-	-	0.62 ± 0.09	-	-	0.70 ± 0.07	-

Phenol, 2-methoxy	47.36	1904	-	-	-	-	-	0.02 ± 0.00	0.14 ± 0.03	0.46 ± 0.05	0.14 ± 0.01	1.06 ± 0.20	-	1.65 ± 0.02
Benzoxazole	44.19	1822	-	-	-	-	-	-	0.02 ± 0.00	-	-	-	-	0.20 ± 0.04
Phenol	52.13	2046	-	-	-	-	-	-	0.12 ± 0.00	0.19 ± 0.03	0.06 ± 0.00	0.52 ± 0.10	0.21 ± 0.02	0.53 ± 0.04
Phenol, methyl	51.90	2039	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.23 ± 0.04	-	-
Pentane, 2-bromo	53.41	2084	-	-	-	-	-	-	0.07 ± 0.01	-	-	-	-	-
Guaiacol	58.45	2242	-	-	-	-	-	0.23 ± 0.03	0.34 ± 0.06	-	0.45 ± 0.04	0.76 ± 0.15	0.81 ± 0.04	1.06 ± 0.02
Cresol	51.90	2039	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.19 ± 0.02
Total aromatic hydrocarbons (%)			-	0.04	0.08	0.08	0.18	0.27	0.69	1.27	0.66	2.58	1.72	3.63

Concerning the green oils, the esters compounds (0.85%), carboxylic acids (0.27-0.75%) and alcohols (0.14-0.26%), among others, were detected and identified in the obtained extracts. In light roasting oils were found alcohols (0.31-0.58%), ketones (0.21-0.35%), lactones (0.12%), aldehydes (0.31-0.49%), amines (0.11- 0.18%), ethers (0.11%), carboxylic acids (0.51-1.77%) and pyrroles (0.18-0.38%) and aromatic hydrocarbons (0.08-0.27%). The furan derivatives (0.64-2.71%) and pyrazines (3.14-5.00%) were the highlights due to their higher concentration.

In medium roasting oils were detected alcohols (1.05- 4.69%), ketones (1.97-3.46%), aldehydes (0.11-0.20%), amines (0.72- 2.92%), carboxylic acids (1.23- 3.50%), aromatic hydrocarbons (0.66-1.27%) and the highest contents present in the pyrazine groups (10.62-19.28%), furan derivatives (5.95 -13.82%) and pyrroles (1.13 - 4.43%).

Concerning dark roasting oils, the compounds found were the ketones (4.61- 8.77%), aldehydes (0.25%), amines (2.84- 5.21%), alcohols (0.39- 8.90%), carboxylic acids (2.14- 4.36%), aromatic hydrocarbons (1.72-3.63%), with relevance to the groups of highest contents, the pyrazines (13.55-25.42%), furan derivatives (5.95-18.34%) and pyrroles (5.99-9.81%). In general, the compounds present in higher concentrations belonged to the furan and pyrazine derivatives groups in roasted coffee oils, which increased according to the roasting intensity.

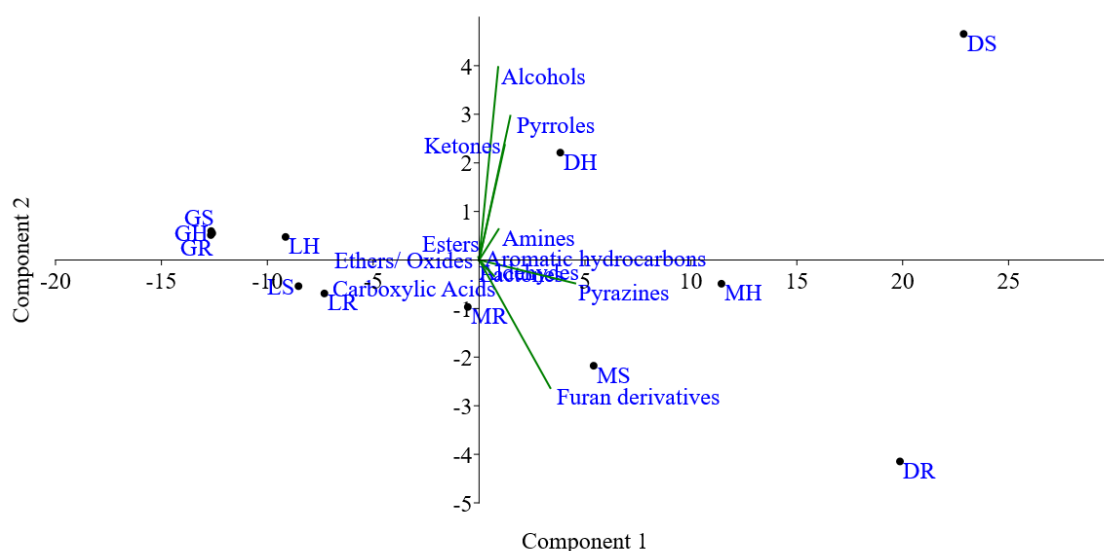
Getachew & Chun (2016) include furans, pyrroles, pyrazines, pyridines, aldehydes, and ketones as chemical groups typically influencing roasted coffee flavor. However, due to the complexity of the coffee aromatic fraction, their composition can be affected by several variables such as the agricultural techniques, cultivation, altitude, and region of the crops (Akiyama et al., 2005; Sanches et al., 2020; Budryn et al., 2012; Calligaris et al., 2009).

The PCA in Figure 1 shows that the compound groups of alcohol, pyrroles, amines, aromatic hydrocarbons, pyrazines, and furan derivatives are more related to coffee oil samples in medium and dark roasting independent of coffee quality.

The two principal components explained 96.32% of the variation between oil samples. In turn, the light roasting and green oil samples are more linked to carboxylic acids, ethers and esters.

According to Hurtado-Benavides et al. (2016), González-Rios et al. (2007) and González et al. (2011) furans are the main type of compound present in Arabica coffee, followed by pyrazines, ketones, pyridine and pyrroles.

Figure 1. Principal component analysis (PCA) regarding the aromatic composition of coffee oils.

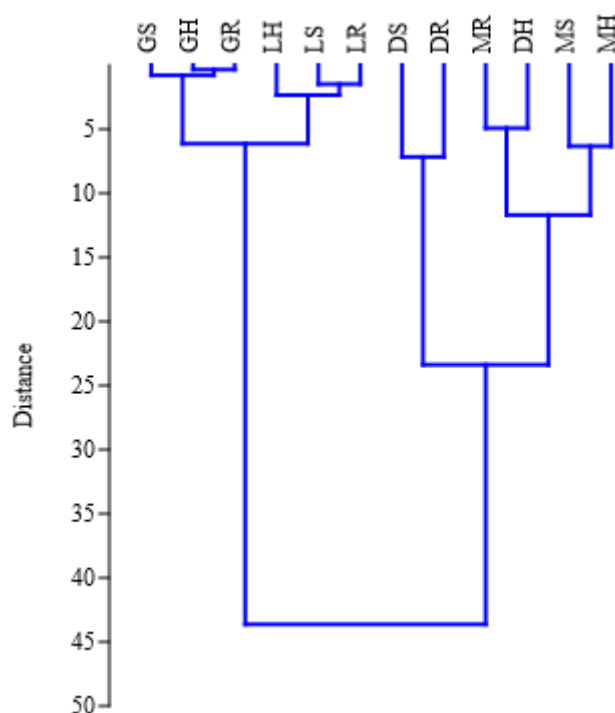


Caption: green coffee soft beverage (GS), green coffee hard beverage (GH), green coffee soft beverage (GR), light roast soft beverage (LS), light roast hard beverage (LH), light roast rio beverage (LR), medium roast soft beverage (MS), medium roast hard beverage (MH), medium roast rio beverage (MR), dark roast soft beverage (DS), dark roast hard beverage (DH) and dark roast rio beverage (DR).

Figure 2 presents an HCA (Hierarchical cluster analysis) to determine the similarity of the samples based on the component similarity in the same class and the difference between the component classes (Beebe; Pell; Seasholtz, 1997). The formation of two groups is notorious, one formed by oil samples in medium and dark roasts and the other by green and light roast oils.

This separation occurred by the differentiation of aromatic compounds in the oils. Green and light roast oils clustered because of the carboxylic acids, ethers and esters. In turn, the medium and dark roast oils had more groups derived from furans, pyrazines and pyrroles. It is important to emphasize that, for both, the beverage quality did not interfere in the compound detection.

Figure 2. Hierarchical cluster analysis (HCA) of coffee oil samples and its aromatic components



Caption: green coffee soft beverage (GS), green coffee hard beverage (GH), green coffee soft beverage (GR), light roast soft beverage (LS), light roast hard beverage (LH), light roast rio beverage (LR), medium roast soft beverage (MS), medium roast hard beverage (MH), medium roast rio beverage (MR), dark roast soft beverage (DS), dark roast hard beverage (DH) and dark roast rio beverage (DR).

The furan group, formed by the thermal degradation of sugars and carbohydrates, is usually related to pleasant characteristics in foods and beverages as the aroma of fruits, grass, and leather (Petisca et al., 2013). Furfural, a volatile compound that influences the aroma and flavor of almonds, presented the highest concentration in the furan group; pyrazine methyl, related to nuts, cocoa, and the roasting process, was the principal in the pyrazine family group (González et al., 2011; Ribeiro et al., 2009; Mayer et al., 2000). As reported by other authors, these compounds present in roasted oils exhibit pleasant notes such as caramel, toasted nuts, peanuts, sweet, aromatic, apple, almond, among others (Hurtado-Benavides et al., 2016; Budryn et al. 2012; Sanches et al. al., 2020).

Thus, the volatile fraction present in roasted coffee oil is formed by a complex group of chemical compounds that influence the aroma and flavor of the original coffee beverage.

4. Conclusion

The results of this work show that extracting coffee oils by mechanical pressing had a better yield for dark roast beans since the oil extraction from green coffee and light roast needed recirculation of the cake for better extraction. The oil acidity and peroxide indices increased when the beverage quality decreased, and toast intensity increased.

The principal fatty acids found were the linoleic and palmitic acids, besides the presence of other acids such as the oleic, stearic, linolenic and arachidic. The volatile compounds obtained from the coffee oils belong mainly to the family of furans and pyrazines, compounds that influence the characteristic aroma of the original roasted coffee beverage. Finally, coffee oils, especially from darker roasts, due to the characteristics of yield, acidity, and composition of fatty acids and volatile compounds, present great potential to be incorporated by the food and/or pharmacological industry.

5. References

Abdelwareth, A, Zayed, A, Mohamed, AF (2021). Chemometrics-based aroma profiling for revealing origin, roasting indices, and brewing method in coffee seeds and its commercial blends in the Middle East. *Food Chemistry*, 349, 129162.

Abrahão, SA, Pereira, RGFA, Duarte, SMDS, Lima, AR, Alvarenga, DJ, Ferreira, EB (2010). Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, 34(2), 414–420.

Agueda, M (2009). Efecto del ácido linoleico conjugado (CLA) sobre el perfil lipídico en humanos *Arch. Latinoam. Nutr.*, 59, 245-253.

Ahangari, B, Sargolzaei, J (2013) Extraction of lipids from spent coffee grounds using organic solvents and supercritical carbon dioxide. *J. Food Process. Preserv.*, 37, 1014-1021.

Alves, MR, Casal, S, Oliveira, M, Ferreira, M (2003). Contribution of FA profile obtained by high-resolution GC/chemometric techniques to the authenticity of green and roasted coffee varieties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80, 511-517.

American Oil Chemists' Society (1992). *Official and tentative methods of the American Oils Chemists' Society*. Champaign, United States of America.

Akiyama, M, Murakami, K, Ikeda, M, Iwatsuki, K, Kokubo, S, Wada, A, Tanaka, K (2005). Characterization of flavor compounds released during grinding of roasted robusta coffee. *Food Sci. Technol. Res.*, 11, 298-307.

Bastidas, AO (2011). *Estudio químico de los componentes volátiles y análisis de la composición de taninos y cafeína en dos variedades de café (Caturra y Castillo) del Departamento de Nariño* (Trabajo de Grado Químico). Universidad de Nariño. Departamento de Química, Pasto.

Beebe, KR, Pell, RJ, Seasholtz, MB (1997) *Chemometrics: A practical guide*. New York: John Wiley & Sons.

Budryn, G, Nebesny, E, Zyzelewicz, D, Oracz, J, Miskiewicz, K, Rosicka-Kaczmarek, J (2012). Influence of roasting conditions on fatty acids and oxidative changes of Robusta coffee oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114, 1052-1061.

Calligaris, S, Munari, M, Gianmichele, A, Barba, L (2009). Insights into the physico chemical properties of coffee oil. *Eur. The Journal of Supercritical Fluids*, 111, 1270-1277.

Dangarembizi, R, Chivandi, E, Dawood, S, Erlwanger, K, Mazuru, G, Michael, M, Samie, A (2015). The fatty acid composition and physicochemical properties of the underutilised Cassia abbreviata seed oil. *Pak J. Pharm. Sci.*, 28, 1005-1008.

Ferreira, DF (2014). Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência agrotecnologia de Lavras*. 38(2), 109-112.

Franca, AS, Oliveira LS, Mendonça, JCF, Silva, XA (2005). Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. *Food Chemistry*, 90, 84-89.

Ferrari, M, Ravera, F, Angelis, E, Suggi Liverani, F, Navarini, L (2010). Interfacial properties of coffee oils. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 365, 79–82.

Folstar, P (1985). Lipids. In RJ Clarke, R Macrae (Eds.), *Café, I: Química*. (pp. 203-222). Londres; Nova York: Elsevier Applied Science Publishers Co Ltd.

Getachew, AT, Chu, BS (2016). Optimization of coffee oil flavor encapsulation using response surface methodology. *Food Science and Technology*, 70, 126e134.

González, HM, Gonzalez, S, Rosales, T (2011). Café (*Coffea arábica* L.): compuestos volátiles relacionados com el aroma y sabor. *UNACAR Tecnociencia*, 35-45.

Gonzalez-Rios, O, Suarez-Quiroza, M, Boulanger, R, Barel, M, Guyot, B, Guiraud, J, Schorr-Galindo, S (2007). Impact of ecological post- harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. *J. Food Compos. Anal.*, 20, 289- 296.

Hurtado-Benavides, A, Dorado, DA, Camargo, APS (2016). Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 113, 44–52.

International Standart (2015). ISO 12966-4:2015: *Animal and vegetable fats and oils — gas chromatography of fatty acid methyl esters — Part 4: Determination by capillary gas chromatography*. Switzerland, Suíça.

Kobelnik, M, Guadagnucci, G, Lopes, D, Augusto, C, Spirandeli, M (2014). Thermal behavior of coffee oil (*Robusta* and *Arabica* species). *J. Therm. Anal. Calorim.*, 115, 2045-2052.

López, E (2007). Extracción de aceite de café. *Ingeniería e Investigación*, 27, 25-31.

Maul, AA, Wasicky, R, Bacchi, EM (1996). Extração por fluido supercrítico. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 5(2).

Mayer, F, Czerny, M, Grosch, W (2000). Sensory study of the character impact aroma compounds of a coffee beverage EUR. *Food Res. Technol.*, 211, 272-276.

Nikolova-Damyanova, B, Velikova, R, Gulab, NJ (1998). Lipid classes, fatty acid composition and triacylglycerol molecular species in crude coffee beans harvested in Brazil. *Food Res. Int.*, 31, 479-486.

Oliveira, LS, Franca, AS, Mendonça, JCF, Barros-Junior, MC (2006). Proximate composition and fatty acids profile of green and roasted defective coffee beans, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 39, 235–239.

Oliveira, AL, Cruz, PM, Eberlin, MN, Cabral, FA (2005). Brazilian roasted coffee oil obtained by mechanical expelling: compositional analysis by GC- MS. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 677-682.

Pereira, L, Meira, F, Carmanini, F, Silva, G, Silva, J, Ribeiro, M (2015). Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions. *Afr. J. Agric. Res.*, 3484-3493.

Petisca, C, Pérez, T, Farah, AD, Pinhoa, O, Ferreira, I (2013). Furans and other volatile compounds in ground roasted and espresso coffee using headspace solid-phase microextraction: effect of roasting speed. *Food Bioprod. Process.*, 9, 233-241.

Pimenta, CJ, Angélico, CL, Chalfoun, SM (2018). Challenges in coffee quality: Cultural, chemical and microbiological aspects. *Ciência e Agrotecnologia*, 42(4), 337-349.

Pinto, NAVD, Fernandes, SM, Pires, TC, Pereira, RGFA, Carvalho, VD (2002). Avaliação de componentes químicos de padrões de bebida para o preparo de café expresso. *Ciência e Agrotecnologia*, 26, 826-829.

Raba, DN, Poiana, MA, Borozan, AB, Stef, M, Radu, F, Popa, MV (2015). Investigation on crude and high- temperature heated coffee oil by ATRFTIR Spectroscopy along with antioxidant and antimicrobial properties. *PLoS ONE*, 10(9).

Ramírez, L (2008). *Evaluación del rendimiento de extracción y caracterización del aceite fijo de café tostado tipo genuíno antigua obtenido por el proceso de prensado*. (Tesis de Grado Ingeniero Químico). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Guatemala.

Reverchon, E, Marco, I (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal Supercrit. Fluids*, 38, 146- 166.

Ribeiro, JS, Augusto F, Salva, TJ, Thomaziello, RA, Ferreira, MM (2009). Prediction of sensory properties of Brazilian Arabica roasted coffees by headspace solid phase microextraction-gas chromatography and partial least squares. *Anal. Chim. Acta*, 634, 172-179.

Romano, R, Santini, A, Grottaglie, L, Manzo, N, Visconti, A, Ritieni, A (2014). Identification markers based on fatty acid composition to differentiate between roasted *Arabica* and *Canephora (Robusta)* coffee varieties in mixtures J. Food Compos. *Anal.*, 35, 1-9.

Sanches, MZ, Silva Neto, ES, Ueno, CT, Shirai, MA, Sakanaka, LS (2020). Roasted coffee oil (*Coffea arabica*): Characterization of fatty acids, qualification of aromatic compounds and quantification of caffeine content. *Research, Society and Development*, 9(11).

Spper, K, Kolling-Speer, I (2001). Lipids. In R Clarke, O Vitzthum (Eds.), *Coffee: Recent Developments* (pp. 33–49). Oxford: Blackwell Science.

Spper, K, Kolling-Speer, I (2006). The lipid fraction of the coffee bean. *Braz. J. Plant. Physiol*, 18, 201–216.

Turratti, JM (2001). Extração e caracterização de óleo de café. In *Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil* (pp. 1533-1539). Brasília: EMBRAPA Café.

Voytena, APL, Affonso, RCL, Pitz, HS, Ramlov, F, Alberti, T, Coelho, DS, Pereira, A, Navarro, BB, Fanan, S, Casagrande, M, Ribeiro-do-Valle, RM, Maraschin, M (2018). Phytochemical Profile and in vitro Assessment of the Cytotoxicity of Green and Roasted Coffee Oils (*Coffea arabica* L.) and their Polar Fractions. *Records of natural products*, 12(2), 169-174.

Capítulo IV- Evaluation of antioxidant capacity and quantification of bioactive compounds in green and roasted coffee oils obtained from beans of different beverage classifications

O quarto capítulo representa um estudo da composição fenólica, capacidade antioxidante e composição bioativa dos óleos de café.

ABSTRACT

Coffee is one of the most important products on the international market, and oil is one of the several by-products resulting from its constitution. Green and roasted coffee oils contain numerous healthy compounds extracted from the beans. The phenolic compounds present in these oils are described as potent antioxidants of natural origin with bioactive action. This study aimed to evaluate the antioxidant activity and bioactive composition of coffee oils. The phenolic composition was higher in roasted oils from higher quality coffees, but the antioxidant capacity of oils from grains of inferior quality was higher. Our results show a stable caffeine content in all oils, neither the light roast coffee oil nor the green one displayed trigonelline degradation, and the chlorogenic acids were degraded by the roasting process. There was no relevant correlation between a higher antioxidant capacity of oils and their bioactivity, leading to the conclusion that the activity may be related to other compounds formed or degraded during the processing and roasting of the coffee oils.

Practical application: This study presents the application of coffee oil extracted from beans of different beverage classifications and roasting points for roasted coffee oils. The evaluation of coffee oils concerning their antioxidant capacity through different methods as well as their bioactive composition consisting of caffeine, trigonelline and chlorogenic acid portrays a possibility of their future use as active ingredients in the food and pharmacological industries focusing on increasing their contents.

Key words: *Coffea arabica* L., quality, phenolics, caffeine, chlorogenic acids, trigonelline.

1. Introduction

Coffee is one of the principal commodities in world trade and contains an ample and complex variety of compounds (Conab, 2021; Wang and Lim, 2015). The most cultivated coffee species in Brazil is Arabica coffee (*Coffea arabica*) which is a finer coffee, which presents a superior quality beverage in terms of aroma and flavor (MALTA et al., 2010). The presence of physical, chemical and sensory attributes is decisive in the coffee purchase process and directly depends on genetic and environmental factors, pre- and post-harvest management conditions (Abrahão et al., 2010; Malta, 2011).

The coffee roasting process triggers innumerable reactions (the Maillard reaction, Strecker degradation, sugar caramelization, and the degradation of chlorogenic acids, proteins, and polysaccharides) responsible for modifications in the chemical and physical composition of the coffee beans, leading concomitantly to the release of volatile compounds behind the typical aroma and flavor of roasted coffee (Illy; Viani, 1995; Borges et al., 2004; Hernandez et al., 2007; Farah, 2012; Farah; Donangelo, 2006; Farah et al., 2005; Trugo; Macrae, 1984).

Among several products derived from coffee, the vegetable oils from its beans contain triacylglycerols with fatty acids similar in composition to those found in common edible vegetable oils as main compounds (Spper; Kolling-Speer, 2006). Arabica coffee oil has been used as an active ingredient in many food products to improve their antioxidant capacity (Wagemaker, 2015; Swieca et al., 2017; Zain, Baba and Shori, 2018; Donmez, Mogol and Gokmen, 2017).

Phenolic compounds are chemical constituents of varied structures containing aromatic rings conjugated to hydroxyl groups, these compounds have high efficiency in stabilizing free radicals (Valenzuela; Nieto, 1996; Esquivel, Jiménez, 2012; Abrahão et al., 2010). The

quantification of total polyphenolic compounds in foods is realized by the Folin-Ciocalteu method (Sousa et al., 2007), and according to Voytena et al. (2018), the total content of phenolic compounds present in the roasted coffee oil (2.24 ± 0.12 mg of gallic acid equivalents/g) is significantly higher than in the green one (0.73 ± 0.09 mg of gallic acid equivalents/g).

Some studies confirm that the use of free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) to determine the degree of lipid oxidation and the antioxidant effectiveness of the free radical scavengers present in oils (Raba et al., 2015; Jeong et al., 2012). Lipid oxidation, in our case, is a highly complex set of free radical reactions triggered on polyunsaturated lipid molecules subjected to a thermal process (Guillen et al., 2005; Raba et al., 2015). During the initial stage of lipid oxidation, several free radicals are formed, such as the alkyl ($R\cdot$), alkoxyl ($RO\cdot$) and peroxy radicals ($ROO\cdot$), the DPPH method, therefore, can be used as an indicator of oxidative stability and antioxidant capacity of oils (Yeo et al., 2010; Yeo et al., 2012; Jeong et al., 2012; Raba et al., 2015).

Another important method to verify the antioxidant activity regards the ABTS radical that occurs from an initiator 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid with cation-scavenging activity. This method is based on the absorbance inhibition of the positive ABTS⁺ radical with a wavelength absorption spectrum of 734nm (GÜLÇİN, 2012; Sacchetti et al., 2009; Perrone et al., 2012; Vignoli et al., 2011).

Bioactive compounds are substances capable of interacting with the human body, bringing benefits as an antioxidant agent (Stelmach et al., 2015). Caffeine stands out in coffee, corresponding to a nitrogen alkaloid known for its physiological and pharmacological properties (Moreira et al., 2014; Bravo et al., 2013), and despite being a polar water-soluble alkaloid significant contents are observed in both green and roasted coffee oils (Voytena et al., 2018). Trigonelline, another bioactive compound, is an N-methyl betaine that at high

temperatures degrades into pyrroles and pyridine of relevant importance for the coffee aroma (De Maria et al., 1999; Casal et al., 2000).

Other active compounds with potent antioxidant action among the principal components of the phenolic fraction are chlorogenic acids (Abrahão et al., 2010). Coffee green oil and its extracts possess an important and potent fraction of chlorogenic acids, already described in studies (Coelho et al., 2014; Zanin et al., 2016). Although green coffee oil is widespread in the industry, roasted coffee oil is also an important source of bioactive compounds with the potential for studies (Vignoli et al., 2014; Voytena et al., 2018; Oliveira et al., 2011; Frascareli et al., 2012).

Several studies assess the antioxidant capacity and quantify the phenolic compounds and bioactive compounds present in green and roasted coffee oils (Voytena et al., 2018; Oliveira, 2001; Oliveira, 2013; Sucupira et al., 2014; Mensor et al., 2001; Raba et al., 2015; Budryn et al., 2012; Silva et al., 2015; Ribeiro, 2015). However, the information about the importance of the coffee quality and the bean roasting level to obtain the oils is still scarce.

Therefore, this study evaluated coffee oils extracted from beans of different beverage classifications and at three roasting points, besides the oils obtained from green coffee, aiming to characterize the antioxidant capacity and the content of bioactive compounds present in them and thus determine their potential as future ingredients in the food industry.

2. Material and Methods

2.1 Samples

To obtain the oils, Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) crop 2019/2020 from three beverage quality: soft, hard and rio, and four roasting levels: green (raw beans), light roast (Agtron 76), medium (Agtron 61) and dark (Agtron 44) were squeezed in an Ecirted 40kg/h

capacity continuous press in the Regional Cooperative of Coffee Growers of Guaxupé (Cooxupé).

2.2 Spectrophotometric analysis

The oil was analyzed using a UV/VIS spectrophotometer (Femto, Cirrus 80).

2.2.1 Phenolic compounds

The content of phenolic compounds in the oil samples was determined according to Voytena et al. (2018), with adaptations. The oil samples of green and roasted coffee were diluted in petroleum ether (3mg/mL), and 100 μ L of the mixture was combined with 225 μ L of Folin-Ciocalteu reagent, after 8 minutes 2.47 mL of 2% sodium carbonate solution (w/v) and 10 mL of distilled water were also mixed. The samples were incubated in the dark for 1 hour, thus reading the absorbance at $\lambda = 750\text{nm}$. The content of total phenolic compounds was determined using a standard curve for gallic acid (detection range 5-125 $\mu\text{g/mL}$). Results were expressed in mg gallic acid equivalent/grams of coffee oil.

2.2.2 Free radical scavenging activity - DPPH

The evaluation of the DPPH radical scavenging activity (1,1-diphenyl-1,2-picrylhydrazyl) was determined according to the method of Voytena et al. (2018), with modifications. Green and roasted coffee oils were solubilized in ethyl acetate and evaluated at different concentrations (0.001, 50, 100, 150, 200 and 250 mg/ml). A stock solution of 7.9 mg of DPPH was diluted in 2.5 ml of ethyl acetate and further diluted to a concentration of 1:100 (v/v). A sample of 100 μ L was mixed with 2.9 mL of the DPPH solution. The antioxidant activity was measured by quantifying the DPPH free radical consumption after 30 min in the dark at an absorbance of 515nm.

The free radical scavenging activity (FRSA) was calculated based on Equation 1:

$$FRSA(\%) = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100 \quad (Equation\ 1)$$

Where *Ac* represents the absorbance of the DPPH solution (control solution) and *As* is the absorbance of the sample.

A Trolox calibration curve was prepared (detection range 0.030 – 1.25 mM) and the results expressed as Trolox-equivalent antioxidant capacity (TEAC, $\mu\text{mol/g}$ oil) and as FRSA (%).

2.2.3 Total antioxidant activity by the ABTS+ radical

The total antioxidant activity by the ABTS+ radical (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) was determined using the methodology of Babbar et al. (2011) with modifications. Initially, two aqueous solutions of ABTS (7mmol/L) and potassium persulfate (2.45mmol/L) were prepared. Both solutions were mixed in the same proportion and stored in an amber flask for 16 hours at room temperature, giving rise to the ABTS+ solution. The ABTS+ solution used in the analysis was diluted in ethanol until reaching a reading of approximately 700 to 734 nm.

Then 1.9 mL of ABTS+ solution was added to 100 μL of the sample to be analyzed. The mixture was shaken vigorously and kept in the dark for 10 minutes at room temperature, the reading was performed at 734nm considering ethanol as blank.

The preparation of green and roasted coffee oil samples followed the same protocol described in the previous item. Readings were performed at concentrations 50; 100; 150; 200 and 250 mg/ml and correlated with a Trolox standard curve (1-50 $\mu\text{g/ml}$). The final results were expressed as Trolox-equivalent antioxidant capacity (TEAC, $\mu\text{mol.g}^{-1}$ oil).

2.3 Determination of bioactive compounds

The evaluation of caffeine, trigonelline and chlorogenic acids were performed according to Abramovič, Butinar and Nikolič (2007), with adaptations. One gram of the oil samples was weighed, dissolved in 10 mL of hexane and transferred to a separatory funnel. A methanol-water solution (80:10 v/v) of 4 mL was mixed and stirred for 3 minutes, with the removal of the lower methanol-water layer. The procedure was repeated twice, and the methanol-water phases were collected and combined. The extracts were dried in a vacuum rotary evaporator at 140 rpm and 35°C. Then the dried residues were diluted in 1mL of methanol-water (80:10 v/v). This process was repeated three times for each sample.

High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis was carried out using the equipment Agilente HPLC 1260 Infinity (Agilent Technologies, Germany) coupled with a quaternary pump system and a diode array detector (DAD) operating at 272nm, according to Rodrigues and Bragagnolo (2013), with modifications. The stationary phase used a column C18 Zorbax Eclipse Plus (Agilent Technologies, Germany) of 100mm x 4.6mm and 3.5 μ m particle size. For elution, a system of water acidified with acetic acid (eluent A) and acetonitrile (eluent B) was applied. The gradient program was 2% B for 15 min, 50% to 70% B in 8 min, 70% to 100% B in 3 min, remaining at 100% B for 5 min, and 100% at 2%B for 2 min at a flow of 0.8ml/min. Compounds were identified by comparing their retention times to commercial standards and quantified by integrating the peak areas to a 7-point calibration curve in triplicate. Caffeine was measured within a range of 1000 to 6000 μ g/mL, trigonelline within 0.05 to 5 μ g/mL and chlorogenic acids within 0.2 to 13 μ g/mL. All analyses were performed in triplicate with the results expressed in mg/100g dry extract (mean $\pm$ SD).

2.4 Statistical analysis

The statistical analysis of variance (ANOVA) was performed by the software program Sisvar version 5.6 (Ferreira, 2014); a significant difference by the F test ($p < 0.05$) was

compared by Tukey's test at a 5% probability level. Principal component analysis and Pearson's correlation (r) at $\alpha = 0.05$ were performed using the software program Past version 4.03.

3. Results and discussion

3.1 Total phenolics and antioxidant activity

The obtained results are shown in Table 1.

Table 1. Contents of total phenolic compounds and antioxidant activity of Arabica coffee oils.

Samples	Phenolic compounds in oils (mg GAE.g ⁻¹ oil) *	DPPH TEAC (μmol. g ⁻¹ oil) **	ABTS TEAC (μmol. g ⁻¹ oil) **
Green coffee soft beverage oil	2.28 ± 0.03 ^{ab}	177.24 ± 0.70 ^a	44.98 ± 4.77 ^{ab}
Green coffee hard beverage oil	2.42 ± 0.98 ^{ab}	158.20 ± 3.64 ^b	39.78 ± 2.45 ^a
Green coffee rio beverage oil	3.74 ± 0.29 ^c	162.83 ± 2.13 ^{ab}	53.71 ± 0.82 ^{ab}
Light roast soft beverage oil	4.32 ± 0.50 ^c	175.84 ± 0.79 ^a	58.68 ± 0.43 ^{ab}
Light roast hard beverage oil	0.85 ± 0.03 ^d	168.34 ± 2.73 ^{ab}	66.79 ± 1.08 ^b
Light roast rio beverage oil	1.82 ± 0.36 ^{abd}	174.51 ± 2.32 ^a	65.06 ± 0.67 ^{ab}
Medium roast soft beverage oil	3.79 ± 0.13 ^c	162.96 ± 7.70 ^{ab}	66.57 ± 1.72 ^b
Medium roast hard beverage oil	1.31 ± 0.25 ^{ad}	172.49 ± 1.69 ^{ab}	68.29 ± 1.25 ^b
Medium roast rio beverage oil	1.97 ± 0.01 ^{abd}	178.60 ± 1.85 ^a	68.04 ± 0.88 ^b
Dark roast soft beverage oil	4.37 ± 0.38 ^c	166.56 ± 7.64 ^{ab}	56.51 ± 4.48 ^{ab}
Dark roast hard beverage oil	1.72 ± 0.05 ^{abd}	169.93 ± 1.72 ^{ab}	64.08 ± 0.90 ^{ab}
Dark roast rio beverage oil	2.49 ± 0.21 ^b	167.82 ± 1.04 ^{ab}	63.34 ± 0.83 ^{ab}

* mg GAE- Gallic acid equivalent antioxidant capacity/mg of gallic acid equivalent/gram of coffee oil

**TEAC - Trolox equivalent antioxidant capacity/μmol of Trolox equivalent/gram of coffee oil.

***Means (±standard deviation) followed by the same letter do not differ by the Tukey test at 5% probability (P<0.05%).

The content of total phenolic compounds determined by Folin-Ciocalteu (Table 1) varied amply from 0.85 to 4.37 mg GAE/g of coffee oil. Roasted oils from soft beverage quality presented the highest contents, whereas the hard and rio beverage quality displayed the highest values of total phenolic compounds in green oils. Vignoli et al. (2014) and Prior et al. (2005) emphasize that the roasting process causes a decrease in phenolic content in roasted and ground coffees, like what happens with hard and rio quality oils.

Voytena et al. (2018) found similar results to those present in this study, obtaining higher phenolic composition values in roasted coffee oils, as well as those obtained for soft beverage quality. According to some authors, variations can occur according to extraction process variables, such as temperature, time and extraction method, besides the coffee variety used for the oil extraction (Panusa et al., 2013; Ramalakshmi, 2009; Abrahão et al., 2019).

The measures of the antioxidant capacity by DPPH (Table 1) revealed that the values were stable with low variation (158.20 to 178.60 $\mu\text{mol TEAC/g oil}$). Green oil obtained from hard beverage showed the lowest content, on the other hand, oils from soft beverage quality of light roast beans and rio of medium roast showed high values.

Figures 1, 2 and 3 refer to the results of FRSA (%) for each oil concerning the beverage quality and reveal that the free radical scavenging capacity of the oils is dependent on the oil concentration.

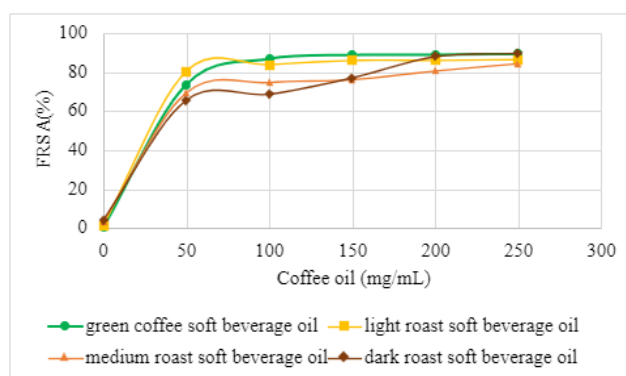


Figure 1. Free radical scavenging activity (FRSA) versus concentration of soft beverage quality coffee oils.

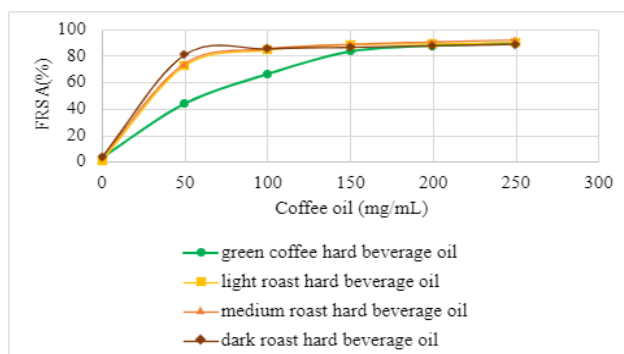


Figure 2. Free radical scavenging activity (FRSA) versus concentration of hard beverage quality coffee oil.

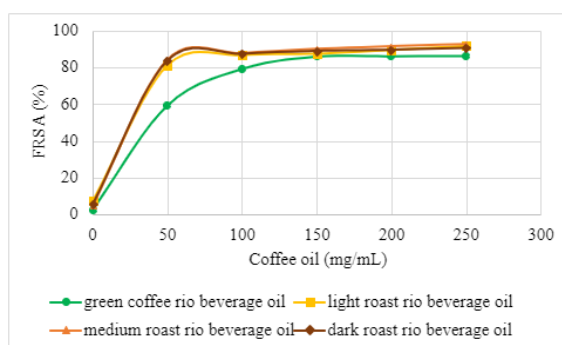


Figure 3. Free radical scavenging activity (FRSA) versus concentration of rio beverage quality coffee oils.

Regarding soft beverage oils (Figure 1), the more the oil concentration increased, the higher the percentage of FRSA (%), with the highest FRSA (%) occurring for green (90.12%) and dark roast (88.83%) oils at a concentration of 250mg/ml concerning the highest oil concentration used.

Hard beverage oils (Figure 2) presented increasing values of FRSA (%), with the highest percentages occurring for the light roast oil (89.94%) and green (89.33%). It is noteworthy that in lower concentrations of hard beverage, the roasted oils obtained higher FRSA (%) than the green one.

In rio beverage (Figure 3), the light roast (91.68%), medium (92.67%) and dark (90.61%) oils showed greater free radical scavenging capacity for the green oil, occurring for all concentrations.

According to Ferrari et al. (2010) and Spper; Kolling-Speer (2006), the antioxidant activity of green and roasted oils is a result of natural antioxidants such as sterols, phosphatides, tocopherols and diterpenes in their composition, which explains the high levels in green coffee oils of different beverage qualities, especially the soft one. According to Spper; Kolling-Speer (2006), roasting causes a decrease in antioxidant compounds such as α - and β -tocopherol, affecting the total content.

Some authors (Yeo et al., 2010; Yeo et al., 2012; Raba et al., 2015) have studied the behavior of oils subjected to heat treatments and observed that in the early stages of lipid oxidation, changes in the DPPH absorbance are due to the use of free radical scavengers. However, in more advanced oxidation stages, oxidized lipid compounds formed can react with DPPH radicals, interfering with the absorbance.

Our results corroborate Raba et al. (2015) and Yeo et al. (2010) because the free radicals generated first reacted with the antioxidant compounds from the coffee oil samples and the remaining antioxidants reacted with the DPPH. Thus, the free radicals formed by the oxidation of lipids also reacted with DPPH, inducing an increase in the percentage of DPPH inhibition and, consequently, in the FRSA (%). Overall, these values obtained from DPPH absorbance can determine the degree of lipid oxidation and the antioxidant activity in lipidic systems (Yeo et al., 2010; Lee et al., 2007; Raba et al., 2015).

To Lee et al. (2007) and Raba et al. (2015), the DPPH method is not only a measure of the number of oxidation products but is also directly related to the concentration of hydrogen-donating antioxidants or lipidic radicals generated by thermo-oxidative processes. According

to these authors, the changes in the percentage of DPPH inhibition in response to the formation of free radicals in oxidized oils can be indicators to predict the stability of oils subjected to heat stress.

Our results concerning FRSA corroborate the observations of Raba et al. (2015), where the high contents of FRSA (%) present in the roasted coffee oils of hard and rio beverage qualities also indicate a relationship with the initial oxidation state of these oils. Here we highlight the processes of oil extraction through which the beans go through may provoke the oxidation process, causing the formation of oxidation products.

According to Amorim and Silva (1968), some chemical compounds of the coffee beans exert a protective antioxidant action. However, any adverse condition to the beans, such as damage caused by insects, mechanical injuries, infection by microorganisms, inadequate harvesting, processing problems and storage, cause the polyphenol oxidase enzymes to act on these compounds with antioxidant action, triggering their oxidation process (Mazzafera et al., 2002; Carvalho et al., 1994; Souza et al., 2013; Pimenta et al., 2018). Hard and rio beverage quality beans probably went through a degree of oxidation during their processing that led to higher percentages of FRSA (%) in their oils (Raba et al., 2015).

The results for antioxidant capacity using the ABTS methodology (Table 1) represent that there was no high variation between the values (39.78 to 68.29 $\mu\text{mol TEAC/g}$ of oil). The oil samples displayed no statistical differences between soft and rio beverage qualities, however, for the hard oil, the antioxidant values of roasted oils were higher than the green ones. The ABTS method presented the best antioxidant capacity values for the medium roast oils in all beverage qualities.

To Sacchetti et al. (2009), the medium roasting degree provides increased antioxidant capacity due to increased antioxidant activity of the non-phenolic fraction (Perrone et al., 2012;

Vignoli et al., 2011). However, dark roast oils presented an antioxidant capacity reduction probably caused by instability and loss of the phenolic fraction due to the variables of the oil extraction process (Panusa et al., 2013; Ramalakshimi, 2009).

The use of moderately high temperatures characteristic of medium roasting processes produces melanoidins reported as compounds responsible for the antioxidant capacity in the high molecular weight fractions isolated from roasted coffee (Daglia et al., 2000; Liu and Kitts, 2011; Perrone et al., 2012). Besides, some volatile heterocyclic compounds produced during roasting also have high antioxidant potential (Yanagimoto et al., 2004; Shinghara et al., 1998).

Therefore, as this study indicates, a high antioxidant capacity in roasted coffee oil may not be related exclusively to the phenolic fraction, but rather to the presence of elements, such as hydrogen donor antioxidant compounds or lipidic radicals and products generated in the roasting process, such as melanoidins and volatile heterocyclic compounds.

3.2 Determination of bioactive compounds present in oils

Table 2 shows the contents of caffeine, trigonelline and chlorogenic acids in the oils.

Table 2. Contents of caffeine, trigonelline and chlorogenic acids in coffee oils (mg/100g of dry extract $\pm$ SD).

Samples	Caffeine	Trigonelline	Chlorogenic acids
Green coffee soft beverage oil	207.25 $\pm$ 4.75 ^a	0.33 $\pm$ 0.01 ^a	1.14 $\pm$ 0.02 ^a
Green coffee hard beverage oil	351.03 $\pm$ 8.18 ^b	0.29 $\pm$ 0.01 ^{ab}	0.69 $\pm$ 0.03 ^b
Green coffee rio beverage oil	273.73 $\pm$ 4.18 ^c	0.31 $\pm$ 0.00 ^{ab}	0.30 $\pm$ 0.01 ^c
Light roast soft beverage oil	192.53 $\pm$ 6.74 ^a	0.32 $\pm$ 0.04 ^a	0.09 $\pm$ 0.01 ^d
Light roast hard beverage oil	334.74 $\pm$ 1.30 ^b	0.28 $\pm$ 0.01 ^{ab}	0.14 $\pm$ 0.03 ^{ef}
Light roast rio beverage oil	269.38 $\pm$ 7.73 ^c	0.25 $\pm$ 0.05 ^b	0.16 $\pm$ 0.01 ^f

Medium roast soft beverage oil	184.12 ± 6.60 ^a	0.03 ± 0.00 ^c	0.07 ± 0.00 ^{dg}
Medium roast hard beverage oil	336.45 ± 4.97 ^b	0.05 ± 0.00 ^c	0.09 ± 0.00 ^{de}
Medium roast rio beverage oil	266.11 ± 4.10 ^c	0.03 ± 0.00 ^c	0.04 ± 0.00 ^{dg}
Dark roast soft beverage oil	205.18 ± 5.20 ^a	0.02 ± 0.00 ^c	0.04 ± 0.00 ^{dg}
Dark roast hard beverage oil	338.15 ± 1.19 ^b	0.02 ± 0.00 ^c	0.04 ± 0.00 ^{dg}
Dark roast rio beverage oil	275.13 ± 1.09 ^c	0.01 ± 0.00 ^c	0.02 ± 0.00 ^g

Table 2 shows the contents of caffeine, trigonelline and chlorogenic acids (mg/100g of dry extract) present in the coffee oil samples. The caffeine content did not show high variation (184.12 to 351.03 mg/100g dry extract). Oil samples of the same coffee quality were statistically equal with the highest levels found for hard beverage oils. According to Kathurima et al. (2009) and Dessalegn et al. (2008), caffeine content has no direct correlation with beverage quality. To Farah (2012), caffeine is highly dependent on the coffee species and does not significantly change during the coffee bean roasting process due to the molecule's thermal stability. Here, it is worth mentioning that the coffee samples from the same beverage quality for this study came from different locations, which may have probably resulted in the difference in caffeine content of the oils.

As to the absolute contents of trigonelline and chlorogenic acids, the green and light roast oils had the highest contents, especially the green soft beverage oil. On the other hand, the medium and dark roast oils displayed the lowest values, mainly the dark roast rio beverage oil. The results report a reduction in the contents of trigonelline (soft 93.32%, hard 92.64% and rio 96.03%) and chlorogenic acids (soft 96.14%, hard 93.85% and rio 91.83%) as the roasting intensity increases.

Trigonelline content depends on the species, time, and temperature of roasting, whose degradation during the process is a relevant characteristic. The light roasting process did not cause a high drop in trigonelline concentrations, these values being close to the levels obtained in green oils for all beverages. However, trigonelline in medium and dark roasts suffered a process of thermal degradation into volatile compounds such as pyridines, N-methylpyrrole and nicotinic acid, a fact described by other authors (De Maria et al., 1999; Casal et al., 2000; Trugo and Macrae, 1984; Vignoli et al., 2014).

Concerning the content of chlorogenic acids, the green, soft, hard and rio oils were statistically different, with the soft beverage oil presenting the highest values. The green oils had the highest contents of chlorogenic acids, whereas the roasted ones displayed lower contents, especially the rio quality oils. The other soft and hard oils had considerable contents of chlorogenic acids demonstrating their antioxidant potential, nonetheless, the roasting process that leads to a decrease in their content also contributes to the formation of the final aroma and flavor of roasted coffee (Trugo & Macrae, 1986). These oils, even at lower concentrations, possess a certain content of chlorogenic acids and are therefore capable of promoting some increase in these compounds; besides the expressive aromatic potential already shown in other studies (Vignoli et al., 2014; Oliveira et al., 2011; Frascareli et al., 2012).

In summary, caffeine content was stable in oils from the same beverage quality. Trigonelline contents in green and light roast oils for all beverage qualities was close one another, which demonstrates that the milder roast does not cause high degradation. The contents of chlorogenic acids degraded in the roasting process caused the roasted oils of hard and soft beverage qualities to present lower values, yet expressive compared to the rio ones.

3.3 Principal Component Analysis and Pearson Correlation

Principal component analysis (PCA) was performed to verify the relationship between antioxidant activity and bioactive composition of coffee oil samples. The first two principal components represented 69.26% of the total variation.

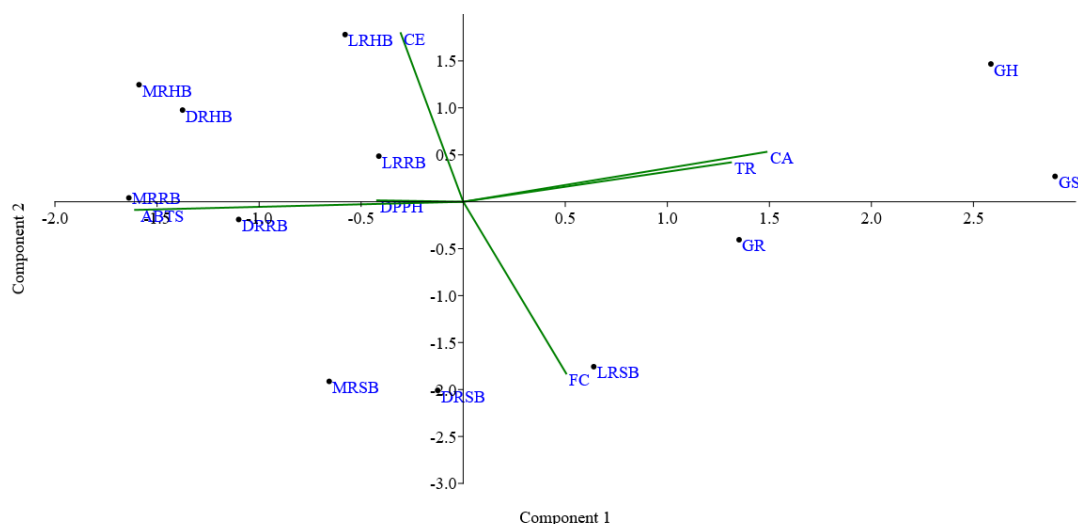


Figure 4. Analysis of principal components corresponding to coffee oil samples and their respective antioxidant activity and bioactive composition. Samples: green coffee soft beverage (GS), green coffee hard beverage (GH), green coffee soft beverage (GR), light roast soft beverage (LRSB), light roast hard beverage (LRHB), light roast rio beverage (LRRB), medium roast soft beverage (MRSB), medium roast hard beverage (MRHB), medium roast rio beverage (MRRB), dark roast soft beverage (DRSB), dark roast hard beverage (DRHB) and dark roast rio beverage (DRRB); chemical composition: phenolic compounds (FC), ABTS analysis (ABTS), DPPH analysis (DPPH), caffeine (CE), chlorogenic acids (CA) and trigonelline (TR).

Principal component 1 was mainly characterized by the contents of DPPH, ABTS, chlorogenic acids and trigonelline. Principal component 2 was better explained by the phenolic compounds and caffeine. As reported in Figure 4, the green oils located at the top have the highest levels of chlorogenic acid, trigonelline. Roast soft beverage oils had high contents of phenolic compounds. Concerning caffeine, the roast hard beverage oils were close to one another, showing higher values. Regarding the antioxidant activity, both the ABTS and DPPH of the roast oils from the rio beverage exhibited the most expressive contents.

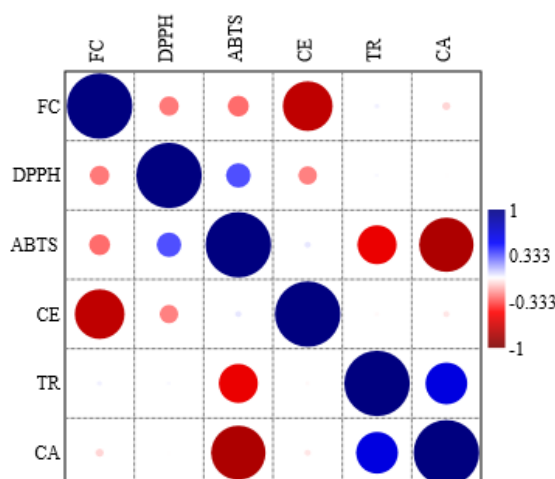


Figure 5. Pearson correlation (r) at $\alpha = 0.05$. Chemical composition: phenolic compounds (FC), ABTS analysis (ABTS), DPPH analysis (DPPH), caffeine (CE), chlorogenic acids (CA) and trigonelline (TR).

Figure 5 shows the positive Pearson correlations between the following substances: phenolic compounds and trigonelline, DPPH and trigonelline, and ABTS and caffeine, with the correlations between DPPH and ABTS (0.344), and trigonelline and chlorogenic acids (0.619) as the most expressive.

However, in the matrix of coffee oils from different beverages, especially in the roasted ones, it is difficult to observe a straight correlation between the antioxidant activity and the content of potential bioactive compounds due to the variation in the extraction process that directly interferes with the chemical composition of the oil and the simultaneous degradation and formation of different compounds in the process. This fact can be observed in low and also negative values found in the correlations between phenolic compounds and trigonelline (0.027), DPPH and trigonelline (0.011), ABTS and caffeine (0.047), phenolic compounds and caffeine (-0.747), phenolic compounds and chlorogenic acids (-0.081), DPPH and caffeine (-0.247), DPPH and chlorogenic acids (-0.004), ABTS and trigonelline (-0.576) and ABTS and chlorogenic acids (-0.820).

By observing the samples of rio beverage oils with high antioxidant activity, it is noticeable that their bioactive contents, especially of the chlorogenic acids and trigonelline, are inexpressive, nevertheless, with considerable caffeine content. Some studies suggest that the antioxidant activity may be related to a higher caffeine content (Lopez-Galilea, De Peña and Cid, 2007; Vignoli et al., 2011; Vignoli et al., 2014; Pérez-Hernández et al., 2012). Therefore, the antioxidant capacity of different coffee oils is probably not only related to their bioactive content but also to the formation and presence of several other compounds (Raba et al., 2015; Vignoli et al., 2014; Borrelli et al., 2002; Wang et al., 2011) be related to coffee processing, such as the extraction method and the roasting process for the roasted oils (Raba et al., 2015; Budryn et al., 2012).

4. Conclusion

Samples of coffee oils from different green beverages and roasting degrees showed remarkable antioxidant potential, which is probably a consequence of the species, location, extraction method and processing conditions of the oils. Caffeine was stable in all oils, whereas trigonelline was degraded in oils extracted from coffees of more severe roasts (medium and dark), as for chlorogenic acids, there was degradation in roasted oil samples compared to the green ones. Coffee oils from superior beverage quality presented higher contents of trigonelline and chlorogenic acids regardless of the condition of the beans at the time of the oil extraction. The high antioxidant capacity obtained in roasted rio beverage oils is not exclusive of the bioactive contents of trigonelline and chlorogenic acids and, therefore, must be influenced by other compounds formed in the coffee oil processing. Green and roasted soft and hard beverage oils contain considerable fractions of antioxidant and bioactive compounds.

References

Abrahão, S. A., Pereira, R. G. F. A., Duarte, S. M. D. S., Lima, A. R., Alvarenga, D. J., & Ferreira, E. B. (2010). Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, 34, 414-420.

Abrahão, F. R., Rocha, L. C. R., Santos, T. A., do Carmo, E. L., Pereira, L. A. S., Borges, S. V., Pereira, R. G. F. A. P., & Botrel, D. A. (2019). Microencapsulation of bioactive compounds from espresso spent coffee by spray drying. *LWT*, 103, 116-124.

Abramovič, H., Butinar, B., & Nikolič, V. (2007). Changes occurring in phenolic content, tocopherol composition and oxidative stability of *Camelina sativa* oil during storage. *Food chemistry*, 104(3), 903-909.

Amorim, H. V., & Silva, D. M. (1968). Relationship between the polyphenol oxidase activity of coffee beans and the quality of the beverage. *Nature*, 219(5152), 381-382.

Babbar, N., Oberoi, H. S., Uppal, D. S., & Patil, R. T. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food research international*, 44(1), 391-396.

Bravo, J., Arbillaga, L., de Peña, M. P., & Cid, C. (2013). Antioxidant and genoprotective effects of spent coffee extracts in human cells. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 397-403.

Borges, M. L. A., Mendonça, J. C. F., Franca, A. S., Oliveira, L. D., & Corrêa, P. C. (2004). Efeito da torração em parâmetros físicos de cafés de diferentes qualidades. *Revista Brasileira de Armazenamento*, v. *Especial Café*, 6-13.

Borrelli, R. C., Visconti, A., Mennella, C., Anese, M., & Fogliano, V. (2002). Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6527-6533.

Budryn, G., Nebesny, E., Żyżelewicz, D., Oracz, J., Miśkiewicz, K., & Rosicka Kaczmarek, J. (2012). Influence of roasting conditions on fatty acids and oxidative changes of Robusta coffee oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(9), 1052-1061.

Carvalho, V. D., Rezende Chagas, S. J., Chalfoun, S. M., Botrel, N., & Junior, E. S. G. J. (1994). Relação entre a composição físico-química e química do grão beneficiado e a qualidade de bebida do café 1-Atividades de polifenoloxidase e peroxidase, índice de coloração de acidez. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 29(3), 449-454.

Casal, S., Oliveira, M. B. P. P., Alves, M. R., & Ferreira, M. A. (2000). Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid, and caffeine content. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3420-3424.

Coelho, C., Ribeiro, M., Cruz, A. C., Domingues, M. R. M., Coimbra, M. A., Bunzel, M., & Nunes, F. M. (2014). Nature of phenolic compounds in coffee melanoidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(31), 7843-7853.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de café. v. 8 - Safra 2021 - n. 3 - Terceiro levantamento | Setembro 2021. Available at: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>>. Accessed on: Oct., 18, 2021.

Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Bertè, F., & Gazzani, G. (2000). In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1449-1454.

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.

Dessalegn, Y., Labuschagne, M. T., Osthoff, G., & Herselman, L. (2008). Genetic diversity and correlation of bean caffeine content with cup quality and green bean physical characteristics in coffee (*Coffea arabica* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(10), 1726-1730.

Dönmez, Ö., Mogol, B. A., & Gökmen, V. (2017). Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 901-907.

Esquivel, P., & Jimenez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46(2), 488-495.

Farah, A. (2012). Coffee constituents. In: Chu, Yi-Fang (ed.). *Coffee: Emerging health effects and disease prevention: John Wiley & Sons*, (pp. 21–58), Oxford, England.

Farah, A., & Donangelo, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian journal of plant physiology*, 18, 23-36.

Farah, A., de Paulis, T., Trugo, L. C., & Martin, P. R. (2005). Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(5), 1505-1513.

Ferrari, M., Ravera, F., De Angelis, E., Liverani, F. S., & Navarini, L. (2010). Interfacial properties of coffee oils. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 365(1-3), 79-82.

Ferreira, D. F. (2014). Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e agrotecnologia*, 38, 109-112.

Frascareli, E. C., Silva, V. M., Tonon, R. V., & Hubinger, M. D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and bioproducts processing*, 90(3), 413-424.

Guillén, M. D., Cabo, N., Ibargoitia, M. L., & Ruiz, A. (2005). Study of both sunflower oil and its headspace throughout the oxidation process. Occurrence in the headspace of toxic oxygenated aldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4), 1093-1101.

Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86(3), 345-391.

Hernández, J. A., Heyd, B., Irls, C., Valdovinos, B., & Trystram, G. (2007). Analysis of the heat and mass transfer during coffee batch roasting. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1141-1148.

Illy, A., & Viani, R. (Eds). (1995). Espresso coffee: the chemistry of quality. San Diego: CRC Press.

Jeong, M. K., Yeo, J., Jang, E. Y., Kim, M. J., & Lee, J. (2012). Aldehydes from oxidized lipids can react with 2, 2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) free radicals in isooctane systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(10), 1831-1838.

Kathurima, C. W., Gichimu, B. M., Kenji, G. M., Muhoho, S. M., & Boulanger, R. (2009). Evaluation of beverage quality and green bean physical characteristics of selected Arabica coffee genotypes in Kenya.

Lee, J., Chung, H., Chang, P. S., & Lee, J. (2007). Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *Food Chemistry*, 103(2), 662-669.

Liu, Y., & Kitts, D. D. (2011). Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews. *Food Research International*, 44(8), 2418-2424.

López-Galilea, I., De Pena, M. P., & Cid, C. (2007). Correlation of selected constituents with the total antioxidant capacity of coffee beverages: influence of the brewing procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6110-6117.

Malta, M. R. (2011). Processamento e qualidade do café. *Informe Agropecuário*, 32, (261): 7-16. Available at: http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_agropecuario/ia_cafe_producao_qualidade.pdf>. Accessed on: Oct, 16, 2020.

Mazzafera, P., Gonçalves, K. V., & Shimizu, M. M. (2002). Extração e dosagem da atividade da polifenoloxidase do café. *Scientia Agrícola*, 59, 695-700.

Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. D., Coube, C. S., & Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy research*, 15(2), 127-130.

Moreira, I., Scheel, G. L., Hatumura, P. H., & Scarminio, I. S. (2014). Efeito do solvente na extração de ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina em *Coffea arabica*. *Química Nova*, 37(1), 39-43.

Oliveira, A. L., Silva, S. S., Da Silva, M. A. P., Eberlin, M. N., & Cabral, F. A. (2007). Sensory and Yield Response Surface Analysis of Supercritical CO. *J. Food Sci*, 38(7), 38-42.

Oliveira, P. M. A. (2013). *Óleo de grãos de café verde obtido por extração supercrítica, extração com fluido pressurizado e comparação de sua composição com o óleo de café extraído pelos pequenos produtores do estado de São Paulo – análise da concentração de compostos bioativos*. 2013. 102 f (Dissertação de mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo.

Oliveira, A. L. D., Cruz, P. M., Eberlin, M. N., & Cabral, F. A. (2005). Brazilian roasted coffee oil obtained by mechanical expelling: compositional analysis by GC-MS. *Food Science and Technology*, 25, 677-682.

Panusa, A., Zuorro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., & Petrucci, R. (2013). Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(17), 4162-4168.

Perrone, D., Farah, A., & Donangelo, C. M. (2012). Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(17), 4265-4275.

Pérez-Hernández, L. M., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L. Á., & Gámez Meza, N. (2012). Phenolic characterization, melanoidins, and antioxidant activity of some commercial coffees from *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 56(4), 430-435.

Pimenta, C. J., Angélico, C. L., & Chalfoun, S. M. (2018). Challenges in coffee quality: Cultural, chemical and microbiological aspects. *Ciência e Agrotecnologia*, 42, 337-349.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.

Raba, D. N., Poiana, M. A., Borozan, A. B., Stef, M., Radu, F., & Popa, M. V. (2015). Investigation on crude and high-temperature heated coffee oil by ATR-FTIR spectroscopy along with antioxidant and antimicrobial properties. *PloS one*, 10(9), e0138080.

Ramalakshmi, K., Rao, L. J. M., Takano-Ishikawa, Y., & Goto, M. (2009). Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems. *Food Chemistry*, 115(1), 79-85.

Ribeiro, J. M. (2015). *Estudo da composição química e das atividades antioxidante e antibacteriana dos óleos extraídos dos grãos de café (Coffea arabica) cru e torrado*. 2015. 72f (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina.

Rodrigues, N. P., & Bragagnolo, N. (2013). Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC–DAD–MSn. *Journal of Food Composition and Analysis*, 32(2), 105-115.

Sacchetti, G., Di Mattia, C., Pittia, P., & Mastrocola, D. (2009). Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. *Journal of Food Engineering*, 90(1), 74-80.

Shinghara, A., Macku C., Shibamoto, T. (1998). Atividade antioxidante de extratos de café fermentado. Em alimentos funcionais para prevenção de doenças II: Plantas medicinais e outros alimentos. Shibamoto, T., Terao, J., Osawa, T. (Eds.), Symposium Series ACS, 701, American Chemical Society, Washington, 101 – 109.

Silva, L. D. S., Souza, M. C. C. D., Kitzberger, C. S. G., & Scholz, M. B. D. S. (2015). Caracterização do óleo de café com diferentes teores de diterpenos. In: *IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, Curitiba, Paraná, Brasil.

Sousa, C. M. D. M., Silva, H. R., Vieira-Jr, G. M., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S. D., Araújo, D. S., Cavalcante, L. C. D., Barros, E. D. S., Araújo, P. B. M., Brandão, M. S., & Chaves, M. H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química nova*, 30, 351-355.

Souza, A. J. D. J., Matsumoto, S. N., Malta, M. R., & Guimarães, R. J. (2013). Qualidade do café arborizado e a pleno sol, em manejo pós-colheita no sudoeste da Bahia.

Speer, K., & Kölling-Speer, I. (2006). The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 201-216.

Stelmach, E., Pohl, P., & Szymczycha-Madeja, A. (2015). The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. *Food chemistry*, 182, 302-308.

Sucupira, N. R., da Silva, A. B., Pereira, G., & da Costa, J. N. (2012). Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. *Journal of Health Sciences*, 14(4).

Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., & Baraniak, B. (2017). Wheat bread enriched with green coffee—In vitro bioaccessibility and bioavailability of phenolics and antioxidant activity. *Food chemistry*, 221, 1451-1457.

Trugo, L. C., & Macrae, R. (1984). A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. *Food Chemistry*, 15(3), 219-227.

Trugo, L. C., & Macrae, R. (1986). An investigation of coffee roasting using high performance gel filtration chromatography. *Food chemistry*, 19(1), 1-9.

Valenzuela, A., & Nieto, S. (1996). Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasas y aceites. Grasas y Aceites*, Sevilla, 47(3), 186-196.

Vignoli, J. A., Bassoli, D. G., & Benassi, M. D. T. (2011). Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food chemistry*, 124(3), 863-868.

Vignoli, J. A., Viegas, M. C., Bassoli, D. G., & de Toledo Benassi, M. (2014). Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Research International*, 61, 279-285.

Voytena, A. P. L., Affonso, R. C. L., da Silva Pitz, H., Ramlov, F., Alberti, T., Sousa Coelho, D., Pereira, A., Navarro, B. B., Fanan, S., Casagrande, M. Ribeiro-do-Valle, R. M. & Maraschin, M. (2018). Phytochemical profile and in vitro assessment of the cytotoxicity of green and roasted coffee oils (*Coffea arabica* L.) and their polar fractions. *Records of Natural Products*, 12(2), 1.

Wagemaker, T. A., Silva, S. A., Leonardi, G. R., & Campos, P. M. M. (2015). Green *Coffea arabica* L. seed oil influences the stability and protective effects of topical formulations. *Industrial Crops and Products*, 63, 34-40.

Wang, X., & Lim, L. T. (2015). Physicochemical characteristics of roasted coffee. In: Preedy, V. R. *Coffee in health and disease prevention* (pp. 247-254). Academic Press.

Wang, H. Y., Qian, H., & Yao, W. R. (2011). Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food chemistry*, 128(3), 573-584.

Yanagimoto, K., Ochi, H., Lee, K. G., & Shibamoto, T. (2004). Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(3), 592-596.

Yeo, J., Jeong, M. K., & Lee, J. (2010). Application of DPPH absorbance method to monitor the degree of oxidation in thermally-oxidized oil model system with antioxidants. *Food Science and Biotechnology*, 19(1), 253-256.

Yeo, J., Jeong, M. K., & Lee, J. (2012). Correlation of antioxidant content and absorbance changes of DPPH during lipid oxidation. *Food Science and Biotechnology*, 21(1), 199-203.

Zain, M. Z. M., Baba, A. S., & Shori, A. B. (2018). Effect of polyphenols enriched from green coffee bean on antioxidant activity and sensory evaluation of bread. *Journal of King Saud University-Science*, 30(2), 278-282.

Zanin, R. C., Corso, M. P., Kitzberger, C. S. G., dos Santos Scholz, M. B., & de Toledo Benassi, M. (2016). Good cup quality roasted coffees show wide variation in chlorogenic acids content. *LWT*, 74, 480-483.

Capítulo V- Use of coffee oil in yogurts and determination of phenols and antioxidant capacity

O quinto capítulo relata a adição do óleo de café em iogurtes e a avaliação da capacidade antioxidante, composição fenólica durante o período de armazenamento, além da verificação microbiológica e aceitação sensorial da bebida.

ABSTRACT

Coffee is a product with high worldwide representation and the use of its by-products has been gaining market share. In the present study, yogurt formulations containing oils from green and roasted Arabica coffee of light, medium and dark roasts from batches scored as soft, hard and rio beverages were processed and chemically analyzed concerning the phenolic substances, antioxidant capacity and total titratable acidity during the product storage time. The total titratable acidity of the formulations increased with the increase of bacterial lactic acid, decrease of beverage quality, and increase in roasting intensity. The addition of coffee oils increased the yogurts phenolic content over the storage time. The DRRB formulation (yogurt containing coffee oil from the dark roast beans of rio cup quality) had higher phenolic content and preserved its content during storage. The antioxidant capacity of dark roast formulations showed high values compared to the standard, this suffered direct interference from the phenolic-protein interaction causing increase and decrease in different formulations, showing the importance of sample conditions (interaction) at the time of analysis. All formulations were within microbiological standards. In general, the formulations containing oils in dark soft and hard beverage roasts had better sensory acceptance, in addition to having a positive purchase intention. Therefore, roasted coffee oils are a promising food source for use in other food formulations.

Index terms: coffee yogurt; phenolic compounds; antioxidant activity; sensory.

RESUMO

O café constitui um produto com elevada representatividade mundial e a utilização de seus subprodutos vem ganhando participação no mercado. No presente estudo óleos de café arábica verde e torrado em torras clara, média e escura obtidos de cafés de bebida mole, duro e rio foram adicionados em formulações de iogurtes. Os iogurtes foram processados e os óleos adicionados assim quantificou-se as substâncias fenólicas, a capacidade antioxidante e acidez total titulável no decorrer do tempo de armazenamento por meio de análises químicas. Foram também verificadas as condições microbiológicas e sensoriais. A acidez total titulável das formulações aumentou de acordo com a elevação das bactérias lácticas, piora da qualidade da bebida e aumento da intensidade de torra. A adição dos óleos aumentou o conteúdo fenólico dos iogurtes. A formulação TEBR (iogurte adicionado de óleo de café em torra escura de bebida rio) apresentou maior conteúdo fenólico e melhor preservou durante o armazenamento. A capacidade antioxidante das formulações em torra escura apresentaram elevados valores em relação ao padrão, esta sofreu interferência direta da interação fenólicos- proteína causando aumento e diminuição em diferentes formulações, exibindo a importância das condições da amostra (interação) no momento da análise. Todas as formulações estavam dentro dos padrões microbiológicos. Em geral, as formulações contendo óleos em torra escura de bebida mole e duro tiveram melhor aceitação sensorial, além de ter apresentado intenção de compra positiva. Portanto, os óleos de café torrados constituem uma fonte alimentícia promissora para utilização em outras formulações alimentares.

Termos para indexação: Iogurte de café; compostos fenólicos; atividade antioxidante; sensorial.

INTRODUCTION

Plants produce a plethora of secondary metabolites, among which the phenolic compounds, due to their antioxidant, anti-inflammatory, anti-mutagenic and anticoagulant properties have been highlighted (Karaaslan et al., 2011; Fresco et al., 2010; Han et al. 2007; Loke et al., 2010; Pimpley e Murthy, 2021; Vu et al., 2021). Some by-products of the coffee industry have been used as active ingredients in many products to increase oxidative stability and the content of phenolic compounds (Wagemaker, 2015; Świeca et al., 2017; Zain, Baba and Shori, 2018; Donmez et al. al. 2017). The vegetable oil extracted from coffee is mainly composed of triacylglycerols with fatty acids and has a composition like that found in common edible vegetable oils (Speer; Kolling-Speer, 2006). According to Raba et al. (2015), there is a growing interest in the antioxidant and antimicrobial properties of coffee oil as a food ingredient since it can improve the preservation of a food formulation.

Vignoli et al. (2014) and Voytena et al. (2018) point out that although green coffee oil has wide dissemination in the industry, roasted coffee oil also has a high potential to be studied. Ferrari et al. (2010) claim that the roasted coffee oil promotes a very stable emulsion compared to pure vegetable oils since roasting (concerning possible changes in lipid components), unsaponifiable compounds, liposoluble aromatic compounds, Maillard reaction products may represent additional sources of surface-active compounds that facilitate stabilization.

Yogurt is a fermented dairy product with important nutritional characteristics, nonetheless, not considered a significant source of phenolic compounds (O'Connel, Fox; 2001; Karaaslan et al., 2011). Some factors can interfere with the level of phenolics present in yogurts, such as cattle feed, contamination in the production line through sanitizing agents, and bacterial decomposition of milk proteins (O'Connel, Fox; 2001). Therefore, the use of other food ingredients constitutes an alternative to increasing the phenolic content in yogurts.

According to Jakobek (2015) polyphenols can interact with proteins, resulting in the formation of a protein-polyphenol complex. Many researchers have already discussed the formation of this complex (Siebert et al., 1996; Jobstl et al., 2004; Richard et al., 2006; Donmez et al., 2017; Shalaby e Elhassaneen, 2021). Duarte and Farah (2011) suggested that interactions between milk constituents and coffee polyphenols can harm the bioavailability of coffee polyphenols in humans. For Beril et al (2020) several factors affect the bioavailability of phenolic compounds, and the most relevant is the food matrix, but it is known that polyphenol protein interactions are influenced by several factors such as temperature, pH, type and concentration of food components and phenolic compounds.

However, studies suggest additional positive effects of the polyphenol-protein interactions. According to Shpigelman et al. (2010), the proteins are good polyphenol carriers in the gastrointestinal tract, and the complexes formed can protect the polyphenols against oxidative degradation. On the other hand, the association between polyphenols and proteins can affect the antioxidant activity of polyphenols as mentioned by Hasni et al. (2011) and, according to other authors, this association in the presence of milk proteins can mask the antioxidant activity of polyphenols (ARTS et al., 2002).

For Donmez et al. (2017), the polyphenols present in coffee can interact with the yogurt casein micelles and, through this protein-polyphenol interaction, promote the strength of the casein network and help stabilize the structure of the final product, in addition, Shalaby and Elhassaneen (2021) show that the supplementation of yogurts with coffee-based extracts can intensify the antioxidant activity, causing beneficial effects on health.

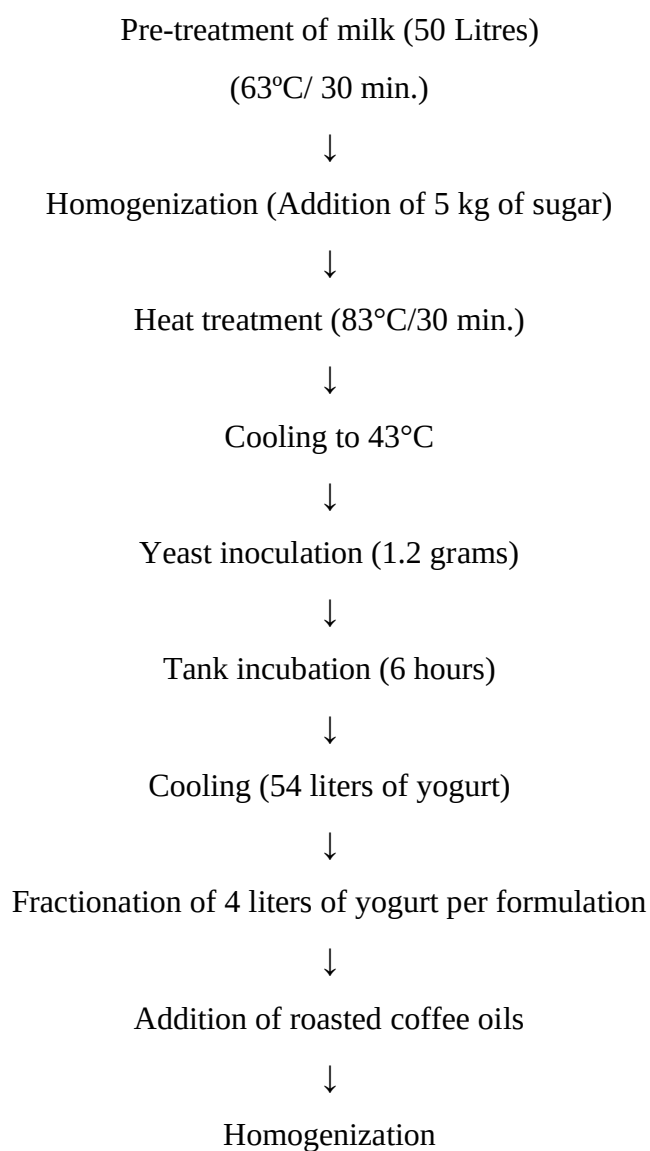
Thus, this work aimed to increase the phenolic content of yogurt using coffee oil from raw beans (green) and roasted at different roasting points, in addition to these oils coming from coffees with different qualities aiming at beneficial effects on human health.

MATERIAL AND METHODS

Production Yogurts with Coffee Oils

The yogurts were processed at the Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais- Campus Inconfidentes. The coffee-flavored yogurts were formulated using fresh milk, sugar, traditional yeast culture (Rica Nata® lactic yeast - containing cultures of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*) and coffee oils.

Figure 1 shows the yogurt production flowchart:





Filling (one-liter-opaque-polyethylene containers) and
Storage (2-10°C)

Graph 1. Flowchart of coffee-flavored yogurt preparation.

Approximately 4.15 liters of the product were processed per formulation, with the addition of coffee oils separately, followed by homogenization and the filling of recipients. The formulations were defined according to Table 1:

Table 1. Amount(g) of coffee oil present in 1 liter of each yogurt formulation.

Formulation	Coffee oil concentration (g/L)
S- Standard	0
GM- Formulation 1	4.45 green coffee, soft beverage
GH- Formulation 2	4.45 green coffee, hard beverage
GR- Formulation 3	4.45 green coffee, rio beverage
LRSB- Formulation 4	4.45 light roast, soft beverage
LRHB- Formulation 5	4.45 light roast, hard beverage
LRRB- Formulation 6	4.45 light roast, rio beverage
MRSB- Formulation 7	4,45 medium roast, soft beverage
MRHB- Formulation 8	4,45 medium roast, hard beverage
MRRB- Formulation 9	4,45 medium roast, rio beverage
DRSB- Formulation 10	4,45 dark roast, soft beverage
DRHB- Formulation 11	4,45 dark roast, hard beverage
DRRB- Formulation 12	4,45 dark roast, rio beverage

Caption: S- standard formulation, GM- yoghurt added with green coffee oil soft drink, GH- yoghurt added with green coffee oil hard drink, GR- yoghurt added with green coffee oil rio drink, LRSB- yoghurt added with coffee oil roasting clear soft drink, LRHB- yoghurt added with coffee oil roasting light hard drink, LRRB- yoghurt added with coffee oil light roasting rio drink, MRSB- yoghurt added with coffee oil medium roasting soft drink, MRHB- yoghurt added with coffee oil coffee roast medium hard drink, MRRB- yoghurt added with coffee oil medium roast drink rio, DRSB- yoghurt with added coffee oil dark roast soft drink, DRHB- yoghurt added with coffee oil dark roast hard drink, DRRB- yoghurt added with coffee oil coffee oil roasting dark drink rio.

Microbiological Analyses

Microbiological analyses concerning molds and yeasts (ISO 21527-1 and 2:2008), and lactic bacteria (APHA, 2001) and coliforms at 30°C and 45°C (ISO 4832:2006) were carried out a day after processing the product to verify its sanitary condition with results expressed in Colony Forming Units per gram of yogurt UFC/g.

Total Titratable Acidity

The total acidity (TA) of the samples was determined by means of titrations with standardized 0.01 N NaOH solutions and phenolphthalein as the indicator, following the analytical standards of Instituto Adolfo Lutz (2008). Each measurement was conducted in triplicate during days 0, 15 and 30 days after the yogurts processing. TA was expressed in grams of lactic acid per 100g of sample.

Yogurt extracts

The extracts were obtained at 0 and 30 days, according to Karaaslan et al. (2011), with modifications. The preparation used 40g of yogurt mixed with 60mL of acidified methanol (methanol containing 200 μ L of concentrated HCl). Then the mixture was left for overnight incubation at 4°C. The mixture was filtered using the Whatman #1 filter paper, and the remaining residue washed with HCl acidified methanol until colorless.

Finally, this extract was set apart to determine the phenolic compounds and antioxidant activity by DPPH and ABTS at 0 and 30 days after processing.

Total Phenolic Compounds

The content of phenolic compounds in the yogurts was assessed using a method adapted from Slinkard and Singleton (1977). Samples of 0.03 ml of the extract along with 2.370 ml of distilled water and 0.15 ml of Folin-Ciocalteu reagent were poured into test tubes, being then vigorously shaken.

After 8 minutes, 0.45mL of saturated NaCO₃ was added to the samples, which were shaken again and left for 30 minutes in the dark at room temperature. Absorbance was measured at 750nm, and the content of phenolic compounds was determined using a standard curve with

gallic acid (detection range 2.5-125µg/mL). The results were expressed in mg of gallic acid equivalent per kg of yogurt.

Free radical scavenging activity - DPPH

The free radical scavenging activity of the extracts was determined by a modified DPPH assay (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) as described by Blois (1958). A solution of 0.1mM DPPH in ethanol was prepared and added to 0.1ml of the yogurt extracts at various concentrations (667-6670mg/ml). After the addition of 2.9mL of DPPH, the samples were incubated for 30 minutes in the dark. Absorbance was at 517 nm and the free radical scavenging activity (FRSA) was calculated based on Equation 1:

$$FRSA (\%) = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100 \text{ (Equation 1)}$$

Where *Ac* represents the absorbance of the DPPH solution (control solution) and *As* is the absorbance of the sample.

A Trolox calibration curve was prepared (detection range 0.01 - 2.00 mM) and the results expressed as Trolox-equivalent antioxidant capacity (TEAC, µmol/g yoghurt) and as FRSA (%).

Total antioxidant activity by the ABTS+ radical

The total antioxidant activity by the ABTS+ radical (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) was determined using the methodology of Babbar et al. (2011) with modifications. Initially, two aqueous solutions of ABTS (7mmol/L) and potassium persulfate (2.45mmol/L) were prepared. Both solutions were mixed in the same proportion and stored in an amber flask for 16 hours at room temperature, giving rise to the

ABTS⁺ solution. The ABTS⁺ solution used in the analysis was diluted in ethanol until it reached a reading of approximately 700 to 734nm.

Then 1.9 mL of ABTS⁺ solution was added to 100 μ L of yogurt extracts to be analyzed. Samples were shaken vigorously and kept in the dark for 10 minutes at room temperature. The readings were taken at 734nm using ethanol as the blank and compared to the standard Trolox curve (detection range 1-50 μ g/mL). Finally, the results were expressed as Trolox-equivalent antioxidant capacity (TEAC, μ mol/g yogurt).

Sensory analysis

The The sensory analysis was carried out only after approval by the Research Ethics Committee (CEP) of the State University of Campinas (Unicamp) under Opinion number: 4.711.465, in a home environment due to the Covid-19 pandemic.

Acceptance, purchase intent and ideal tests were carried out on two consecutive days in two daily sessions when the participants sampled the products twice (Stone, Sidel; 1993). The samples were randomly and unbiasedly presented (Wakeling, Macfie, 1995), 30mL of sample in 50mL disposable cups coded with properly sealed three-digit numbers. The sampling sessions happened in the morning from 9 to 11 am and in the afternoon from 2 to 5 pm, when the tasters were instructed to taste seven and six formulations in each session, respectively. These analyses were carried out according to how long the tasters usually drink coffee. The research participant was asked to leave a glass of water available and an internet device to fill in the online forms during the test.

Fifty participants took part in the tests, and for the acceptance one, the tasters evaluated the attributes of appearance, aroma, taste, texture, homogeneity and overall impression using a nine-point hedonic scale varying from 1 to 9 where 1- extremely disliked and 9- extremely liked (Stone, Sidel; 1993). Purchase intent about the samples was determined using a five-point scale

varying from 1 - would certainly not buy to 5 - would certainly buy (Meilgaard; Civille; Carr, 1987). The ideal test verified the sample with the ideal coffee flavor and aroma through a structured scale varying from -4 - extremely less than ideal to +4 - extremely more than ideal, according to Stone and Sidel (1993).

Statistical analysis and chemometric

The results obtained in this study correspond to the mean from three repetitions $\pm$ the standard deviation. The data were analyzed with analysis of variance (ANOVA) using the statistical software program Sisvar developed by Ferreira (2014). The means were compared by Tukey's honestly significant difference at a 5% probability level ($p < 0.05$). A principal component analysis (PCA) and a hierarchical cluster analysis (HCA) were applied using the statistical software Past version 4.03 for sample analysis. PCA was applied to separate the samples according to variable values based on linear correlations. The HCA was performed to assess the similarities between the samples according to the analyzed variables. Thus, sample similarities were calculated based on the Euclidean metric and Ward's method was used to form and suggest groups of similar samples.

RESULTS AND DISCUSSION

Microbiological analysis

The results of the microbiological analyses displayed in Table 2 do not show any statistical differences at the 5% level between the samples for molds and yeasts, coliforms at 30 °C and 45 °C and lactic acid bacteria. The microbiological quality of yogurt met the Brazilian Technical Regulation (Brasil, 2007). It is worth mentioning that the yogurt processing steps for this study were carried out in good hygienic-sanitary conditions in a dairy factory that already

produces and commercializes yogurts in different flavors. This situation facilitated the achievement of quality coffee-flavored yogurt for this work.

Table 2. Microbiological analysis of yogurt samples with coffee oil, $\pm$ SD (n = 3).

Samples	Molds and Yeasts * (UFC/g)	Coliforms to 30°C* (UFC/g)	Coliforms to 45°C* (UFC/g)	Lactic Bacteria * (UFC/g)
S	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	2.1 x 10 ⁷ a
GS	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	6.6 x 10 ⁷ a
GH	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	1.1 x 10 ⁷ a
GR	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	1.3 x 10 ⁷ a
LRSB	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	5.3 x 10 ⁷ a
LRHB	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	5.5 x 10 ⁷ a
LRRB	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	4.3 x 10 ⁷ a
MRSB	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	3.9 x 10 ⁷ a
MRHB	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	1.6 x 10 ⁷ a
MRRB	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	1.4 x 10 ⁷ a
DRSB	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	7.6 x 10 ⁷ a
DRHB	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	1.2 x 10 ⁷ a
DRRB	< 1.0 x 10 ² a	< 1.0 x 10 ¹ a	< 1.0 x 10 ¹ a	4.2 x 10 ⁷ a

Caption: S- standard formulation, GM- yoghurt added with green coffee oil soft drink, GH- yoghurt added with green coffee oil hard drink, GR- yoghurt added with green coffee oil rio drink, LRSB- yoghurt added with coffee oil roasting clear soft drink, LRHB- yoghurt added with coffee oil roasting light hard drink, LRRB- yoghurt added with coffee oil light roasting rio drink, MRSB- yoghurt added with coffee oil medium roasting soft drink, MRHB- yoghurt added with coffee oil coffee roast medium hard drink, MRRB- yoghurt added with coffee oil medium roast drink rio, DRSB- yoghurt with added coffee oil dark roast soft drink, DRHB- yoghurt added with coffee oil dark roast hard drink, DRRB- yoghurt added with coffee oil coffee oil roasting dark drink rio.

*indicates a significant difference between samples by Tukey's test (5%). Means ($\pm$ standard deviation) followed by different lowercase letters in the same column differ from each other by Tukey's test ($p \leq 0.05$).

Total Titratable Acidity

The values of the yogurt acidity at 0, 15 and 30 days of storage are in Table 3. There was no significant difference between the formulations in the evaluated times. However, there was a difference at the 5% probability level for the GS and DRHB formulations concerning the storage days. The GS was the same during the times 0 and 15 days, but these differed from the

30-day time. The DRHB formulation was significantly equal at times 0 and 15 days, as well as times 15 and 30 days, the formulations then showed differences between the times 0 and 30 days of storage.

The total titratable acidity contents ranged from 0.78 to 1.28 g of lactic acid/100g. It is possible to observe a slight increase in the acid content over the storage time, probably due to the continuous metabolic activity of lactic acid bacteria even after fermentation (Karaaslan et al., 2011).

The total titratable acidity obtained in the yogurts is strictly related to the coffee oil acidity, which, in turn, is directly influenced by the cup quality (soft, hard and rio) and the roasting process applied. It is possible to verify that the formulations containing green coffee oils from Rio cup exhibit higher acidity levels than the others since poorer quality coffees have higher concentrations of organic acids in their composition and, therefore, exhibit higher acid content (Abrahão et al. 2010; Franca et al. 2005).

The roasting process promotes the formation and decomposition of acids, for example, there is a detrimental reduction in citric and malic acids at increasing others, especially volatile ones (Pimenta and Vilela, 2003). It is worth mentioning that the acidity of the yogurt formulations with the coffee oils was influenced by the lactic bacteria present in the beverage, by the oil acidity that is directly related to the cup quality of the beans, and the state of the beans (green, light, medium or dark roast) in the extraction. Furthermore, the associations regarding the processing of the coffee culture must be portrayed, considering genetic and environmental factors, pre- and post-harvest management conditions (Abrahão et al., 2008; Borém, 2008).

Table 3. Total titratable acidity (TTA) values (as lactic acid) of yogurt samples, $\pm$ SD (n = 3).

Times (days)	TTA* (g lactic acid/100 g)		
	0	15	30

S	0.92 ± 0.15aA	1.10 ± 0.01aA	1.28 ± 0.03aA
GS	0.78 ± 0.16aA	0.82 ± 0.21aA	1.15 ± 0.13aB
GH	0.90 ± 0.32aA	1.00 ± 0.13aA	1.26 ± 0.12aA
GR	1.08 ± 0.06aA	1.12 ± 0.19aA	1.13 ± 0.03aA
LRSB	1.21 ± 0.07aA	0.99 ± 0.13aA	1.17 ± 0.19aA
LRHB	1.03 ± 0.20aA	1.05 ± 0.05aA	1.09 ± 0.08aA
LRRB	0.95 ± 0.38aA	0.96 ± 0.14aA	1.19 ± 0.03aA
MRSB	0.93 ± 0.01aA	1.19 ± 0.15aA	0.99 ± 0.25aA
MRHB	0.95 ± 0.01aA	1.09 ± 0.05aA	1.15 ± 0.07aA
MRRB	0.78 ± 0.00aA	0.89 ± 0.10aA	1.21 ± 0.19aA
DRSB	1.16 ± 0.04aA	0.99 ± 0.07aA	1.26 ± 0.03aA
DRHB	0.86 ± 0.00aA	1.13 ± 0.03aAB	1.27 ± 0.07aB
DRRB	0.98 ± 0.01aA	1.09 ± 0.11aA	1.23 ± 0.22aA

Caption: S- standard formulation, GM- yoghurt added with green coffee oil soft drink, GH- yoghurt added with green coffee oil hard drink, GR- yoghurt added with green coffee oil rio drink, LRSB- yoghurt added with coffee oil roasting clear soft drink, LRHB- yoghurt added with coffee oil roasting light hard drink, LRRB- yoghurt added with coffee oil light roasting rio drink, MRSB- yoghurt added with coffee oil medium roasting soft drink, MRHB- yoghurt added with coffee oil coffee roast medium hard drink, MRRB- yoghurt added with coffee oil medium roast drink rio, DRSB- yoghurt with added coffee oil dark roast soft drink, DRHB- yoghurt added with coffee oil dark roast hard drink, DRRB- yoghurt added with coffee oil coffee oil roasting dark drink rio.

*indicates a significant difference between samples by Tukey's test (5%). Means (± standard deviation) followed by different lowercase letters in the column differ from each other by Tukey's test ($p \leq 0.05$) and means followed by different capital letters in the same line differ from each other by the t-test ($p \leq 0.05$).

Total Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity

The determination of phenolic compounds was performed in the yoghurt formulations and the results obtained after analysis were shown in Table 4. At time 0 days, the highest phenolic content was found in the DRRB formulation while the lowest one in the standard sample (P). The formulations showed no statistical difference at the 5% significance level in the content of phenolic compounds. However, it is possible to observe an increase in the phenolic content ranging from 54.82% (DRRB formulation) to 9.21% (MRSB formulation) compared to the standard formulation.

Concerning the phenolic compounds at the 30-day time, the highest content was presented by the GS formulation, which was statistically equal to the GR, LRHB, MRSB, MRHB, MRRB, DRSB, DRHB and DRRB formulations and different from the standard, LRSB and LRRB ones which displayed the lowest contents.

The statistical analysis performed between the times showed that only the GH, LRSB, LRRB and DRSB formulations were statistically different at the 5% significance level between

times 0 and 30 days. These formulations showed high percentages of phenolic compounds reduction at 30 days (GH = 85.71%, LRSB = 83.33%, LRRB = 85.71% and DRSB = 80.00%). The GH, LRSB and LRRB formulations exhibited greater reduction than the standard one.

The standard sample (P) obtained an 81.80% reduction in its phenolic composition over the 30 days of storage. The GS, LRHB and DRHB formulations showed the lowest percentages of reduction with 53.57%; 69.23% and 69.23% respectively, these samples were able to promote better conservation of the phenolic content during storage. The other samples showed reduction percentages with an average of 77.11%. Nonetheless, when observing the absolute values of the phenolic compounds, it is noticed that the samples added with coffee oils still had a greater phenolic content compared to the standard one, even at the end of the storage time. Similar results were found in yogurt added with green coffee extract (Donmez et al., 2017), wheat bread added with flour of ground green coffee (Dziki et al, 2015; Swieca et al., 2017; Zain, Baba and Shori, 2018) and yogurt fortified with grape (peduncle and fruit) extract (Karaaslan et al., 2011).

A widely used method to determine the antioxidant capacity of a compound is Folin-Ciocalteu. This assay is used as a measure of total phenolics in natural products, but the basic mechanism is an oxidation/reduction reaction and as such it can be considered an *in vitro* antioxidant activity method (PRIOR; XIANLI; SCHAICH, 2005). Total phenols by Folin-Ciocalteu probably express not only the free compounds, but also compounds associated with the melanoidin structure, evaluating globally the contribution of phenolic components to the antioxidant activity (ALMEIDA; BENASSI, 2011).

The Rio-cup-dark-roast-coffee oil promoted a higher phenolic content in the yogurt samples, while the oils from soft and hard beverages of light and dark roasts provided better preservation of the phenolic composition after the storage. Coffee contains compounds that are

natural constituents as well as others formed during the roasting process, such as caffeine, chlorogenic acids, hydroxycinnamic acids and Maillard reaction products (Esquivel, Jiménez, 2012). The roasting process causes a loss of phenolic compounds for the ground roasted Arabica and Robusta coffees (Vignoli et al., 2014, Prior et al., 2005). Nevertheless, the evidence demonstrates that coffees with the worst cup quality have higher levels of phenolic compounds (Pinto et al., 2001; Abrahão et al, 2010). The formulations that were composed of green and roasted coffee oils containing Rio cup quality coffees had high phenolic contents in 0-day time, presumably the roasting process may interfere in the phenolic concentration of the formulations, nonetheless, we can infer that the coffee cup quality was determinant in the yogurt by the highest phenolic content in those containing Rio coffees.

Table 4. Phenolic composition and antioxidant capacity by ABTS in yogurt formulations, $\pm$ SD (n = 3).

Samples Time (days)	Phenolic compounds* (mg/Kg)		ABTS** (μ mol/g)	
	0	30	0	30
S	82.30 $\pm$ 31.74aA	14.97 $\pm$ 10.31aA	28.27 $\pm$ 3.56aA	35.27 $\pm$ 4.25aA
GS	104.99 $\pm$ 21.21aA	48.74 $\pm$ 5.29bA	68.93 $\pm$ 4.95bcA	41.49 $\pm$ 8.35abcA
GH	104.95 $\pm$ 20.31aA	14.99 $\pm$ 2.35aB	66.77 $\pm$ 9.91bdA	44.17 $\pm$ 2.67abcA
GR	105.12 $\pm$ 4.24aA	22.50 $\pm$ 10.60abA	64.26 $\pm$ 5.90bdeA	36.61 $\pm$ 1.41abA
LRSB	89.92 $\pm$ 21.19aA	14.99 $\pm$ 2.57aB	58.92 $\pm$ 2.11bdeA	96.64 $\pm$ 6.09dB
LRHB	97.46 $\pm$ 10.60aA	29.99 $\pm$ 5.34abA	49.90 $\pm$ 2.12defA	44.28 $\pm$ 0.94abcA
LRRB	104.81 $\pm$ 10.02aA	14.97 $\pm$ 2.76aB	46.90 $\pm$ 0.71aefA	59.19 $\pm$ 2.82bcefA
MRSB	89.88 $\pm$ 21.18aA	22.47 $\pm$ 10.59abA	47.74 $\pm$ 0.47efA	61.97 $\pm$ 5.19cefA
MRHB	97.42 $\pm$ 10.59aA	22.48 $\pm$ 10.59abA	49.57 $\pm$ 0.71defA	51.85 $\pm$ 0.31abcfA
MRRB	104.89 $\pm$ 21.19aA	22.48 $\pm$ 10.59abA	31.89 $\pm$ 0.22afA	71.21 $\pm$ 0.47efB
DRSB	112.46 $\pm$ 10.60aA	22.49 $\pm$ 10.60abB	64.42 $\pm$ 8.97bdA	76.87 $\pm$ 15.87deA
DRHB	97.39 $\pm$ 10.59aA	29.97 $\pm$ 10.57abA	69.27 $\pm$ 0.23bcA	71.76 $\pm$ 9.59efA
DRRB	127.42 $\pm$ 10.59aA	29.98 $\pm$ 10.23abA	86.29 $\pm$ 0.70cA	70.54 $\pm$ 0.63efB

Caption: S- standard formulation, GM- yoghurt added with green coffee oil soft drink, GH- yoghurt added with green coffee oil hard drink, GR- yoghurt added with green coffee oil rio drink, LRSB- yoghurt added with coffee oil roasting clear soft drink, LRHB- yoghurt added with coffee oil roasting light hard drink, LRRB- yoghurt added with coffee oil light roasting rio drink, MRSB- yoghurt added with coffee oil medium roasting soft drink, MRHB- yoghurt added with coffee oil coffee roast medium hard drink, MRRB- yoghurt added with coffee oil medium roast drink rio, DRSB- yoghurt with added coffee oil dark roast soft drink, DRHB- yoghurt added with coffee oil dark roast hard drink, DRRB- yoghurt added with coffee oil coffee oil roasting dark drink rio.

*mg GAE- Gallic acid equivalent antioxidant capacity / mg gallic acid equivalent / grams of yoghurt.

**TEAC- Antioxidant capacity equivalent to Trolox / μ mol of Trolox equivalent / grams of yoghurt.

***indicates a significant difference between samples by Tukey's test (5%). Means ($\pm$ standard deviation) followed by different lowercase letters in the column differ from each other by Tukey's test ($p \leq 0.05$) and means followed by different capital letters in the same line differ from each other by the t-test ($p \leq 0.05$).

Table 5. Antioxidant capacity by DPPH method of yogurt formulations, $\pm$ DP (n = 3).

Samples Time (days)	DPPH* ($\mu\text{mol/g}$)	
	0	30
S	$0.82 \pm 0.00\text{aA}$	$0.60 \pm 0.00\text{aB}$
GS	$1.26 \pm 0.00\text{bA}$	$1.34 \pm 0.01\text{bcdeB}$
GH	$1.23 \pm 0.04\text{bA}$	$1.30 \pm 0.00\text{bcdA}$
GR	$1.26 \pm 0.01\text{bA}$	$1.37 \pm 0.08\text{bcdeA}$
LRSB	$1.35 \pm 0.02\text{bcA}$	$1.40 \pm 0.04\text{cdeA}$
LRHB	$1.91 \pm 0.02\text{dA}$	$1.44 \pm 0.05\text{deB}$
LRRB	$1.35 \pm 0.01\text{bcA}$	$1.43 \pm 0.01\text{cdeA}$
MRSB	$1.33 \pm 0.06\text{bcA}$	$1.35 \pm 0.01\text{bcdeA}$
MRHB	$1.89 \pm 0.02\text{dA}$	$1.46 \pm 0.04\text{deA}$
MRRB	$1.44 \pm 0.05\text{cA}$	$1.26 \pm 0.00\text{bcA}$
DRSB	$1.35 \pm 0.02\text{bcA}$	$1.47 \pm 0.05\text{eA}$
DRHB	$1.93 \pm 0.03\text{dA}$	$1.36 \pm 0.01\text{bcdeB}$
DRRB	$1.41 \pm 0.01\text{cA}$	$1.22 \pm 0.06\text{bA}$

Caption: S- standard formulation, GM- yoghurt added with green coffee oil soft drink, GH- yoghurt added with green coffee oil hard drink, GR- yoghurt added with green coffee oil rio drink, LRSB- yoghurt added with coffee oil roasting clear soft drink, LRHB- yoghurt added with coffee oil roasting light hard drink, LRRB- yoghurt added with coffee oil light roasting rio drink, MRSB- yoghurt added with coffee oil medium roasting soft drink, MRHB- yoghurt added with coffee oil coffee roast medium hard drink, MRRB- yoghurt added with coffee oil medium roast drink rio, DRSB- yoghurt with added coffee oil dark roast soft drink, DRHB- yoghurt added with coffee oil dark roast hard drink, DRRB- yoghurt added with coffee oil coffee oil roasting dark drink rio.

*TEAC- Antioxidant capacity equivalent to Trolox / μmol of Trolox equivalent / grams of yoghurt.

**indicates a significant difference between samples by Tukey's test (5%). Means ($\pm$ standard deviation) followed by different lowercase letters in the column differ from each other by Tukey's test ($p \leq 0.05$) and means followed by different capital letters in the same line differ from each other by the t-test ($p \leq 0.05$).

After evaluating the antioxidant capacity through ABTS and DPPH (Table 4 and 5), it was noticed that the lowest levels in $\mu\text{mol/g}$ in other methods, at times 0 and 30 days of storage, were found in the standard sample.

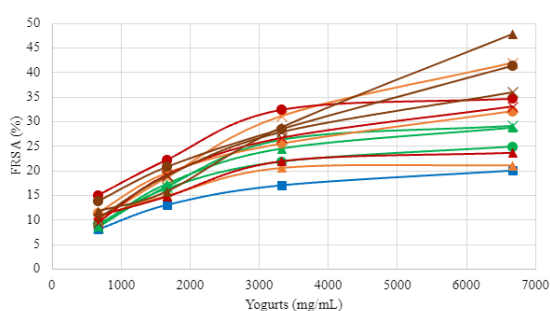
Regarding the ABTS determination method, the highest values were for the DRRB formulation at 0-day and LRSB at 30-day time. The DRRB formulation was also the sample with the highest phenolic content at 0 days, a similar behavior was observed by Karaaslan et al. (2011) in a study with yogurt samples containing red grape (fruit and peduncle) extract, which presented high content of phenolic compounds and a high level of free radical scavenging capacity. Except for the LRRB and MRRB formulations, at the 0-day time, all samples had a significant difference (5%) from the standard one. After 30 days of storage, the LRSB, LRRB,

MRSB, MRRB and all the other samples with dark-roast-coffee oil differed from the standard one.

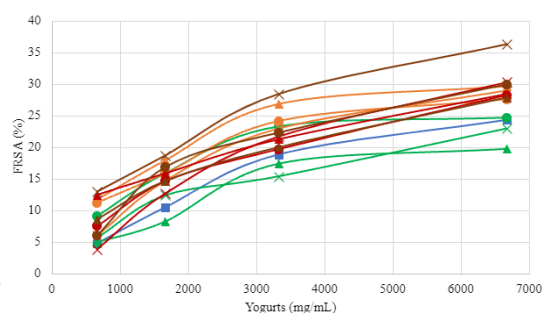
It is worth mentioning that some formulations showed an increase while others decreased the antioxidant capacity at the end of the storage time. The increase occurred for the standard, LRSB, LRRB, MRSB, MRHB, MRRB, DRSB and DRHB formulations, emphasizing the LRSB and MRRB ones with a 5% significant difference level between 0 and 30 days. The formulations that exhibited a decrease were GS, GH and GR (all green oil ones), LRHB and DRRB.

According to the DPPH method, the antioxidant capacity of all formulations differed at the level of 5% probability of the standard sample, which was the lowest antioxidant activity in both times. It is plausible to verify that the oil addition was enough to increase the antioxidant capacity in yogurts at 0 and 30 days of storage. The DRHB and DRSB formulations exhibited the highest contents at times 0 and 30 days, respectively.

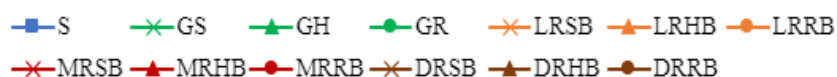
Dark roast coffee oils showed high values of phenolic composition, which may have resulted in high antioxidant capacity in different beverages. The lowest antioxidant capacity occurred for the standard formulation in both methods (ABTS and DPPH), which also had the lowest phenolic content concerning the other formulations, that is, when comparing the antioxidant capacity of all samples in both methods, and times 0 and 30 days, the formulations had greater antioxidant capacity than the standard samples.



(1)



(2)



Caption: S- standard formulation, GM- yoghurt added with green coffee oil soft drink, GH- yoghurt added with green coffee oil hard drink, GR- yoghurt added with green coffee oil rio drink, LRSB- yoghurt added with coffee oil roasting clear soft drink, LRHB- yoghurt added with coffee oil roasting light hard drink, LRRB- yoghurt added with coffee oil light roasting rio drink, MRSB- yoghurt added with coffee oil medium roasting soft drink, MRHB- yoghurt added with coffee oil coffee roast medium hard drink, MRRB- yoghurt added with coffee oil medium roast drink rio, DRSB- yoghurt with added coffee oil dark roast soft drink, DRHB- yoghurt added with coffee oil dark roast hard drink, DRRB- yoghurt added with coffee oil coffee oil roasting dark drink rio.

Graphs 1 and 2. Determination of antioxidant capacity by DPPH in FRSA (%) of yogurt formulations added with Arabica coffee oil at times (1) 0 days and (2) 30 days.

Graphs 1 and 2 display the results of FRSA (%) throughout different concentrations of yogurt extracts. At the 0-day time (Graph 1), the samples show an increase in the percentage of FRSA along with the yogurt extract concentration. The standard sample showed the lowest FRSA (%) elevation, whereas the dark roasts coffee oil samples showed higher levels of FRSA (%), highlighting the DRHB formulation. Graph 2 represents the FRSA (%) at the end of 30 days of storage. In general, the formulations increased free radicals scavenging capacity as the concentration increased, nonetheless, the samples containing the green oils displayed a lower elevation. The samples with green coffee oil soft and hard beverages (GS and GH) reported lower radical scavenging capability than the standard sample, especially at the highest yogurt concentrations. The samples with dark roast coffee oil showed high contents of FRSA (%) after 30 days of storage with emphasis on the DRSB sample.

The results obtained by the methods used to evaluate the antioxidant capacity of the samples presented specific differences. As could be observed, the DPPH method registered lower values regarding Trolox than the ABTS since the DPPH radical with greater stability and lower reactivity only reacts with strong reducing agents. On the other hand, the ABTS radical has high reactivity and can react with a wide range of antioxidants (Floegel et al., 2011; Marecek et al., 2017).

Several studies reveal that phenolic compounds play a preventive role against various degenerative diseases (Budryn et al., 2013), anticarcinogenic (Bellion et al., 2010) and cardiovascular diseases (Hollman et al., 2011). These compounds have a varied chemical structure with aromatic rings conjugated with hydroxyl groups that present high efficiency in the stabilization of free radicals, providing significant inhibition of oxidative rancidity by metal chelation (Valenzuela; Nieto, 1996).

As found in this study, the higher content of phenolic compounds present in the dark roast samples resulted in greater antioxidant capacity, the roasting process at moderately high temperatures generates greater oxidative changes, however this process produces melanoidins reported as the compound responsible for the antioxidant capacity in fractions with high molecular weight insulated from the roasted coffee (Daglia et al., 2000; Liu and Kitts, 2011; Perrone et al., 2012). Furthermore, some volatile heterocyclic compounds produced during roasting have also been described as potential antioxidants (Yanagimoto et al., 2004). Abrahão et al. (2010) found higher levels of antioxidant activity in samples of Rio cup roasted coffee compared to green coffee, which according to them may have happened due to the higher phenolic content compared to soft beverage.

Storage causes a decrease in the contents of phenolic compounds, leading to a reduction of the antioxidant capacity of some formulations. This phenolic degradation has already been detected in many foods such as yogurts added with grape extract (Karaaslan et al., 2011), virgin olive oil (Okogeri and Tasioula-Margari, 2002), plums (Hamauzu and Kume, 2005) and broccoli (Lemoine et al., 2007).

The fact that some yogurt formulations demonstrated an increase in antioxidant capacity over the store time, even with a decrease in their phenolic content, may probably be linked to the composition availability as well as the condition of the formulations at the analysis time.

Phenolic compounds can interact with proteins (Jakobek, 2015; Arts et al., 2002; Seibert et al., 1996; Jobstl et al., 2004; Richard et al., 2006; Donmez et al., 2017; Shpigelman et al., 2010; Hasni et al., 2011; Duarte and Farah, 2011; Shalaby e Elhassaneen, 2021), besides other compounds present in the food matrix, and these interactions can affect their availability to act as antioxidant agents. According to Arts et al. (2002) and Luck et al. (1994), these interactions can be either reversible or not, depending on pH, temperature and concentration of components. Therefore, it is understandable that the formulation condition at the time of analysis may interfere with the levels obtained in this study, and the variations in the antioxidant capacity in both methods and times stand somehow against the phenolic content of some formulations.

The variations in the antioxidant capacity related to the phenolic content found in the green oil samples suffered a significant influence of the formulation analysis conditions, which can be perceived when we compare the low values of FRSA (%) with the phenolic content at the 30-day time. The phenolic compounds quantified in the analysis were around 48 mg/kg for the GS, nonetheless, when we observe the ABTS and FRSA (%) values, there is a decrease in the antioxidant capacity probably affected by the protein interactions that block the reactive phenolic group and partially mask the antioxidant activity (Seczyk et al., 2017).

Sensory analysis

The results obtained after sensory evaluation for the acceptance test using the hedonic scale (Table 6) report that, for the appearance attribute, the formulations did not show a significant difference regarding the standard formulation, with the exceptions of MRHB, GH and GR, where the MRHB formulation presented the lowest values in the scale (between “I liked it a little” and “indifferent”) and the GR with the largest ones (“I liked it a lot” and “I liked it moderately”). Regarding the coffee aroma and flavor attributes, the DRHB sample was significantly different from the standard one exhibiting the highest values for both attributes

(coffee aroma - "I liked it moderately" and "I liked it a little" and coffee flavor - "I liked it a lot" and "I liked it moderately.")

Concerning the texture attribute, the formulations presented no significant differences and the grades varied from “I liked it a little” to “I liked it a lot.” The homogeneity attribute showed a significant difference at a 5% probability level between the MRSB, MRHB and standard samples. The attributes texture and especially homogeneity brought important information about the product since the addition of certain oils aiming at improving the formulations affected neither the homogenization nor, consequently, the stability of the formulations.

Table 6. Averages of the acceptance and ideal tests for yogurt formulations.

Samples	Appearance	Coffee aroma	Coffee flavor	Texture	Homogeneity	Overall impression	Ideal for coffee taste	Ideal for coffee aroma
S	6.99ab	4.24ab	4.17a	7.11a	7.00a	6.14ab	-2.02a	-2.04a
GS	6.89ab	4.65abc	4.82ab	6.84a	7.04a	6.19ab	-1.32ab	-1.62a
GH	7.02b	4.63abc	4.73ab	6.96a	7.16a	6.26ab	-1.28ab	-1.59a
GR	7.26b	4.58abc	5.00ab	6.75a	6.92ab	5.83ab	-1.04bc	-1.64a
LRSB	6.57abc	5.25bcd	5.58bc	6.68a	6.77ab	6.17ab	-0.54bcd	-0.78bc
LRHB	6.62abc	5.92de	6.36cde	6.38a	6.51abc	5.94ab	0.90e	-0.63c
LRRB	6.85ab	4.57abc	5.15ab	6.82a	7.00a	6.07ab	-1.29ab	-1.77a
MRSB	6.06ac	4.81abc	5.31b	6.48a	6.14bc	5.98ab	-1.05bc	-1.52ab
MRHB	5.86c	6.44e	6.65de	6.48a	5.86c	5.49a	0.92e	0.25d
MRRB	6.99ab	4.20a	4.93ab	6.85a	7.12a	6.03ab	-1.24abc	-1.81a
DRSB	6.84ab	5.21abcde	5.65bcd	7.02a	6.95ab	5.92ab	-0.44cd	-0.78bc
DRHB	6.44abc	6.58e	7.05e	6.93a	6.42abc	6.55b	-0.12d	0.22d
DRRB	6.85ab	5.30cd	5.60bc	6.61a	6.62abc	6.10ab	-0.98bc	-1.39abc

Caption: S- standard formulation, GM- yoghurt added with green coffee oil soft drink, GH- yoghurt added with green coffee oil hard drink, GR- yoghurt added with green coffee oil rio drink, LRSB- yoghurt added with coffee oil roasting clear soft drink, LRHB- yoghurt added with coffee oil roasting light hard drink, LRRB- yoghurt added with coffee oil light roasting rio drink, MRSB- yoghurt added with coffee oil medium roasting soft drink, MRHB- yoghurt added with coffee oil coffee roast medium hard drink, MRRB- yoghurt added with coffee oil medium roast drink rio, DRSB- yoghurt with added coffee oil dark roast soft drink, DRHB- yoghurt added with coffee oil dark roast hard drink, DRRB- yoghurt added with coffee oil coffee oil roasting dark drink rio.

*indicates a significant difference between samples by Tukey's test (5%). Means followed by different lowercase letters in the same column differ from each other by Tukey's test ($p \leq 0.05$).

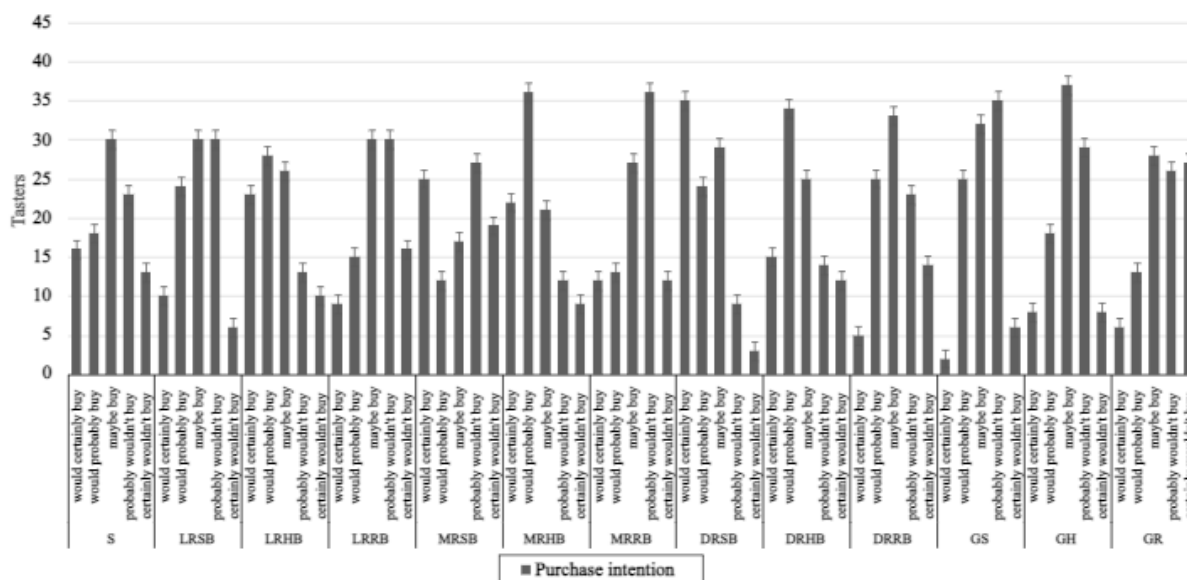
Roasted Arabica coffee oil possesses a dynamic behavior characterized by a tendency of reaching balance over longer periods. These emulsified lipids responsible for the aroma and texture (when properly emulsified) carry compounds of low absolute interfacial tension values,

which lead to the expected formation of very stable emulsions (Ferrari et al., 2010; Donmez et al., 2017). According to Ferrari et al. (2010), roasted coffee oils in comparison to pure vegetable oils have an additional source of active surface compounds caused by the roasting process (referring to possible changes in lipid components) through the formation of unsaponifiable compounds, liposoluble aromatic compounds, Maillard reaction products and caffeine.

Regarding the attribute global impression, only the MRHB and DRHB formulations showed a significant difference compared to the standard, with the lowest values on the scale ("indifferent" and "I liked it a little") and the highest ("I liked it moderately" and "I liked it a lot"), respectively.

The formulation that showed the highest value to the ideal formulation concerning both coffee flavor and aroma was the DRHB presenting a significant difference from the standard one.

Graph 3 exhibits the purchase intention histogram for the yogurt formulations, where the LRHB LRHB, MRHB, DRSB and DRHB formulations displayed the highest purchase intention ("would certainly buy" and "probably buy"), the GH one presented equal values of indecision ("maybe buy") and purchase intention ("certainly wouldn't buy" and "probably wouldn't buy") whereas the GR, GS, DRRB and LRSB formulations presented higher negative purchase intention.



Caption: S- standard formulation, GM- yoghurt added with green coffee oil soft drink, GH- yoghurt added with green coffee oil hard drink, GR- yoghurt added with green coffee oil rio drink, LRSB- yoghurt added with coffee oil roasting clear soft drink, LRHB- yoghurt added with coffee oil roasting light hard drink, LRRB- yoghurt added with coffee oil light roasting rio drink, MRSB- yoghurt added with coffee oil medium roasting soft drink, MRHB- yoghurt added with coffee oil coffee roast medium hard drink, MRRB- yoghurt added with coffee oil medium roast drink rio, DRSB- yoghurt with added coffee oil dark roast soft drink, DRHB- yoghurt added with coffee oil dark roast hard drink, DRRB- yoghurt added with coffee oil coffee oil roasting dark drink rio.

Graph 3. Histogram of purchase intention of yogurt formulations.

Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA)

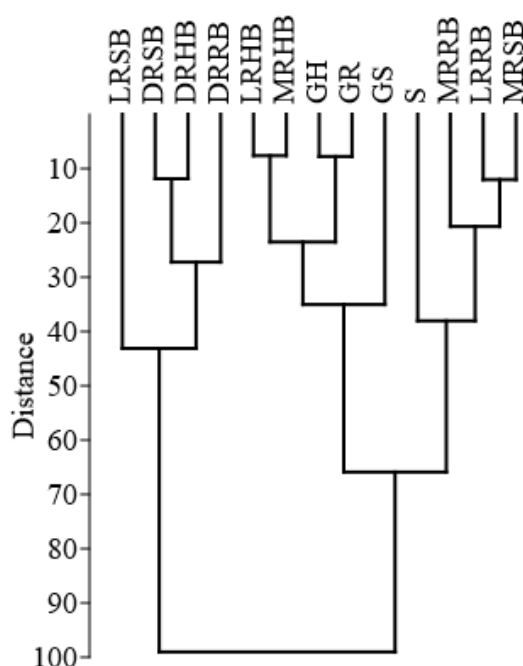
Principal component analyzes (PCA) and hierarchical clustering (HCA) are efficient and fast chemometric tools to distinguish differences between formulations depending on the different parameters studied (Gonçalves et al., 2020), these were used to facilitate the visualization of results regarding chemical and sensory composition.

The two main components explained 65.68% of the variation between formulations.

Graph 4. Analysis of main components between yoghurt formulations regarding chemical composition (phenolic compounds, ABTS, DPPH both in 0 and 30 days) and sensory analysis (acceptance test and ideal).

The phenolic composition and antioxidant capacity at different times (0 and 30 days) were related to yoghurts added with oils roasted on a dark roast, regardless of the quality of the drink. Regarding the sensory attributes, the parameters that indicate coffee aroma and flavor, ideal coffee aroma and flavor are more linked to yogurts added with oils from dark roasts in both types of beverage (DRSB, DRHB, DRRB) and for light roasts and average in oils from soft and hard beverages (LRSB, LRHB, MRSB, MRHB). As for the attributes appearance, homogeneity, texture and global impression, the biggest relation was with the yoghurts added with green oils and light roasts and medium of rio drink (GS, GH, GR, LRRB, MRRB). The standard formulation showed the highest difference from the other samples, which represents that the addition of oil changed the chemical parameters related to phenolics and antioxidant

activity and also the sensory attributes studied. Similarly, in their study Shalaby and Elhassaneen (2021) observed an increase in antioxidant capacity and also beneficial health effects related to liver and kidney function, when observing groups of rats fed yogurts supplemented with green coffee bean extracts and green tea .



Caption: S- standard formulation, GM- yoghurt added with green coffee oil soft drink, GH- yoghurt added with green coffee oil hard drink, GR- yoghurt added with green coffee oil rio drink, LRSB- yoghurt added with coffee oil roasting clear soft drink, LRHB- yoghurt added with coffee oil roasting light hard drink, LRRB- yoghurt added with coffee oil light roasting rio drink, MRSB- yoghurt added with coffee oil medium roasting soft drink, MRHB- yoghurt added with coffee oil coffee roast medium hard drink, MRRB- yoghurt added with coffee oil medium roast drink rio, DRSB- yoghurt with added coffee oil dark roast soft drink, DRHB- yoghurt added with coffee oil dark roast hard drink, DRRB- yoghurt added with coffee oil coffee oil roasting dark drink rio.

Graph 5. HCA graph representing oil-added yogurt samples related to phenolic composition, antioxidant capacity, sensory acceptance and ideal test.

An HCA (hierarchical cluster analysis) was performed to verify the similarity of the samples based on the similarity of components of the same class and the distinctions between components of different classes (Beebe; Pell; Seasholtz, 1997). Ward's method, when applied to the 13 yoghurt samples, showed the formation of two large groups. Thus, the HCA provided a better visualization of the separation between samples.

Graph 5 shows a group formed by the yogurt samples added with oils on a dark roast (DRSB, DRHB, DRRB) and the sample containing oil on a light roast from a soft drink. This group presents high differentiation in relation to the other that is formed by the association of other yogurt samples.

For Ferrari et al. (2010) roasted coffee oils have a greater efficiency in stabilizing emulsions as they present an additional source of surface-active compounds consisting of roasting products, unsaponifiable compounds, aromatic constituents and also caffeine. These factors can be major contributors to formulations containing oils on dark roast to be in a separate group from other formulations. Therefore, the results of HCA and PCA complemented with ANOVA allowed to better visualize and separate the samples, mainly in relation to roasting and drink quality. In general, in more severe roasts there was greater acceptance of the tested attributes and higher levels in relation to the chemical compounds evaluated regardless of the quality of the drink.

CONCLUSION

The addition of coffee oils in yoghurts increased the phenolic content in absolute values, this increase occurred as the quality of the beverage worsened and the roasting intensity increased. Formulations with oils on dark roast, in general, had greater antioxidant capacity compared to the standard, and sensory acceptance, in addition to the DRSB and DRHB formulations showed positive purchase intent. Roasted coffee oils are potent food ingredients that can be used in other foods.

AUTHOR CONTRIBUTION

Conceptual Idea: Oliveira, E. M.; Rodarte, M. P.; Godoy, H. T.; Methodology design: Oliveira, E. M.; Godoy, H. T.; Data collection: Oliveira, E. M.; Data analysis and interpretation:

Oliveira, E. M.; Rodarte, M. P.; Lima, A. R.; Godoy, H. T. and Writing and editing: Oliveira, E. M.; Rodarte, M. P.; Lima, A. R.; Godoy, H. T. .

ACKNOWLEDGMENTS

This study was carried out with the support of the Federal Institute of Science, Education and Technology (Campus Inconfidentes) and the State University of Campinas.

REFERENCES

ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, 34(2):414-420, 2010.

ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43(12):1799-1804, 2008.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Justificativas para os limites mínimos e máximos de nutrientes, substâncias bioativas e enzimas da proposta regulatória de suplementos alimentares**. Brasília: 2018. Available in: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/3845226/0/Justificativa_Limites_Suplementos.pdf/e265ccd0-8361-4d8e-a33f-ce8b2ca69424>. Access in: < 10 ago. 2019>.

ALMEIDA, M. B.; BENASSI, M. de T. Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, 32(1):1893-1900, 2011.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: APHA. 2001. 676p.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (AOCS). **Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society**. American Oil Chemist's Society, 35, 1964.

ARTS, M. J. T. J. et al. Interactions between flavonoids and proteins: Effect on the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50(5):1184-1187, 2002.

BARBAR, N. et al. Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, 44(1):391-396, 2011.

BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: A practical guide**. John Wiley & Sons: New York, 1997. 360p.

BELLION, P. et al. Polyphenolic apple extracts: Effects of raw material and production method on antioxidant effectiveness and reduction of DNA damage in Caco-2 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58(11):6636-6642, 2010.

BERIL, P.; KARLIGA, S.E.; GULAY, O.; ESRA, C. Interaction of phenolics with food matrix: *In vitro* and *in vivo* approaches. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, 13 (1): 63-74, 2020.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, 181:1199-1200, 1958.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 46 de 23 de outubro de 2007**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Available in: <<http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/instru%C3%87%C3%83o-normativa-n%C2%BA-46-de-23-de-outubro-de-2007.pdf>>. Access in: 01 jun. 2021.

DAGLIA, M. et al. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48(5):1449-1454, 2000.

DÖNMEZ, O.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. **Journal of Dairy Science**, 100(2):901-907, 2017.

DUARTE, G. S.; FARAH, A. Effect of simultaneous consumption of milk and coffee on chlorogenic acids' bioavailability in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59(14):7925-7931, 2011.

DZIKI, D.; GAWLIK-DZIKI, U.; PECIO, Ł.; RÓZYŁO, R.; ŚWIECA, M.; KRZYKOWSKI, A.; RUDY, S. Ground green coffee beans as a functional food supplement - Preliminary study. **LWT - Food Science and Technology**, 63: 691–699, 2015.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, 46(2):488-495, 2012.

FERRARI, M. et al. Interfacial properties of coffee oils. **Colloids and Surfaces A Physicochemical Engineering Aspects**, 365(1):79-82, 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, 38(2):109-112, 2014.

FLOEGEL, A. et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, 24(7):1043-1048, 2011.

FRANCA, A. S. et al. Physical and chemical attributes of defective crude and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, 90(1-2):84-89, 2005.

FRESCO, P. et al. The anticancer properties of dietary polyphenols and its relation with apoptosis. **Current Pharmaceutical Design**, 16(1):114-134, 2010.

GONÇALVES, G. A.S.; RESENDE, N.S.; GONÇALVES, C. S.; CARVALHO, E. E. N.; RESENDE, J. V.; BOAS, E.V. B. V. How freezing methods affect the sensory profile of pasteurized and unpasteurized mangaba pulp. **Ciência e Agrotecnologia**, 44:e003020, 2020.

HAMAUZU, Y.; KUME, C. Changes in fruit quality, phenolic compounds and antioxidant capacity of fresh prunes during storage. **Acta Horticulturae**, 682:557-564, 2005.

HAN, X.; SHEN, T.; LOU, H. Dietary polyphenols and their biological significance. **International Journal of Molecular Sciences**, 8(9):950-988, 2007.

HASNI, I. et al. Interaction of milk α - and β -caseins with tea polyphenols **Food Chemistry**, 126(2):630-639, 2011.

HOLLMAN, P. C. H. et al. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. **The Journal of Nutrition**, 141(5):989S-1009S, 2011.

HURTADO-BENAVIDES, A.; DORADO, D. A., CAMARGO, A.P.S. Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.113, p.44–52, 2016.

JAKOBEK, L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. **Food Chemistry**, 175:556-567, 2015.

JOBSTL, E. et al. Molecular model for astringency produced by polyphenol/protein interactions. **Biomacromolecules**, 5(3):942-949, 2004.

KARAASLAN, M. et al. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. **Food Science and Technology**, 44(4):1065-1072, 2011.

IAL – Instituto Adolfo Lutz. **Chemical and Physical Methods for Food Analysis**. fourthed . Instituto Adolfo Lutz , São Paulo, 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO, I. 21527-1: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95, Geneva, Switzerland, 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO, I. 21527-2: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0.95, Geneva, Switzerland, 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 4832: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony count technique, Geneva, Switzerland, 2006.

ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso Coffee: The Science of Quality**. 2nd edition, London: Elsevier Academic Press, 2005, 417p.

LEMOINE, M. L. et al. Influence of post-harvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. Italica). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 87:1132-1139, 2007.

LIU, Y.; KITTS, D. D. Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews. **Food Research International**, 44(8):2418-2424, 2011.

LOKE, W. M. et al. Specific dietary polyphenols attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice by alleviating inflammation and endothelial dysfunction. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, 30(4):749-757, 2010.

LUCK, G. et al. Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. **Phytochemistry**, 37(2):357-371, 1994.

MAREČEK, V. et al. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. **Journal of Cereal Science**, 73:40-45, 2017.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1987. 100p.

O' CONNELL, J. E.; FOX, P. F. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. **International Dairy Journal**, 11(3):103-120, 2001.

OKOGERI, O.; TASIOULA-MARGARI, M. Changes occurring in phenolic compounds and α -tocopherol of virgin olive oil during storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50(5):1077-1080, 2002.

PERRONE, D.; FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 60(17):4265-4275, 2012.

PETRACCO, M. **Beverage preparation: brewing trends for the new millennium**. In: CLARKE, R.; VITZTHUM, O. (Eds.). *Coffee: Recent Developments*, Blackwell Science, Oxford, 7:140-164, 2001.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Efeito do tipo e época de colheita na qualidade do café (*Coffea arabica* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, 25(1):131-136, 2003.

PIMPLEY, V. A.; MURTHY, P.S. Influence of green extraction techniques on green coffee: Nutraceutical compositions, antioxidant potential and *in vitro* bio-accessibility of phenolics. **Food Bioscience**, 43, 2021.

PINTO, N. A. V. D. et al. Avaliação dos polifenóis e açúcares em padrões de bebida do café torrado tipo expresso. **Revista Brasileira de Agrociência**, 7(3):193-195, 2001.

PRIOR, R. L.; XIANLI, W.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53(10):4290-4302, 2005.

RABA, D. N. et al. Investigation on crude and high- temperature heated coffee oil by ATRFTIR Spectroscopy along with antioxidant and antimicrobial properties. **PLoS ONE**, 10(9):e0138080, 2018.

RICHARD, T. et al. Recognition characters in peptide–polyphenol complex formation. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1760(6):951-958, 2006.

SEŃCZYK, Ł.; ŚWIECA, M.; GAWLIK-DZIKI, U. Soymilk enriched with green coffee phenolics – Antioxidant and nutritional properties in the light of phenolics-food matrix interactions. **Food Chemistry**, 223:1-7, 2017.

SHALABY, H.S.; ELHASSANEEN, Y. A. Functional and Health Properties of Yogurt Supplemented with Green Tea or Green Coffee Extracts and its Effect on Reducing Obesity Complications in Rats. **Alexandria Science Exchange Journal**. 42(2), April- June, 2021.

SHPIGELMAN, A.; ISRAELI, G.; LIVNEY, Y. D. Thermally-induced protein-polyphenol co-assemblies: Beta lactoglobulin-based nanocomplexes as protective nanovehicles for EGCG. **Food Hydrocolloids**, 24(8):735-743, 2010.

SIEBERT, K. J.; TROUKHANOVA, N. V.; LYNN, P. Y. Nature of polyphenol-protein interactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 44(1):80-85, 1996.

SPEER K., KÖLLING- SPEER, I. The lipid fraction of the coffee bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, 18(1):201-216, 2006.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, 28(1):49-55, 1977.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2nd ed. London: Academic Press, 1993, 377p.

ŚWIECA, M. et al. Wheat bread enriched with green coffee – in vitro bioaccessibility and bioavailability of phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, 221:1451-1457, 2017.

VALENZUELA, A.; NIETO, S. Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. **Grasas y Aceites**, 47(3):186-196, 1996.

VIGNOLI, J. A. et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International**, 61:279-285, 2014.

VOYTENA, A. P. L. et al. Phytochemical profile and in vitro assessment of the cytotoxicity of green and roasted coffee oils (*Coffea arabica* L.) and their polar fractions. **Records of natural products**, 12(2):169-174, 2018.

VU, D.C; VU, Q. T.; HUYNH, L.; LIN, C.H.; ALVAREZ, S.; VO, X. T.; NGUYEN, T.H. D. Evaluation of fatty acids, phenolics and bioactivities of spent coffee grounds prepared from Vietnamese coffee. **International Journal of Food Properties**, 24(1):1548-1558, 2021.

WAGEMAKER, T. A. L. et al. Green *Coffea arabica* L. seed oil influences the stability and protective effects of topical formulations. **Industrial Crops and Products**, 63:34-40, 2015.

WAKELING, I. N.; MACFIE, J. H. Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of k samples from t may be tested. **Food Quality and Preference**, 6(4):299-308, 1995.

YANAGIMOTO, K. et al. Antioxidative activity of heterocyclic compounds found in coffee volatiles produced by Maillard reaction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52:592-596, 2004.

ZAIN, M. Z. M.; BABA, A. S.; SHORI, A. B. Effect of polyphenols enriched from green coffee bean on antioxidant activity and sensory evaluation of bread. **Journal of King Saud University - Science**, 30(2):278-282, 2018.

Discussão Geral

Os óleos de cafés verde e torrado são importantes subprodutos da indústria cafeeira e podem ser adquiridos de cafés em grãos tanto verdes como advindos de diferentes processos de torra, além disso o processo de extração pode ser realizado a partir de grãos de distintas classificações.

Neste estudo a primeira etapa consistiu em uma caracterização dos cafés utilizados no trabalho. Os cafés adquiridos possuíam anteriormente a definição quanto a qualidade da bebida. A classificação física realizada através da IN nº8 (BRASIL, 2003) definiu os cafés como tipo 2 (bebida mole), tipo 6 (bebida duro) e fora de tipo (bebida rio). O aparecimento de defeitos nas amostras de café indica a presença de problemas durante o processo de produção (GIOMO, BORÉM, 2011; MALTA, 2011). Na avaliação das peneiras os cafés exibiram maior teor de grãos chatos, os quais tem a preferência no mercado (GIOMO, BORÉM, 2011). Outro ponto analisado visando caracterizar a matéria-prima foi a cor dos grãos crus. A determinação da cor tem relevância econômica, já que grãos esbranquiçados recebem menor preço no mercado (RIBEIRO et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2013). Os grãos de bebida mole e dura apresentaram o parâmetro L^* mais alto indicando tendência a tons mais escuros que direcionam a coloração verde azulada, já os grãos de bebida rio exibiram valores mais baixos o que remete a cafés mais esbranquiçados (LOPES, HARA, SILVA, 1998; OLIVEIRA et al., 2013).

Visando a caracterização dos cafés ainda no estado grão cru o estudo realiza uma análise química de umidade, extrato etéreo, proteínas, cinzas, acidez total titulável e sólidos solúveis. Os resultados obtidos destas análises para umidade (BRASIL, 2003), extrato etéreo (MARTINEZ et al., 2014; FOLSTAR, 1985), cinzas (CLARKE, 1985), proteínas (TOCI, FARAH e TRUGO, 2006; OLIVEIRA, 2006), acidez total titulável e teor de sólidos solúveis (PINTO et al., 2002) exibiram diferenciação entre os grãos de diferentes qualidades, mostrando conteúdos que indicam piores teores relacionados aos grãos de pior qualidade.

Os cafés após caracterização química seguiram para o processo de torração, análise de cor e determinação de perda de massa. Ambas análises foram suficientes para determinar os diferentes pontos de torração, porém o uso do software Scilab proporcionou uma melhor visualização das amostras no espaço de cor, visto que através do gráfico L^* versus a^* consegue-se definir o nível de torra com maior facilidade, o que ocorreu principalmente devido ao parâmetro L^* (BICHO et al., 2012; SCHENKER, ROTHGEB, 2017).

Após processo adequado de torração as amostras seguiram para o procedimento de extração do óleo, o rendimento obtido foi maior em amostras com o nível de torra mais escuro, para amostras com grãos em torra clara e verdes houve a recirculação da torta para que o rendimento alcançasse valor similar. O processo de torra facilitou a liberação do óleo presente dentro dos grãos (TURRATI, 2001; BUDRYN et al., 2012). As amostras de óleo foram analisadas quimicamente quanto ao índice de acidez e peróxidos e foi observado um aumento destes índices nos óleos à medida que havia uma piora da classificação dos grãos e conforme elevação da intensidade de torração, exceto para amostras de óleos verdes que exibiram altos valores. As condições do processo produtivo que envolvem toda a cadeia de processamento dos grãos podem provocar alterações que prejudicam a qualidade dos grãos, além do fato de ter sido necessário a recirculação da torta para extração destes óleos (PIMENTA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2006).

Quanto a composição de ácidos graxos os de maior concentração em todas as amostras de óleo foram os ácido linoleico e palmítico semelhante ao obtido em outros estudos (VOYTENA et al., 2018; RABA et al., 2015; GETACHEW, CHUN, 2016; HURTADO-BENAVIDES et al., 2016). O presente estudo não verificou uma relação direta entre o conteúdo lipídico, o processo de torração e a classificação dos grãos (FOLSTAR, 1985). A avaliação da composição aromática dos óleos relatou que em óleos verdes os compostos em maior concentração foram os ésteres e ácidos carboxílicos, já em óleos de café torrado independente do processo de torra e da classificação dos grãos frente a bebida os grupos de mais altos conteúdos foram os derivados furanos e pirazinas, os quais tiveram elevação à medida que havia aumento da intensidade de torra (GETACHEW, CHUN et al., 2016; SANCHES et al., 2020). Através das análises de PCA (análise de componentes principais) e HCA (análise de agrupamento) fica elucidado a separação das amostras de acordo com os compostos voláteis presentes, assim houve a formação de dois grupos, um formado pelas amostras de óleos verdes e em torra clara e outro pelos óleos torrados em torra média e escura, não havendo interferência da classificação referente a qualidade dos grãos (HURTADO- BENAVIDES et al., 2016; GONZÁLEZ- RIOS et al., 2007; GONZÁLEZ et al., 2011). As amostras com maiores concentrações de grupos furanos exibem notas como amêndoas, para o grupo pirazinas notas de noz, cacau e torrado. A composição volátil do óleo de café torrado é bastante semelhante a composição presente na bebida e no café original advindos de outros estudos (PETISCA et al., 2013; MAYER et al., 2000; HURTADO- BENAVIDES et al., 2012; SANCHES et al., 2020).

A composição fenólica dos óleos no estado verde foi maior nos óleos obtidos de grãos classificados como duro e rio, porém em óleos de classificação mole o maior teor foi encontrado em óleos de torra escura. A variação pode ocorrer devido ao parâmetro de torra, além das variáveis do processo de extração do óleo (VIGNOLI et al., 2014; PRIOR et al., 2005; PANUSA et al., 2013; RAMALAKSHMI, 2009; ABRAHÃO et al., 2019). A avaliação da capacidade antioxidante através do método DPPH comprovou os resultados obtidos por outros autores (YEO et al., 2010; YEO et al., 2012; RABA et al., 2015), os quais observaram óleos submetidos a tratamentos térmicos e verificaram que nos estágios iniciais da oxidação lipídica as mudanças na absorbância do DPPH eram devidas ao consumo de captadores de radicais livres, porém quando em oxidação lipídica mais avançada ocorre a formação de compostos lipídicos oxidados os quais são capazes de reagir com os radicais DPPH promovendo alterações na absorbância do DPPH. Os óleos de cafés torrados advindos de bebida duro e rio apresentaram elevada capacidade antioxidante em FRSA% , o que indica que estes teores podem estar correlacionados também ao estado de oxidação em que os óleos se encontram, já que o processo pelo qual os grãos passam até serem extraídos seus óleos pode provocar o processo de oxidação ocasionando a formação de produtos de oxidação.

É importante destacar que segundo Yeo et al. (2010), Lee et al. (2007) e Raba et al. (2015) a absorbância do DPPH pode ser usada para determinar o grau de oxidação lipídica e a atividade antioxidante em compostos lipídicos. A capacidade antioxidante por ABTS mostra que óleos de torra média independente da classificação dos grãos exibiram os maiores teores. Para Sacchetti et al. (2009) o uso de temperatura moderadas durante a torração promove elevação da atividade antioxidante devido aumento destes nas frações não fenólicas, além do que há a produção de melanoidinas e compostos heterocíclicos voláteis que provocam este aumento (PERRONE et al., 2012; LIU, KITTS, 2011; YANAGIMOTO et al., 2004).

A composição bioativa dos óleos foi avaliada através dos compostos: cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos. O teor de cafeína nos óleos não sofreu interferência do processo de torração, mas foi distinto entre as amostras de diferentes classificações o que pode ter ocorrido devido aos desiguais locais de coleta das amostras. O teor de trigonelina e ácidos clorogênicos sofreu decréscimo conforme aumento da intensidade de torra. Exceto para a trigonelina em torra clara, esta não ocasionou elevada queda ficando com valores próximos aos óleos no estado verde. As análises de PCA (análise de componentes principais) e correlação de Pearson realizadas para avaliar a relação entre as amostras de óleos e estas análises verificaram que é relativamente difícil observar uma relação direta entre a atividade antioxidante e o

conteúdo de bioativos. Porém, as amostras de óleos de bebida rio com alta capacidade antioxidante apresentaram determinado teor de cafeína, o que pode ter influenciado esta elevação (VIGNOLI et al., 2011; VIGNOLI et al., 2014). É importante salientar que esta capacidade antioxidante pode também estar ligada a presença e formação de outros compostos (RABA et al., 2015; VIGNOLI et al., 2014; WANG et al., 2011).

Visando analisar os óleos de café verde e torrado como prováveis ingredientes alimentícios estes foram adicionados em iogurtes, as condições microbiológicas estavam dentro dos padrões exigidos em legislação e ao analisar a acidez durante o período de armazenamento foi possível notar um leve aumento, o que pode ter ocorrido devido à contínua atividade metabólica das bactérias lácticas (BRASIL, 2007; KARAASLAN et al., 2011). A composição fenólica e a capacidade antioxidante foram também avaliadas e notou-se que os óleos em torra escura (mole, duro e rio) tiveram elevados teores de fenólicos. A amostra padrão (sem adição de óleo) teve os menores valores absolutos de conteúdo fenólico e capacidade antioxidante em relação as demais formulações, nos tempos analisados (0 e 30 dias), o que representa a relevância da adição dos óleos no iogurte.

Os compostos fenólicos tem a capacidade de interação com as proteínas presentes nos iogurtes, além de outros componentes presentes no alimento, no entanto tais interações podem afetar a disponibilidade para ação como atuantes antioxidantes (SHPIGELMAN et al., 2010; JAKOBEK, 2015; SHALABY e ELHASSANEEN, 2021). Segundo Arts et al. (2002) e Luck et al. (1994) esta interação pode ser reversível e irreversível dependente de fatores como pH, temperatura e concentração dos constituintes presentes no alimento.

Os resultados da capacidade antioxidante dos iogurtes analisados através dos dois métodos (ABTS e DPPH) mostraram que as formulações contendo os óleos em torra escura exibiram uma maior atividade. Conforme discutido anteriormente, a promoção da maior capacidade antioxidante nos óleos quando analisados isoladamente não aconteceu devido a fração fenólica, mas pode ter ocorrido devido ao teor de cafeína e compostos de oxidação de acordo com os resultados de DPPH do óleo quando analisado isolado. Portanto, entende-se que estas formulações mesmo contendo alto teor fenólico, podem ter apresentado alta atividade antioxidante devido a presença de outros ingredientes da formulação. Quanto a capacidade antioxidante presente nestas formulações de iogurtes adicionadas de óleos em torra escura admite-se que o processo de torra em altas temperaturas gera maiores alterações oxidativas, e assim como aconteceu nas amostras de óleos isolados há formação de compostos como melanoidinas e compostos heterocíclicos voláteis descritos como potentes antioxidantes

(YANAGIMO et al., 2004; PERRONE et al., 2012; ABRAHÃO et al., 2010; BUDRYN et al. 2012; SHALABY e ELHASSANEEN, 2021).

As formulações contendo óleos em torra escura das classificações mole, duro e rio estavam relacionadas aos atributos sensoriais aroma e sabor de café, aroma e sabor de café ideais, além disso a maior intenção de compra foi também para estas amostras, com exceção da formulação com óleo em torra escura bebida rio. Em geral, as formulações de iogurte em torras escuras tiveram melhor aceitação dos atributos testados e os teores mais elevados em relação aos compostos químicos analisados independentemente da classificação dos grãos utilizados para extração do seu óleo. Assim, os óleos apresentaram efeitos positivos quando adicionados nas formulações de iogurtes, os quais podem ser aplicados como ingredientes em alimentos. Esta adição em outros alimentos deve ser avaliada em estudos futuros, considerando condições não avaliadas neste trabalho, como aplicação de processos industriais como temperatura, congelamento, resfriamento entre outros, além dos efeitos no organismo humano.

Conclusão Geral

Os cafés utilizados no estudo apresentaram composição química e física que variaram de acordo com a classificação de qualidade dos grãos. As análises de cor e perda de massa determinaram o ponto de torração correto das amostras e o software Scilab promoveu uma melhor visualização explicada principalmente pelo parâmetro L^* .

Os óleos de café verde e torrado podem ser extraídos eficientemente pelo processo de prensagem mecânica à frio. Os óleos de cafés torrados em torra escura não necessitam de recirculação da torta durante o processo de extração, assim são mais rapidamente extraídos, com menor despendimento de trabalho e maior rendimento. A composição de ácidos graxos nos óleos verdes e torrados foi semelhante mesmo sendo provenientes de grãos com diferentes classificações. A composição aromática dos óleos verdes é formada pelos compostos químicos ésteres, já os óleos de café torrado apresentaram elevados teores de derivados furanos e pirazinas. Estes compostos são os responsáveis pelo aroma e sabor de café presente nos óleos, é importante ressaltar que a concentração destes compostos nestes óleos aumentou conforme intensidade de torra, não havendo interferência da qualidade dos grãos.

A composição fenólica dos óleos no estado verde foi maior para as classificações duro e rio, em grãos classificados como mole a torra escura se sobressaiu. Porém, ao analisar-se a capacidade antioxidante dos óleos torrados, os advindos da classificação duro e rio apresentaram os mais altos valores em FRSA% , isso ocorreu por que a metodologia (DPPH) utilizada indica também o estado de oxidação em que o óleo se encontra, ou seja, os compostos lipídicos oxidados produzidos durante a oxidação lipídica são capazes de promover alterações nas medidas de absorbância e consequentemente nos valores obtidos da atividade antioxidante. Por outro lado, através de outro método (ABTS) de avaliação da capacidade antioxidante observou-se que os óleos de cafés em torra média exibiram os maiores teores o que pode ter ocorrido devido a presença e formação de outros compostos como cafeína, melanoidinas e compostos heterocíclicos voláteis. Para a composição bioativa notou-se que a cafeína não variou entre as classificações de qualidade dos grãos, a trigonelina sofreu degradação em óleos de torra média e escura independente da qualidade e os ácidos clorogênicos degradaram com aumento da intensidade da torração.

A adição dos óleos de cafés nos iogurtes proporcionou maior conteúdo fenólico em valores absolutos durante o armazenamento (30 dias) em relação ao padrão. As formulações de

iogurte com adição dos óleos em torra escura tiveram maior atividade antioxidante, além disso estas formulações apresentaram as melhores avaliações quanto aos atributos sensoriais. Estes resultados demonstram o potencial do uso dos óleos de café nos alimentos, especialmente os em torra escura, como ingredientes alimentares, antioxidantes e principalmente aromatizantes.

Referências Bibliográficas

ABRAHÃO, F. R.; ROCHA, L. C.R.; SANTOS, T. A., CARMO, E. L.; PEREIRA, L.A. S.; BORGES, S. V.; PEREIRA, R. G. F. A. P.; BOTREL, D. A. Microencapsulation of bioactive compounds from espresso spent coffee by spray drying. **Food Science and Technology**, v. 103 p. 116-124, 2019.

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; DUARTE, S. M. S.; LIMA, A. R.; ALVARENGA, D. J.; FERREIRA, E. B. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 414–420, 2010.

ARTS, M. J. T. J.; HAENEN, G. R. M. M., WILMS, L. C. ; BEETSTRA, S. A. J. N.; HEIJNEN, C. G. M.; VOSS, H. P. Interactions between flavonoids and proteins: Effect on the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 1184- 1187, 2002.

BICHO, N.C. et al. Use of colour parameters for roasted coffee assessment. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 3, p. 436-442, 2012.

BRASIL, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº8, de junho de 2003.** Aprova o regulamento técnico da identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru. Brasília, 2003. Disponível em : <<http://www.ministerio.gov.br>>. Acesso em :18 set. 2021.

BRASIL, **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 46 de 23 de outubro de 2007** - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de de Leites Fermentados. Disponível em: <<http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/instru%C3%87%C3%83o-normativa-n%C2%BA-46-de-23-de-outubro-de-2007.pdf>>. Acesso em: 03 set. de 2021.

BUDRYN, G.; NEBESNY, E.; ZYZELEWICZ, D.; ORACZ, J.; MISKIEWICZ, K.; KACZMAREK- ROSICKA, J. Influence of roasting conditions on fatty acids and oxidative

changes of Robusta coffee oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 114, p. 1052- 1061, 2012.

CLARKE, R. J. **Conteúdo de água e minerais**. In: CLARKE, RJ; MACRAE, R. (Eds.). *Café, I : Química*. Londres; Nova York: Elsevier Applied Science Publishers Co Ltd., 1985.

FOLSTAR, P. **Lipids**. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Eds.). *Café, I : Química*. Londres; Nova York: Elsevier Applied Science Publishers Co Ltd., 1985. p. 203-222. Disponível em:< http://dx.doi.org/10.1007/978-94-009-4948-5_6>. Acesso em: 17 nov de 2020.

GETACHEW, A. T.; CHU, B. S. Optimization of coffee oilflavor encapsulation using response surfacemethodology. **Food Science and Technology**, v. 70, p. 126- 134, 2016.

GIOMO, G.S.; BORÉM, F.M. Cafés especiais no Brasil: opção pela qualidade. **Informe Agropecuário**, 2011, v. 32, n. 261, p. 7-16. Disponível em: http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_agropecuario/ia_cafe_producao_qualidade.pdf>. Acessado em : 16 out. 2020.

GONZÁLEZ, H. M.; GONZALEZ, S.; ROSALES, T. Café (*Coffea arabica* L.): compuestos volátiles relacionados con el aroma y sabor. **UNACAR Tecnociencia**, p. 35-45, 2011.

GONZALEZ- RIOS, O.; SUAREZ-QUIROZA, M.; BOULANGER, R.; BAREL, M.; GUYOT, B.; GUIRAUD, J.; SCHORR- GALINDO, S. Impact of ecological post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee **J. Food Compos. Anal.**, v. 20, p. 289- 296, 2007.

JAKOBEK, L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. **Food Chemistry**, v. 175, p. 556-567, 2015.

KARAASLAN, M.; OZDEN, M.; VARDIN, H.; TURKOGLU, H. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. **Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 1065- 1072, 2011.

LEE, J. M.; CHUNG, H.; CHANG, P. S.; LEE, J. H. Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 662- 669, 2007.

LIU, Y.; KITTS, D. D. Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews. **Food Research International** , v. 44, p. 2418-2424, 2011.

MALTA, M. R. Processamento e qualidade do café. **Informe Agropecuário**, v. 32, n. 261, p. 7- 16, 2011. Disponível em:<http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_agropecuário/ia_café_produção_qualidade.pdf>. Acesso em: 16 de out 2020.

MARTINEZ, H.E.P.; CLEMENTE, J. M.; LACERDA, J. S.; NEVES, Y. P.; PEDROSA, A. W. Nutrição mineral do cafeeiro e qualidade da bebida. **Revista Ceres**, v. 61, p. 838-848, 2014.

MAYER, F.; CZEMY, M.; GROSCH, W. Sensory study of the character impact aroma compounds of a coffee beverage EUR. **Food Research Technology**, v. 211, p. 272- 276, 2000.

OLIVEIRA, P. M. A. **Óleo de grãos de café verde obtido por extração supercrítica, extração com fluido pressurizado e comparação de sua composição com o óleo de café extraído pelos pequenos produtores do estado de São Paulo – análise da concentração de compostos bioativos**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

OLIVEIRA, L.S.; FRANCA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; BARROS- JÚNIOR, M. C. Proximate composition and fatty acids profile of green and roasted defective coffee beans. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 235-239, 2006.

PANUSA, A.; ZUORRO, A.; LAVECCHIA, R.; MARROSU, G.; & PETRUCCI, R. Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 17, p. 4162-4168, 2013.

PERRONE, D.; FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 4265- 4275, 2012.

PETISCA, C.; PÉREZ, T.; FARAH, AD; PINHOA, O.; FERREIRA, I. Furans and other volatile compounds in ground roasted and espresso coffee using headspace solid-phase microextraction: effect of roasting speed **Food Bioprod. Process.**, v. 9, p. 233- 241, 2013.

PIMENTA, C.J.; ANGÉLICO, C.L.; CHALFOUN, S.M. Challenges in coffee quality: Cultural, chemical and microbiological aspects. **Ciência e Agrotecnologia**, 42 (4): 337-349, Jul/Aug. 2018.

PINTO, N.A.V.D.; FERNANDES, S. M. GIRANDA, R. N. PEREIRA, R. G. F. A.; CARVALHO, V. D. Avaliação de componentes químicos de padrões de bebida para o preparo de café expresso. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, p. 826-829, 2002.

PRIOR, R. L.; XIANLI, W.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v. 53, p. 4290- 4302, 2005.

RABA, D. N.; POIANA, M. A.; BOROZAN, A. B.; STEF, M. ; RADU, F.; POPA, M. V. Investigation on crude and high- temperature heated coffee oil by ATRFTIR Spectroscopy along with antioxidant and antimicrobial properties. **PLoS ONE**. v.10, n.9, 2018.

RAMALAKSHMI, K.; RAO, L. J. M.; TAKANO- ISHIKAWA, Y. & GOTO, M. Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 79-85, 2009.

RIBEIRO, F. C. ; BORÉM F. M.; GIOMO, G. S.; LIMA, R. R.; MALTA, M. R.; FIGUEIREDO, P. F. Storage of green coffee in hermetic packaging injected with CO₂ . **Journal of Stored Products Research**, v. 47, p. 341- 348, 2011.

SACCHETTI, G.; MATTIA, C. D.; PITTIA, P.; MASTROCOLA, D. Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 74- 80, 2009.

SANCHES, M. Z.; SILVA NETO, E. de S.; UENO, C. T.; SHIRAI, M. A.; SAKANAKA, L. S. Roasted coffee oil (*Coffea arabica*): Characterization of fatty acids, qualification of aromatic compounds and quantification of caffeine content. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e76291110618, 2020.

SCHENKER, S.; ROTHGEB, T. **The roast: creating the beans' signature**. In: FOLMER, B. The craft and science of coffee. Amsterdam: Academic Press, 2017.

SHALABY, H.S.; ELHASSANEEN, Y. A. Functional and Health Properties of Yogurt Supplemented with Green Tea or Green Coffee Extracts and its Effect on Reducing Obesity Complications in Rats. **Alexandria Science Exchange Journal**. v. 42, n. 2, 2021.

SHPIGELMAN, A.; ISRAELI, G.; LIVNEY, Y. D. Thermally-induced protein-polyphenol co-assemblies: Beta lactoglobulin-based nanocomplexes as protective nanovehicles for EGCG. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 735- 743, 2010.

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

TURRATTI, J. M. (2001). Extração e caracterização de óleo de café. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Vitória, 2001. **Resumos expandidos**. Brasília: EMBRAPA Café, 1533-1539.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G., BENASSI, M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**, v. 124, p. 863- 868, 2011.

VIGNOLI, J. A.; VIEGAS, M.C.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International**, v. 61, p. 279- 285, 2014.

VOYTENA, A. P L. et al. Phytochemical Profile and in vitro Assessment of the Cytotoxicity of Green and Roasted Coffee Oils (*Coffea arabica* L.) and their Polar Fractions. **Records of natural products**, v.12, n. 2, p. 169- 174, 2018.

WANG, X.; LIM, L. **Physicochemical characteristics of roasted coffee**. In: PREEDY, V. R.(Ed.). Coffee in health and disease prevention. London: Elsevier, 2015.

YANAGIMOTO, K.; OCHI, H.; LEE, K. G.; SHIBAMOTO, T. Antioxidative activity of heterocyclic compounds found in coffee volatiles produced by Maillard reaction . **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 592- 596, 2004.

YEO, J. D.; JEONG, M. K.; LEE, J. H. Application of DPPH absorbance method to monitor the degree of oxidation in thermally-oxidized oil model system with antioxidants. **Food Science and Biotechnology**, v.19, n. 1, p. 253- 256, 2010.

YEO, J. D.; JEONG, M. K.; LEE, J. H Correlation of antioxidant content and absorbance changes of DPPH during lipid oxidation. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 1, p. 199- 201, 2012.

ANEXOS

Anexo 1. Comprovante de submissão na Revista Coffee Science.



DECLARAÇÃO

Declaramos que o artigo intitulado **"EVALUATION OF PHYSICAL PARAMETERS OF GREEN AND ROASTED ARABICA COFFEE USING THE SCILAB® FREE SOFTWARE"** autoria de Emanuele Moraes de Oliveira e Helena Teixeira Godoy, foi submetido na revista *Coffee Science* e está em processo de avaliação pelos consultores de áreas.

Lavras, 07 de dezembro de 2021.


 Prof. Flávio Motta Borem
 Editor Chefe
 Revista Coffee Science/UFLA


Anexo 2. Comprovante de cadastro de acesso ao Patrimônio Genético/CTA no SisGen.



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº AD56B8C

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: AD56B8C
Usuário: UNICAMP
CPF/CNPJ: 46.068.425/0001-33
Objeto do Acesso: Patrimônio Genético/CTA
Finalidade do Acesso: Pesquisa

Espécie

Coffea arabica
Coffea arabica L.

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: Extração de óleo de café torrado em diferentes pontos de torrefação e sua aplicação em bebida láctea: efeito sobre as características físico-químicas, estabilidade de compostos bioativos e aspectos sensoriais.

Equipe

Emanuelle Moraes de Oliveira UNICAMP
Helena Teixeira Godoy Unicamp

Data do Cadastro: 30/09/2019 14:18:32
Situação do Cadastro: Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 14:29 de 30/09/2019.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - SISGEN

Anexo 3. Comprovante de aprovação em Comitê de ética e pesquisa.

	UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS													
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP														
DADOS DA EMENDA														
Título da Pesquisa: Extração e caracterização do óleo do café torrado.														
Pesquisador: EMANUELLE MORAIS DE OLIVEIRA														
Área Temática:														
Versão: 6														
CAAE: 22667319.8.0000.5404														
Instituição Proponente: Faculdade de Engenharia de Alimentos														
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio														
DADOS DO PARECER														
Número do Parecer: 4.711.465														
Apresentação do Projeto:														
Trata-se da segunda versão da primeira emenda ao projeto original que visa a alteração do produto a ser submetido para análise sensorial e do local onde a análise sensorial será realizada. Também propõe alterações no projeto, no TCLE, no cronograma de execução e no orçamento financeiro.														
Objetivo da Pesquisa:														
Objetivo Primário: Mantido em relação ao projeto original														
Objetivo Secundário: Alterado em relação ao projeto original														
O objetivo específico deste trabalho é:- Aplicar os óleos de café verde e torrado em iogurtes e avaliar sensorialmente a bebida quanto a aceitação sensorial, ideal para sabor e aroma de café e intenção de compra.														
Avaliação dos Riscos e Benefícios:														
Avaliação dos riscos e benefícios alterada em relação ao projeto original.														
Segundo informações do pesquisador, "Os riscos são controlados tendo em vista que os ingredientes utilizados são aprovados pela ANVISA e pelo MAPA, contudo a prova dos iogurtes envolve o risco para sujeitos da pesquisa caso os mesmos possuam alergia e/ou sensibilidade desconhecida ao óleo do café, leite, fermento, estabilizante (fosfato monossódico [NS 339i] e açúcar, em caso de nunca terem consumido tais produtos. Pode gerar problemas aos diabéticos, desconforto gastrointestinal aos portadores de intolerância a lactose e hipercolesterolemia serão														
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td colspan="2">Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126</td> <td>CEP: 13.083-867</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Bairro: Barão Geraldo</td> <td></td> </tr> <tr> <td>UF: SP</td> <td colspan="2">Município: CAMPINAS</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (19)3521-6535</td> <td>Fax: (19)3521-7187</td> <td>E-mail: cep@fcm.unicamp.br</td> </tr> </table>			Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126		CEP: 13.083-867	Bairro: Barão Geraldo			UF: SP	Município: CAMPINAS		Telefone: (19)3521-6535	Fax: (19)3521-7187	E-mail: cep@fcm.unicamp.br
Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126		CEP: 13.083-867												
Bairro: Barão Geraldo														
UF: SP	Município: CAMPINAS													
Telefone: (19)3521-6535	Fax: (19)3521-7187	E-mail: cep@fcm.unicamp.br												



Continuação do Parecer: 42711/405

amplamente alertados através do TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido- On-line Anexo 2). Há também risco para portadores de doenças cardíacas devido a presença de cafeína no óleo do café. A adição de óleo do café nos iogurtes ocorrerá após análise química do teor de cafeína presente no óleo, para seguir o consumo de cafeína estabelecido pela ANVISA (2018), no qual objetiva-se valores entre 75 a 110 mg cafeína/ porção de iogurte. Também existem os riscos característicos do ambiente virtual devido a utilização dos meios eletrônicos. Há risco de queda de conexão durante a avaliação das amostras, caso isso aconteça deve ser realizado novamente o preenchimento dos formulários. Além do risco do vazamento de dados, isso pode ocorrer devido a limitação do sistema tecnológico utilizado que infelizmente não pode assegurar total confidencialidade dos dados e existe o potencial risco de sua violação. É importante salientar que após preenchimento do formulário por parte do participante, este será imediatamente salvo em ambiente eletrônico do pesquisador principal, de modo a garantir a confidencialidade e a não violação dos dados." Quanto aos benefícios, o pesquisador diz que "O benefício que o projeto traz é a opção de mais um sabor de iogurte, bem como se beneficiar das possíveis propriedades funcionais do óleo do café torrado."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora responsável informou no Formulário de Informações Básicas da Plataforma Brasil: "Extração de óleo de café torrado em diferentes pontos de torrefação e sua aplicação em iogurtes: efeito sobre as características físico- químicas, estabilidade de compostos bioativos e aspectos sensoriais. Emanuelle Moraes de Oliveira (pesquisadora responsável) Orientador: Prof.ª Dra. Helena Teixeira Godoy Número do CAAE: 22667319.8.0000.5404 O produto inicial de avaliação era uma bebida láctea, porém por meio de testes preliminares que demonstraram que o produto não chegou a consistência ideal foi necessário realizar a troca para IOGURTES. Os iogurtes demonstraram consistência ideal e período de estabilidade superior aos demais produtos lácteos, justificando assim a troca no presente projeto. Em virtude do atual cenário de pandemia que acontece no Brasil, a presente pesquisadora solicita alteração na metodologia de Análise Sensorial a ser realizada. Para que isso ocorra emendas serão necessárias nos documentos de PROJETO, TCLE e CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO. A análise sensorial será realizada em ambiente doméstico. Os participantes da pesquisa receberam as amostras em casa com instruções para o consumo. Durante a entrega e em todos os atos de preparação serão respeitados os protocolos de segurança para evitar a COVID-19 (máscara, álcool em gel e distanciamento social)".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

1 - "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1724025_E1.pdf", de 10/05/2021.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-867
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8935 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fom.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.211.495

- 2 – "cr.docx", de 10/05/2021.
- 3 – "pr.docx", de 10/05/2021.
- 4 – "tcle.docx", de 10/05/2021.
- 5 – "pan.pdf", de 04/05/2021.
- 6 – "FR.pdf", de 02/10/2020.

Recomendações:

RECOMENDAÇÕES REFERENTES À PRIMEIRA VERSÃO DA EMENDA E1:

Recomenda-se substituir o documento "PA.pdf" (parecer anterior) uma vez que não foi possível abrir o arquivo anexado.

É altamente recomendável que a pesquisadora insira documentos que permitam uso do recurso "copiar" e "colar", independente da extensão. Infelizmente, os documentos anexados não permitiram a utilização desse recurso, o que dificulta um pouco o processo de relatoria.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: O parecer anterior foi substituído conforme solicitação, possibilitando a abertura na extensão pdf.

Os demais documentos projeto, emenda, carta resposta e tcle estão anexados na extensão "Word", possibilitando assim o recurso "copiar" e "colar".

ANÁLISE DO CEP: Recomendações atendidas.

A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep), do Conselho Nacional de Saúde (CNS) orienta a adoção das diretrizes do Ministério da Saúde (MS) decorrentes da pandemia causada pelo Coronavírus SARS-CoV-2 (Covid-19), com o objetivo de minimizar os potenciais riscos à saúde e a integridade dos participantes de pesquisas e pesquisadores.

De acordo com carta circular da CONEP intitulada "ORIENTAÇÕES PARA CONDUÇÃO DE PESQUISAS E ATIVIDADE DOS CEP DURANTE A PANDEMIA PROVOCADA PELO CORONAVÍRUS SARS-COV-2 (COVID-19)" publicada em 09/05/2020, referente ao item II. "Orientações para Pesquisadores":

- Aconselha-se a adoção de medidas para a prevenção e gerenciamento de todas as atividades de pesquisa, garantindo-se as ações primordiais à saúde, minimizando prejuízos e potenciais riscos, além de prover cuidado e preservar a integridade e assistência dos participantes e da equipe de pesquisa.
- Em observância às dificuldades operacionais decorrentes de todas as medidas impostas pela pandemia do SARS-CoV-2 (COVID-19), é necessário zelar pelo melhor interesse do participante da pesquisa, mantendo-o informado sobre as modificações do protocolo de pesquisa que possam afetá-lo, principalmente se houver ajuste na condução do estudo, cronograma ou plano de

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8535 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.211.495

trabalho.

- Caso sejam necessários a suspensão, interrupção ou o cancelamento da pesquisa, em decorrência dos riscos imprevisíveis aos participantes da pesquisa, por causas diretas ou indiretas, caberá aos investigadores a submissão de notificação para apreciação do Sistema CEP/Conep.
- Nos casos de ensaios clínicos, é permitida, excepcionalmente, a tramitação de emendas concomitantes à implementação de modificações/alterações no protocolo de pesquisa, visando à segurança do participante da pesquisa, assim como dos demais envolvidos no contexto da pesquisa, evitando-se, ainda, quando aplicável, a interrupção no tratamento dos participantes da pesquisa. Eventualmente, na necessidade de modificar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), o pesquisador deverá proceder com o novo consentimento, o mais breve possível.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

EM RELAÇÃO À SEGUNDA VERSÃO DA EMENDA E1, SEGUEM À LISTA DE PENDÊNCIAS E INADEQUAÇÕES IDENTIFICADAS:

1. Quanto ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, disponível no documento "tcle.docx", de 04/05/2021, e no link (<https://forms.gle/mi11qSKNSLznAnv7>):

1.1. O texto disponível no link (<https://forms.gle/mi11qSKNSLznAnv7>) está diferente daquele apresentado no documento "tcle.docx", de 04/05/2021. Solicita-se adequação.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Os textos foram corrigidos e adequados. Após correções os textos estão idênticos conforme solicitação.

ANÁLISE DO CEP: Atendida.

1.2. Segundo a Resolução CNS Nº 466 de 2012, o termo de consentimento é um documento que deve ser redigido no formato de convite. As sentenças devem ser redigidas com afirmações do pesquisador dirigidas ao participante de pesquisa. Desta forma, toda a descrição de procedimento, que está redigida de modo impessoal, por exemplo "Cada participante receberá 2 kits de amostras, o Kit 1 deverá ser consumido no primeiro dia, e o segundo Kit 2 no dia posterior", não atende as orientações. Solicita-se adequação usando o formato utilizado na descrição do anexo 3 "Instruções para Consumo. As instruções para os participantes serão entregues juntamente com os Kits contendo as amostras".

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8935 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.211.495

RESPOSTA DA PESQUISADORA: O texto referente aos "Procedimentos" presente no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi corrigido conforme solicitação e de acordo com as orientações presentes na Resolução CNS Nº 466 de 2012. As correções estão sublinhadas em verde no documento TCLE.

ANÁLISE DO CEP: Atendida.

2. Quanto ao Projeto, disponível no documento "pr.docx", de 04/05/2021:

2.1. No anexo 2 a pesquisadora apresenta o "Convite para participação de questionário online". Neste convite a pesquisadora afirma que "segue um questionário on-line sobre o consumo de **IOGURTES** sabor café", dando a entender ao participante que, para participar da pesquisa, **ele** deverá apenas responder um questionário. Na sequência do convite a pesquisadora informa que "Neste link será **solicitado** o endereço do participante da pesquisa. O endereço é necessário para a entrega dos kits contendo as amostras". **Solicita-se** adequação do convite para deixar claro que a pesquisa envolve **análise sensorial** de um novo produto acompanhada de preenchimento on-line de questionário sobre cada amostra.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Foram realizadas adequações no documento Projeto "PR" no Anexo 2. Foram realizadas correções de modo que ao receber o e-mail, o convidado entenda que deverá realizar uma **análise sensorial** domiciliar acompanhada de preenchimento de formulário online para cada amostra. As correções estão sublinhadas em amarelo no documento Projeto "PR".

ANÁLISE DO CEP: Atendida.

2.2. Considerando-se que as **ORIENTAÇÕES PARA PROCEDIMENTOS EM PESQUISAS COM QUALQUER ETAPA EM AMBIENTE VIRTUAL**, publicadas pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep) em 24 de fevereiro de 2021 (http://conselho.saude.gov.br/images/Oficio_Circular_2_24fev2021.pdf), recomendam que "Qualquer convite individual enviado por e-mail só poderá ter um remetente e um destinatário, ou ser enviado na forma de **lista oculta**", **solicitam-se** esclarecimentos sobre como será feito o recrutamento por e-mail.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Conforme as "Orientações para procedimentos em pesquisas com qualquer etapa em ambiente virtual", publicadas pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep) em 24 de fevereiro de 2021, o pesquisador principal será o único remetente tendo somente como destinatário um participante a ser convidado. As adequações foram adicionadas no texto do Projeto "PR" no item 5. População a ser estudada. As adequações estão sublinhadas em cor rosa no documento Projeto "PR".

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8835 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.711.485

ANÁLISE DO CEP: Atendida.

EM RELAÇÃO À LISTA DE PENDÊNCIAS E INADEQUAÇÕES IDENTIFICADAS APÓS AVALIAÇÃO DA PRIMEIRA VERSÃO DA EMENDA E1, SEGUEM AS RESPOSTAS DA PESQUISADORA RESPONSÁVEL E A ANÁLISE DO CEP:

1. Quanto ao projeto apresentado no documento "PR.pdf", de 25/03/2021:

1.1. No item "4. Local de realização da pesquisa", a pesquisadora informa que "A pesquisa deverá ser realizada em ambiente doméstico". No entanto, no documento "tcle.pdf", de 25/03/2021, e no modelo de e-mail convite disponibilizado no Anexo 2 do documento "PR.pdf", de 25/03/2021, a pesquisadora não informa ao participante que será necessário fornecer o endereço residencial para a entrega das amostras. Solicitam-se esclarecimentos sobre:

1.1.1. Em que momento a pesquisadora irá informar o participante que ele precisará fornecer endereço residencial?

1.1.2. Considerando-se que endereço residencial é uma informação sensível, quais cuidados serão tomados pela pesquisadora a fim de garantir o sigilo dessa informação?

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Foi inserido a solicitação do endereço dos participantes no e-mail convite. No e-mail convite ele será avisado da necessidade da informação do endereço para a entrega dos Kits contendo as amostras. No link (<https://forms.gle/rn11qSKNSLznAnv7>) disponibilizado para preenchimento do TCLE "tcle.pdf" (Anexo 2, presente no arquivo do projeto) será solicitado que o participante escreva o seu endereço. Tanto no e-mail quanto no ato do preenchimento do TCLE é informado ao participante a garantia de absoluto sigilo desta informação, como forma de garantir a segurança ao participante. Correções sublinhadas em vermelho no e-mail convite (presente no corpo do texto do projeto).

ANÁLISE DO CEP: Atendida.

1.2. No item "5. População a ser estudada", a pesquisadora informa que "os participantes serão primeiramente convidados por meio online (através de e-mail)". Ainda, que "as pessoas serão conhecidas do pesquisador principal". No Anexo 2 ("convite para participação de questionário online"), a pesquisadora escreve que "Solicito ampla divulgação de um questionário on-line sobre o consumo de bebidas lácteas sabor café.". Informa ainda que "ao aceitar você receberá as amostras devidamente higienizadas em sua casa".

1.2.2 Solicitam-se esclarecimentos sobre a forma de recrutamento dos participantes (não haverá divulgação em redes sociais?).

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-4806 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.211.495

1.2.2. Solicitam-se também esclarecimentos quanto ao produto a ser analisado, se serão bebidas lácteas (como está no texto do e-mail convite) ou iogurtes (como está no corpo do projeto).

1.2.3. Solicitam-se esclarecimentos sobre como será garantido que cada participante seja abordado no máximo duas vezes, e caso não concorde em participar da pesquisa, e-mails e convites online não serão mais disparados para estes participantes.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Os participantes da pesquisa serão convidados por e-mail, assim não haverá ampla divulgação nas redes sociais. Portanto, foi corrigida a frase no Anexo 2 (e-mail) do Projeto onde a pesquisadora solicita ampla divulgação. O produto a ser analisado será o iogurte. O texto do e-mail foi corrigido e a palavra bebida láctea foi substituída por IOGURTE (como está no corpo do projeto). O participante receberá o e-mail de divulgação (Anexo 2) somente uma vez e para que fique assegurado o direito de não participar foi acrescentado a frase no e-mail: 'Caso não tenha interesse em participar da pesquisa por favor desconsiderar este e-mail. Você não receberá mais este e-mail'. Correções sublinhadas em verde no e-mail convite (presente no corpo do texto do projeto).

ANÁLISE DO CEP: Atendida.

1.3. . No item 7.4., a pesquisadora descreve que, após a degustação de cada amostra de iogurte ("ato de avaliação"), os participantes "deverão preencher o formulário on-line segundo as instruções". No Anexo 1 ("Ficha de Avaliação Sensorial"), a primeira informação a ser reportada pelo participante será seu nome. Considerando-se as ORIENTAÇÕES PARA PROCEDIMENTOS EM PESQUISAS COM QUALQUER ETAPA EM AMBIENTE VIRTUAL, publicadas pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep) em 24 de fevereiro de 2021:

1.3.1. É recomendado ao pesquisador responsável fazer o download dos dados coletados e dos registros de consentimento livre e esclarecido para um dispositivo eletrônico local, apagando todo e qualquer registro de qualquer plataforma virtual, ambiente compartilhado ou "nuvem".

1.3.2. Considerando-se a coleta de informação que permite a identificação do participante (nome) em cada formulário a ser preenchido, totalizando 26 (vinte e seis) fichas a serem preenchidas, as quais ficarão temporariamente armazenadas em nuvem, solicita-se adoção de sistema de codificação prévia dos participantes de modo evitar a inclusão do nome do participante em cada ficha a ser preenchida.

1.3.3. Além dos riscos descritos pela pesquisadora, a utilização do ambiente virtual também acarreta alguns riscos (queda de conexão, risco de vazamento de dados, etc.). Solicita-se que a pesquisadora destaque os riscos característicos do ambiente virtual, meios eletrônicos, ou

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-4935 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4,711,495

atividades não presenciais, em função das limitações das tecnologias utilizadas. Adicionalmente, devem ser informadas as limitações dos pesquisadores para assegurar total confidencialidade e potencial risco de sua violação.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Os dados coletados e os registros de consentimento livre e esclarecido serão salvos assim que o participante responder a pesquisa de forma a evitar qualquer vazamento, violação ou comprometimento dos dados. Estes dados serão salvos imediatamente em dispositivo eletrônico local que pertence ao pesquisador principal. Os participantes serão identificados nos formulários com uma identificação numérica que segue como o quadro abaixo:

Participante 1- EMO01 Participante 26- EMO26
 Participante 2- EMO02 Participante 27- EMO27
 Participante 3- EMO03 Participante 28- EMO28
 Participante 4- EMO04 Participante 29- EMO29
 Participante 5- EMO05 Participante 30- EMO30
 Participante 6- EMO06 Participante 31- EMO31
 Participante 7- EMO07 Participante 32- EMO32
 Participante 8- EMO08 Participante 33- EMO33
 Participante 9- EMO09 Participante 34- EMO34
 Participante 10- EMO10 Participante 35- EMO35
 Participante 11- EMO11 Participante 36- EMO36
 Participante 12- EMO12 Participante 37- EMO37
 Participante 13- EMO13 Participante 38- EMO38
 Participante 14- EMO14 Participante 39- EMO39
 Participante 15- EMO15 Participante 40- EMO40
 Participante 16- EMO16 Participante 41- EMO41
 Participante 17- EMO17 Participante 42- EMO42
 Participante 18- EMO18 Participante 43- EMO43
 Participante 19- EMO19 Participante 44- EMO44
 Participante 20- EMO20 Participante 45- EMO45
 Participante 21- EMO21 Participante 46- EMO46
 Participante 22- EMO22 Participante 47- EMO47
 Participante 23- EMO23 Participante 48- EMO48
 Participante 24- EMO24 Participante 49- EMO49
 Participante 25- EMO25 Participante 50- EMO50

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-6836 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.211.495

Foi retirado da ficha sensorial a solicitação do nome dos participantes. Foi incluído que o participante colocasse a identificação numérica presente no conjunto de Kits (cada participante receberá dois Kits com a mesma identificação numérica. Kit um será consumido no primeiro dia e o kit 2 será consumido no segundo dia conforme as instruções). Os participantes foram alertados do potencial risco inerente ao ambiente virtual através da inserção dos parágrafos no texto do item 11. 1 Risco. Os parágrafos inseridos foram: "Também existem os riscos característicos do ambiente virtual devido a utilização dos meios eletrônicos. Há risco de queda de conexão durante a avaliação das amostras, caso isso aconteça deve ser realizado novamente o preenchimento dos formulários. Além do risco do vazamento de dados, isso pode ocorrer devido a limitação do sistema tecnológico utilizado, que infelizmente não pode assegurar total confidencialidade dos dados e existe o potencial risco de sua violação. É importante salientar que após preenchimento do formulário por parte do participante, este será imediatamente salvo em ambiente eletrônico do pesquisador principal, de modo a garantir a confidencialidade e a não violação dos dados." As correções estão sublinhadas em azul no projeto.

ANÁLISE DO CEP: Atendida.

2. Quanto ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido apresentado no documento "tcle.pdf", de 25/03/2021:

2.1. A Resolução CNS N° 466 de 2012, no item II.23, orienta que o TCLE deve "conter todas as informações necessárias, em linguagem clara e objetiva, de fácil entendimento, para o mais completo esclarecimento sobre a pesquisa a qual se propõe participar". A forma como está descrito o "Procedimento" não deixa claro o que cada participante deve fazer assim como não fica claro qual é o tempo necessário para a realização de cada etapa. Ainda, a pesquisadora não descreveu de forma clara que um dispositivo eletrônico (computador, tablete, etc.) conectado à internet deve estar próximo ao participante durante a degustação de cada amostra para que o formulário online seja preenchido a cada amostra. Solicitam-se adequações.

2.2. Como já apontado na análise do projeto, a pesquisadora precisa incluir os riscos característicos do ambiente virtual no campo "Desconfortos e Riscos".

2.3. No campo "Ressarcimento e Indenização" a pesquisadora descreve que "você não terá nenhum gasto com o estudo, visto que ele será realizado durante o horário de trabalho e estudo dos alunos e funcionários da Unicamp". No entanto, a pesquisa será realizada em ambiente domiciliar e não mais nas dependências do laboratório. Solicitam-se adequações.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8935 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.211.495

2.4. Quando a coleta de dados ocorrer em ambiente virtual (com uso de programas para coleta ou registro de dados, e-mail, entre outros), na modalidade de consentimento (Registro ou TCLE), o pesquisador deve enfatizar a importância do participante de pesquisa guardar em seus arquivos uma cópia da Carta do documento eletrônico. Solicita-se a inclusão desta informação no TCLE.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Foram realizadas correções no item "Procedimento" presente no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido" assim foram realizadas adequações para que o participante entenda melhor como deve ser realizado o procedimento. Foi acrescentado no texto o tempo total que será gasto para a degustação em cada etapa. Acrescentou-se também a informação na necessidade de um dispositivo eletrônico conectado a internet durante a degustação e cada amostra, para que o formulário on-line possa ser preenchido a cada amostra. O texto adicionado no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi :

"Ao iniciar a degustação o participante deverá ter em mãos aparelho eletrônico (celular, notebook ou tablet) conectado à internet. A cada amostra degustada deve-se preencher o formulário através do link presente nas instruções. O provador também deverá preparar um copo contendo 200mL de água para que ele tome um pouco entre as amostras para fazer a limpeza da boca. O provador deve provar cada amostra com o tempo de 5 minutos, totalizando na etapa 1 (primeiro/ segundo dia) período da manhã 35 minutos e etapa 2 (primeiro/ segundo dia) período da tarde 30 minutos. O participante terá 5 minutos para provar cada amostra e responder o questionário on-line através do link disponível nas instruções de consumo. No formulário online o participante deverá colocar: identificação numérica presente no kit, data e proceder a avaliação sensorial referente a aparência, aroma, sabor, textura, homogeneidade e impressão global utilizando uma escala não estruturada de nove centímetros, onde um extremo é correspondente a pouco e o outro muito intenso."

Foram realizadas correções no item "Desconfortos e Riscos" do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foi adicionado o texto informando ao participante os riscos característicos do ambiente virtual. Foi adicionado o seguinte texto:

"Os participantes também estarão sujeitos aos riscos característicos do ambiente virtual devido a utilização dos meios eletrônicos. Há risco de queda de conexão durante a avaliação das amostras, caso isso aconteça deve ser realizado novamente o preenchimento dos formulários. Além do risco do vazamento de dados, isso pode ocorrer devido a limitação do sistema tecnológico utilizado que infelizmente não pode assegurar total confidencialidade dos dados e existe o potencial risco de sua violação." Foram realizadas adequações no campo "Ressarcimento e Indenizações" presente no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido" para adequação e descrição de que o participante

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-867
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-4935 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.711.495

realizará a pesquisa em ambiente domiciliar. O trecho foi reescrito e ficou como segue abaixo:

"Não haverá nenhuma forma de reembolso, porque você não terá nenhum gasto com o estudo, visto que o pesquisador principal levará os Kits até você, para que a análise sensorial seja realizada em ambiente domiciliar. Você terá a garantia ao direito a indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa."

Foram realizadas adequações no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido visando enfatizar a importância do participante da pesquisa em salvar em seus arquivos uma cópia Carta do documento eletrônico Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O trecho foi adicionado no texto do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido como segue abaixo:

"ATENÇÃO: APÓS O PREENCHIMENTO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO VOCÊ DEVE SALVAR UMA CÓPIA CARTA DESTE DOCUMENTO ELETRÔNICO VISANDO A SUA SEGURANÇA." As correções estão sublinhadas em azul escuro no texto presente no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

ANÁLISE DO CEP: Parcialmente atendida. Vide pendências e lista de inadequações da segunda versão do projeto.

3. Quanto ao "Cronograma" apresentado no documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1724025_E1.pdf", de 25/03/2021.

3.1. No cronograma apresentado, a etapa de "Análise Sensorial" está prevista para ser realizada de 19/04/2021 a 30/06/2021. Considerando-se que de acordo com a Norma Operacional CNS Nº 001 de 2013, item 3.4.1.9., "Todos os protocolos de pesquisa devem conter, obrigatoriamente: (...) Cronograma: informando a duração total e as diferentes etapas da pesquisa, em número de meses, com compromisso explícito do pesquisador de que a pesquisa somente será iniciada a partir da aprovação pelo Sistema CEP- Conep" e que a presente ementa ainda encontra-se em avaliação, solicita-se a adequação do cronograma.

RESPOSTA DA PESQUISADORA: Foram realizadas correções de acordo com o item solicitado acima. A presente pesquisadora equivocou-se nas contas em relação aos meses. Conforme a Norma Operacional CNS Nº001 de 2013 item 3.4.1.9 a presente pesquisadora somente dará início a Análise Sensorial após a aprovação pelo Sistema CEP- Conep.

O cronograma presente no texto do projeto foi reformulado e encontra-se sublinhado no texto em cor rosa. Também foi realizada a adequação no documento "Informações Básicas do Projeto" conforme solicitação.

ANÁLISE DO CEP: Atendida.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-867
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-6935 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.211.495

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por **ele** assinado (quando aplicável).
- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme ~~de~~lineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que ~~alterem~~ o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.
- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.
- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XL.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-6535 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 4.211.495

-O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1724025_E1.pdf	10/05/2021 21:07:18		Aceito
Outros	cr.docx	10/05/2021 21:05:42	EMANUELLE MORAIS DE OLIVEIRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.docx	10/05/2021 21:05:16	EMANUELLE MORAIS DE OLIVEIRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	pr.docx	10/05/2021 21:05:00	EMANUELLE MORAIS DE OLIVEIRA	Aceito
Parecer Anterior	pen.pdf	04/05/2021 15:30:38	EMANUELLE MORAIS DE OLIVEIRA	Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	02/10/2019 14:32:19	EMANUELLE MORAIS DE OLIVEIRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 14 de Maio de 2021

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8935 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcom.unicamp.br