

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

MARIANA HELENA CARDOSO COSTA

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA ACIDEZ DE CAFÉS ESPRESSO EM
CÁPSULAS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO,
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA E ANÁLISE SENSORIAL**

BELO HORIZONTE

2018

MARIANA HELENA CARDOSO COSTA

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA ACIDEZ DE CAFÉS ESPRESSO EM
CÁPSULAS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO,
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA E ANÁLISE SENSORIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestra em Ciência de Alimentos.

Orientador: Profa. Adriana Silva Franca

BELO HORIZONTE

2018

Folha de Aprovação

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado força para superar as dificuldades.

A minha orientadora Adriana, pela orientação, apoio e confiança.

Ao professor Leandro, pelo apoio e aprendizado no laboratório.

A minha família, em especial minha mãe e meu marido, por acreditarem em mim desde o princípio e me incentivarem a continuar. Sou quem sou porque vocês estiveram sempre ao meu lado.

Aos amigos e companheiros de laboratório, que me apoiaram e ajudaram para que este trabalho acontecesse.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo principal utilizar Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIRS), análise de ácido cítrico e clorogênico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e análise sensorial para diferenciar cafés comercializados em cápsulas de diferentes marcas, por suas características de acidez. As análises por HPLC foram realizadas para quantificação de ácido clorogênico e ácido cítrico, a análise sensorial foi realizada para avaliação dos atributos acidez, aroma e sabor, e também foi realizada a análise de acidez titulável. Análises quimiométricas, como Análise por Componentes Principais (PCA), Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) e Análise Discriminante pela Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) foram utilizadas. A análise por PCA dos espectros NIR proporcionou a separação de diferentes marcas, e também a separação por intensidade de torração, mostrando a capacidade da técnica espectroscópica em diferenciar as amostras analisadas. A análise de acidez titulável apresentou valores de $63,30 \pm 7$ a $112,85 \pm 3$ mL de NaOH 0,1M 100 g^{-1} de amostra. Os valores médios de ácido clorogênico e ácido cítrico quantificados por HPLC foram de $0,454 \pm 0,2 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ e $0,853 \pm 0,4 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, respectivamente. Os modelos quantitativos obtidos por PLS para os atributos sensoriais acidez, aroma e sabor apresentaram valores de RMSEC de 0,141, 0,128 e 0,226 e valores de RMSEP de 0,194, 0,199 e 0,362, respectivamente. Já para o ácido clorogênico e o ácido cítrico os valores de RMSEC foram de 0,035 e 0,145 e RMSEP de 0,048 e 0,139, respectivamente. A comparação entre os modelos obtidos por PLS, para o atributo acidez e para o ácido clorogênico, mostrou o potencial em utilizar o modelo PLS de ácido clorogênico para classificação das amostras de café quanto ao atributo acidez, mostrando que este composto está diretamente relacionado a acidez percebida pelos consumidores, e que a espectroscopia NIR é capaz de diferenciar as amostras de acordo com o teor de ácidos clorogênicos.

ABSTRACT

The objective of this work was to use Near Infrared Spectroscopy (NIRS), acid analysis by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and sensorial analysis to differentiate coffee marketed in capsules of different brands, according to their acidity characteristics. The HPLC analysis was performed for the quantification of chlorogenic acid and citric acids, the sensorial analysis was carried out by the evaluation of the acidity, aroma and flavor attributes, and a titratable acidity analysis was also performed. Chemometric analyzes such as Principal Component Analysis (PCA), Partial Least Squares Regression (PLS) and Discriminant Analysis by Partial Least Squares Regression (PLS-DA) were used. The PCA analysis of the NIR spectra allowed the separation of different brands, as well as the separation by roasting intensity, showing the ability of the spectroscopic technique to differentiate the samples analyzed. The titratable acidity analysis presented values from 63.30 ± 6.99 to 112.85 ± 2.83 mL of NaOH 0,1M 100 g⁻¹ of sample. The average values of chlorogenic acid and citric acid quantified by HPLC were 0.454 ± 0.176 g100g⁻¹ and 0.853 ± 0.348 g100g⁻¹. The quantitative models obtained by PLS for the sensorial attributes of acidity, aroma and flavor presented RMSEC values of 0.141, 0.128 and 0.226 and RMSEP values of 0.194, 0.199 and 0.362, respectively. For chlorogenic acid and citric acid the RMSEC values were 0.035 and 0.145 and RMSEP of 0.048 and 0.139, respectively. The comparison between the PLS models for acidity and chlorogenic acid showed the potential to use the PLS model of chlorogenic acid to classify the coffee samples for the acidity attribute, showing that this compound is directly related to acidity perceived by consumers, and that NIR spectroscopy is able to differentiate the samples according to the chlorogenic acid content.

LISTA DE SIGLAS

5-ACQ: ácido-5-cafeoilquínico;

ABIC: Associação Brasileira de Indústria de Café;

ACG: Ácidos clorogênicos;

ADQ: Análise Descritiva Quantitativa;

ANOVA: Análise de Variância;

AOAC: Association of Official Analytical Chemistry;

CG: Cromatografia Gasosa;

CQI: Coffee Quality Institute;

CVCE: Erro de classificação;

HPLC: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;

ICO: Organização Internacional do Café;

MIR: Infravermelho Médio;

MSC: Correção Multiplicativa de Sinal;

NIR: Infravermelho próximo;

NIRS: Espectroscopia no Infravermelho Próximo;

OPS: Ordered Predictors Selection;

PC: Componente Principal;

PCA: Análise de Componentes Principais;

PLS: Mínimos Quadrados Parciais;

PLS-DA: Mínimos Quadrados Parciais – Análise Discriminante;

r_c : Coeficiente de correlação de calibração;

RMSEC: Raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de calibração;

RMSECV: Raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de validação cruzada;

RMSEP: Raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de previsão;

r_v : Coeficiente de correlação de previsão;

r_{vc} : Coeficiente de correlação de validação cruzada;

SCAA: Specialty Coffee Association of America;

SNV: Padronização Normal de Sinal;

VL: Variável Latente.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Crescimento da Produção de Café ao longo dos anos. | 23 |
| Figura 2 – Esquema de funcionamento de uma máquina de café espresso..... | 27 |
| Figura 3 – Estrutura química do ácido-5-cafeoilquínico (5-ACQ). | 31 |
| Figura 4 – Esquema de um HPLC. a) reservatório da fase móvel; b) bomba de alta pressão; c) válvula de injeção; d) coluna; e) detector e f) registrador. | 34 |
| Figura 5 – Espectro eletromagnético, com destaque para a região do infravermelho. | 36 |
| Figura 6 – Quadro indicativo dos pré-tratamentos dos dados..... | 39 |
| Figura 7 – Obtenção de espectro NIR para café no equipamento Red-Wave-NIRX-SR StellarNet ®..... | 53 |
| Figura 8 – Gráfico Biplot de PC1(90,02%)xPC2(6,50%) obtido da PCA dos dados de análise sensorial. | 59 |
| Figura 9 – Cromatograma para o padrão de ácido clorogênico. | 61 |
| Figura 10 – Curva de calibração para o padrão ácido clorogênico. | 61 |
| Figura 11 – Cromatograma de café para análise de ácido clorogênico. | 62 |
| Figura 12 – Perfil de espectro para o composto ácido clorogênico: (a) para o padrão, e (b) para a amostra de café. | 62 |
| Figura 13 – Cromatograma para o padrão de ácido cítrico. | 65 |
| Figura 14 – Curva de calibração para o padrão de ácido cítrico. | 65 |
| Figura 15 – Cromatograma de café para análise de ácido cítrico. | 66 |
| Figura 16 – Perfil de espectro para o composto ácido cítrico: (a) para o padrão, e (b) para a amostra de café. | 66 |
| Figura 17 – Gráfico Biplot de PC1 contra PC2 para relacionar o teor de ácido clorogênico e ácido cítrico com a intensidade das amostras de café (■ – Mais Intenso, ● – Menos Intenso e * - variável)..... | 68 |

| | |
|--|----|
| Figura 18 – Espectros de Infravermelho Próximo originais, das 24 amostras de café em triplicata..... | 69 |
| Figura 19 – Espectros NIR após pré-processamento MSC..... | 70 |
| Figura 20 – PCA dos dados espectrais, PC1xPC2, variância explicada 99,04%. (a) Diferentes Intensidades (▼– Menos Intenso e ■ – Mais Intenso), (b) Diferentes Marcas (▼– Espresso Blend, ● – Mitsuo Nakao e ■ – Nespresso). | 71 |
| Figura 21 – Gráfico T ² de Hotelling x Resíduos Q para o modelo de PCA..... | 73 |
| Figura 22 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para o atributo acidez. | 75 |
| Figura 23 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo pré-tratado com MSC para o atributo sensorial acidez. | 78 |
| Figura 24 – Gráfico de <i>leverage</i> contra resíduo de <i>Student</i> para o modelo pré-tratado com MSC para o atributo sensorial acidez..... | 78 |
| Figura 25 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo pré-tratado com MSC para o atributo sensorial acidez (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação). | 79 |
| Figura 26 – Gráfico dos valores previstos para o atributo acidez. Conjunto de treinamento: acidez desagradável (●), indiferente (●) e acidez agradável (●). Conjunto de teste: acidez desagradável (○), indiferente (○) e acidez agradável (○). | 80 |
| Figura 27 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para o atributo aroma. | 81 |
| Figura 28 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo sem pré-tratamento para o atributo sensorial aroma..... | 83 |
| Figura 29 – Gráfico de <i>leverage</i> contra resíduo de <i>Student</i> para o modelo sem nenhum pré-tratamento para o atributo sensorial aroma. | 83 |
| Figura 30 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo sem nenhum pré-tratamento para o atributo sensorial aroma (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação). | 84 |

| | |
|---|----|
| Figura 31 – Gráfico dos valores previstos para as classes: aroma intenso e agradável (●) e aroma pouco intenso e agradável (○); (● – conjunto de treinamento e ● – conjunto de teste)..... | 85 |
| Figura 32 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para o atributo sabor. | 86 |
| Figura 33 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo com o pré-tratamento SNV para o atributo sensorial sabor. | 88 |
| Figura 34 – Gráfico de <i>leverage</i> contra resíduo de <i>Student</i> para o modelo com o pré-tratamento SNV para o atributo sensorial sabor. | 88 |
| Figura 35 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo pré-tratado com SNV para o atributo sensorial sabor (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação). | 89 |
| Figura 36 – Gráfico dos valores previstos para o atributo sabor. Conjunto de treinamento: sabor desagradável (●), indiferente (●) e sabor agradável (●). Conjunto de teste: sabor desagradável (○), indiferente (○) e sabor agradável (○). | 90 |
| Figura 37 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para ácido clorogênico. | 91 |
| Figura 38 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo com o pré-tratamento SNV para ácido clorogênico. | 93 |
| Figura 39 – Gráfico de <i>leverage</i> contra resíduo de <i>Student</i> para o modelo com o pré-tratamento SNV para ácido clorogênico..... | 94 |
| Figura 40 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo pré-tratado com SNV para ácido clorogênico (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação)..... | 94 |
| Figura 42 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para ácido cítrico. | 95 |
| Figura 43 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo com o pré-tratamento MSC para ácido cítrico..... | 97 |

| | |
|---|----|
| Figura 44 – Gráfico de <i>leverage</i> contra resíduo de <i>Student</i> para o modelo com o pré-tratamento MSC para ácido cítrico..... | 98 |
| Figura 45 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo pré-tratado com MSC para ácido cítrico (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação)..... | 99 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Composição química do café torrado (valores expressos em % em base seca). | 25 |
| Tabela 2 – Descrição das amostras obtidas pelos fabricantes. | 45 |
| Tabela 3 – Concentração das soluções utilizadas no teste de correspondência. | 48 |
| Tabela 4 – Concentração das soluções utilizadas no teste de detecção. | 49 |
| Tabela 5 – Concentração das soluções utilizadas no teste de ranqueamento..... | 49 |
| Tabela 6 – Gradiente de eluição utilizado no método para análise de ácido clorogênico por HPLC. | 51 |
| Tabela 7 – Resultados obtidos pela análise de Acidez Titulável Total..... | 55 |
| Tabela 8 – ANOVA fator duplo para as notas sensoriais dos diferentes atributos avaliados, e consistência dos provadores para cada atributo (5% de probabilidade. | 57 |
| Tabela 9 – Média das notas obtidas na análise sensorial para cada atributo avaliado \pm desvio padrão..... | 58 |
| Tabela 10 – Média das notas obtidas na análise sensorial para cada provador \pm desvio padrão..... | 60 |
| Tabela 11 – Resultados obtidos pela análise de ácido clorogênico por HPLC. | 63 |
| Tabela 12 – Resultados obtidos pela análise de ácido cítrico por HPLC. | 67 |
| Tabela 13 – Granulometria entre as diferentes marcas de café..... | 72 |
| Tabela 14 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para o atributo sensorial acidez. | 76 |
| Tabela 15 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para o atributo sensorial acidez..... | 77 |
| Tabela 16 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para o atributo sensorial aroma..... | 81 |

| | |
|--|----|
| Tabela 17 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para o atributo sensorial aroma..... | 82 |
| Tabela 18 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para o atributo sensorial sabor..... | 86 |
| Tabela 19 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para o atributo sensorial sabor..... | 87 |
| Tabela 20 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para ácido clorogênico..... | 91 |
| Tabela 21 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para ácido clorogênico..... | 92 |
| Tabela 22 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para ácido cítrico. | 96 |
| Tabela 23 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para ácido cítrico..... | 97 |
| Tabela 24 – Comparação entre os modelos PLS criados. | 99 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 17 |
| 2. OBJETIVOS..... | 20 |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA | 21 |
| 3.1. CAFÉ | 21 |
| 3.1.1. História do café | 22 |
| 3.1.2. Qualidade do café | 24 |
| 3.1.3. Cafés em cápsula | 26 |
| 3.2. ACIDEZ NO CAFÉ | 28 |
| 3.2.1. Ácidos carboxílicos | 29 |
| 3.2.2. Ácidos clorogênicos | 30 |
| 3.3. ANÁLISES DE QUALIDADE EM CAFÉ | 32 |
| 3.3.1. Análise sensorial | 32 |
| 3.3.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)..... | 34 |
| 3.3.3. Espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS)..... | 35 |
| 3.3.4. Quimiometria | 38 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 45 |
| 4.1. AMOSTRAS | 45 |
| 4.2. ACIDEZ TITULÁVEL TOTAL | 47 |
| 4.3. ANÁLISE SENSORIAL | 48 |
| 4.4. ANÁLISE DE ÁCIDOS CLOROGÊNICOS POR HPLC | 51 |
| 4.5. ANÁLISE DE ÁCIDO CÍTRICO POR HPLC | 52 |
| 4.6. NIRS | 52 |
| 4.7. ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA | 53 |
| 4.7.1. análise de Componentes Principais - PCA | 53 |
| 4.7.2. Mínimos Quadrados Parciais - PLS | 54 |
| 4.7.3. Mínimos Quadrados Parciais - Análise Discriminante - PLS-DA | 54 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 55 |
| 5.1. ACIDEZ TITULÁVEL TOTAL | 55 |
| 5.2. ANÁLISE SENSORIAL | 56 |
| 5.3. ÁCIDO CLOROGÊNICO POR HPLC | 60 |

| | |
|---|------------|
| 5.4. ÁCIDO CÍTRICO POR HPLC | 64 |
| 5.5. NIRS – ANÁLISE EXPLORATÓRIA UTILIZANDO PCA..... | 69 |
| 5.6. MODELOS DE REGRESSÃO PARA OS ATRIBUTOS SENSORIAIS E PARA ÁCIDO CLOROGÊNICO E ÁCIDO CÍTRICO POR PLS E PLSDA..... | 73 |
| 5.6.1. Modelo PLS e PLS-DA para o atributo sensorial acidez..... | 74 |
| 5.6.2. Modelo PLS e PLS-DA para o atributo sensorial aroma | 80 |
| 5.6.3. Modelo PLS e PLS-DA para o atributo sensorial sabor | 85 |
| 5.6.4. Modelo PLS e PLS-DA para ácido clorogênico..... | 90 |
| 5.6.5. Modelo PLS e PLS-DA para ácido cítrico | 95 |
| 5.6.6. Comparação entre os modelos | 99 |
| | |
| 6. CONCLUSÃO | 101 |
| | |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 102 |
| | |
| APÊNDICE..... | 111 |
| APÊNDICE A | 111 |
| APÊNDICE B | 115 |
| APÊNDICE C | 116 |

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Internacional de Café, a produção de café no ano-safra 2016/17 teve um aumento de 3,4% em relação ao ano anterior, chegando a 157,44 milhões de sacas. O Brasil produziu 55 milhões de sacas de café no ano-safra 2016/17, sendo 20,5 milhões destinados ao consumo interno e o restante exportado para outros países (ICO, 2017). Dessa forma, tem surgido novas tecnologias e estudos buscando melhorar a qualidade do produto tanto durante o cultivo quanto no processamento.

Uma mudança no consumo de café vem acontecendo ao longo dos anos, e um dos motivos da mudança foi o modo de preparo da bebida. No momento da escolha, o consumidor é motivado pela facilidade, pelo tempo envolvido, e principalmente, pelos diferentes sabores gerados por diferentes modos de preparo (MORRIS, 2013). O café espresso, cujo método consiste na percolação de uma pequena quantidade de água quente, a alta pressão, durante um breve período de tempo, através de café torrado e moído, oferece características organolépticas que o diferencia de cafés preparados por outros métodos, e por isso a preferência por essa bebida tem aumentado (LOPES, FERREIRA, *et al.*, 2016). As cápsulas de café, caracterizadas pelo preparo em doses únicas (monodoses) de café, tem tido um crescimento acentuado no consumo. Segundo a Associação Brasileira de Indústria de Café (2016), os consumidores declararam o desejo por praticidade, qualidade e diversidade no café, e estes consumidores estão sendo capturados pela praticidade das cápsulas especialmente no consumo dentro do lar.

O café possui uma complexa composição química, a qual leva ao sabor e aroma único apreciado por muitos consumidores. Análises de qualidade de café, usualmente, são realizadas por meio de avaliações físicas e sensoriais, sendo a sensorial a mais conhecida, onde o café é avaliado segundo o sabor e o aroma apresentado na prova de xícara, com provadores treinados. Porém, estes métodos exigem conhecimento, prática, paladar apurado e boa memória para obter uma avaliação rigorosa, além do custo e tempo requerido. Assim, novas metodologias de análises mais rápidas e vêm sendo desenvolvidas, entre elas encontra-se a

espectroscopia no infravermelho médio e próximo (AGNOLETTI, 2015; MENDES, 2005; TOLESSA, RADEMAKER, *et al.*, 2016).

Os métodos à base de espectroscopia no infravermelho próximo têm sido utilizados com sucesso na indústria de alimentos, para detecção de substâncias que afetam a qualidade dos alimentos e para detecção de adulteração (OLIVEIRA e FRANCA, 2011). A utilização de espectroscopia no infravermelho próximo acoplada a quimiometria tem sido relatada como uma forma de avaliar a qualidade de café. Santos *et al.* (2016) utilizaram NIRS para monitorar o processo de torrefação do café através da concentração de sacarose e parâmetros de cor. Marquetti *et al.* (2016) utilizaram PLS-DA e NIRS para avaliar a origem geográfica e genotípica de café arábica, fator que influencia diretamente na qualidade do café. Estudos utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo também são citados por Franca e Oliveira (2017).

A análise quimiométrica e a espectroscopia no infravermelho próximo podem ser utilizadas para prever as notas fornecidas por provadores em análise sensorial, como, por exemplo, a acidez, amargor, corpo, e qualidade global do café. De acordo com o estudo de Ribeiro *et al.* (2011), a análise por infravermelho demonstrou que há relação entre as características sensoriais e a composição química do grão torrado, sendo que os lipídeos e proteínas são relacionados com o atributo corpo, cafeína e ácidos clorogênicos com amargor e acidez.

A acidez e aroma são dois atributos importantes relacionados à qualidade da bebida do café, sendo a acidez consequência do modo de cultivo, da variedade do café, das condições de solo e também das condições de processamento, grau e tipo de torração e como foi feito o preparo da bebida. A acidez percebida sensorialmente depende do grau de torração do grão e da quantidade final de ácidos presentes. Os ácidos carboxílicos e clorogênicos são os mais comumente encontrados no café e podem estar relacionados com as características organolépticas (SANTOS, 2016). Os ácidos carboxílicos estão presentes em menor quantidade que os ácidos clorogênicos no café verde, sendo os principais encontrados os: cítrico, málico, oxálico e tartárico. Em relação ao atributo acidez, estes ácidos contribuem individualmente para a percepção sensorial, e geralmente é desejável uma acidez prazerosa (MENDES, 2005).

O teor de acidez do café sofre alterações durante o processo de torração, sendo que tanto o teor de ácidos clorogênicos, quanto o de ácidos carboxílicos diminuem, segundo Agnoletti (2015). Os ácidos clorogênicos são degradados formando ácido caféico e quínico, e por isso diminuem no café torrado, sendo que quanto menos torrado for o café maior será a acidez. Os ácidos alifáticos não sofrem tanta alteração quanto os ácidos clorogênicos durante a torração, e um aumento da acidez titulável total após a torração do grão de café pode estar associado à formação de ácidos, principalmente a partir de carboidratos que são reduzidos a ácidos carboxílicos e CO₂ (AGNOLETTI, 2015). De acordo com Martinez *et al.* (2013), a acidez resultante de alguns ácidos carboxílicos, como ácido cítrico e málico, é desejável à qualidade da bebida do café.

Santos *et al.* (2016) utilizaram a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) para monitorar a acidez durante a torração de grãos de café, e obtiveram resultados com boa precisão comparados a análise de acidez titulável total. O modelo derivado dos dados espectrais fortalece e complementa a análise sensorial.

Métodos de quantificação de ácidos carboxílicos em café ainda não foram bem esclarecidos. Segundo Jham *et al.* (2002), a utilização da cromatografia líquida de alta eficiência é usualmente utilizada para quantificação de ácidos clorogênicos. Em seus estudos ele compara a utilização da HPLC com a cromatografia gasosa (CG) para quantificar ácidos carboxílicos em café, e conclui que a cromatografia líquida é mais eficiente.

Assim, observa-se que o perfil de acidez no café influencia diretamente na qualidade sensorial da bebida, e pode ser uma maneira de diferenciar cafés de diferentes características sensoriais de qualidade. Dessa forma, a presente proposta objetiva na utilização de NIRS para avaliar as diferenças no atributo “acidez” de cafés espresso em cápsulas, relacionando com resultados de análise cromatográfica e sensorial por meio de quimiometria.

2. OBJETIVOS

Utilizar Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIRS), análise de ácidos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e análise sensorial para diferenciar cafés espresso comercializados em cápsulas de diferentes marcas, por suas características de acidez, por meio da quimiometria.

- Verificar o potencial da Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIRS) para discriminar cafés com diferentes níveis de acidez;
- Realizar a análise sensorial dos cafés a partir de provadores previamente treinados para avaliar a acidez e sua influência na qualidade do café;
- Analisar a acidez titulável total do café, e comparar os resultados obtidos por HPLC e NIRS.
- Quantificar ácido cítrico e ácido clorogênico por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), e comparar os resultados com a qualidade dada pela análise sensorial da bebida;
- Utilizar análises quimiométricas para explorar, quantificar e classificar os resultados obtidos pela análise sensorial, análises cromatográficas e análises por Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIRS).

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. CAFÉ

O café é um produto largamente consumido no mundo inteiro e, portanto, é de grande importância para a economia de diversos países. Com o avanço da tecnologia, a cada dia, surgem novas técnicas de processamento do café, tanto no processamento do grão, até estar pronto para consumo, como no preparo para o consumidor final. O cafeeiro é uma planta dicotiledônea, perene, com caule lenhoso, folhas persistentes, flores hermafroditas e de porte arbustivo (LOPES e PEREIRA, 2000). Pertence ao gênero *Coffea* e possui duas espécies de maior importância para o comércio no mundo, a *Coffea arabica* e a *Coffea canephora*, conhecidas como café arábica e café robusta, respectivamente, sendo que o café arábica se destaca por possuir atributos de qualidade superiores e, portanto, é mais valorizado no mercado (PEREIRA e SOUZA, 2008). Conforme mencionado pelo autor há uma diferença de qualidade entre as duas espécies de cafés, mas, não menos importante que essa consideração, entretanto, é que as duas possuem características interessantes e de valor para o mercado. Espera-se, portanto, que ocorra a produção, em maior parte, das duas espécies em destaque e que elas sejam facilmente encontradas.

De acordo com a Organização Internacional de Café, a produção de café no ano-safra 2016/17 teve um aumento de 3,4% em relação ao ano anterior, chegando a 157,44 milhões de sacas. O Brasil produziu 55 milhões de sacas de café no ano-safra 2016/17, sendo 20,5 milhões destinados ao consumo interno e o restante exportado para outros países (ICO, 2017).

Como bem nos assegura ICO (2017), pode-se dizer que o Brasil é o maior produtor de café no mundo, e também um dos maiores consumidores do produto. Neste contexto, fica claro que é preciso pesquisar novas formas de melhoria, tanto da produção como dos processos. O mais preocupante, contudo, é constatar que mesmo o Brasil sendo um dos maiores consumidores de café, a maior parte do café bom (arábica, sem defeitos, de boa qualidade) é exportado devido ao seu valor comercial.

A qualidade dos grãos, mesmo entre as espécies é bastante diversificada. Portanto, é necessário realizar uma classificação do produto, definindo assim os valores comerciais no mercado interno e externo. A classificação vai sofrer mudanças de acordo com o país exportador, mas deve ser considerada a aparência e a presença de defeitos no grão, e também as características sensoriais da bebida (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009). A melhor maneira de compreender esse processo é considerar que cada país se encontra em um diferente nível de desenvolvimento e, portanto, possuem diferentes formas de analisar a qualidade do produto. Mas a falta de padronização na classificação dos cafés dificulta a comercialização, e causa a valorização incorreta de cada café, podendo um café bom ser vendido com preço abaixo do correto.

3.1.1. História do café

O consumo do café surgiu há muitos anos atrás, mas até se tornar a bebida conhecida nos dias hoje, muita história se passou. Em 575, na Etiópia, um pastor de cabras chamado Kaldi observou que as folhas e frutos de certo arbusto gerava um efeito excitante em seu rebanho, e os animais ficavam mais ágeis, subiam as montanhas mais rápido, e tinham mais resistência. O pastor experimentou os frutos, e observou as mesmas características, e assim, a notícia se espalhou pela região, dando início ao consumo do café através dos frutos e folhas, e a história ficou conhecida como Lenda de Kaldi. O pé de café teve sua origem geográfica no nordeste da África, no interior da Etiópia, e no início o consumo era através da maceração dos frutos, mastigação das folhas, e do preparo de chá através da infusão das folhas. Apesar da origem africana, os primeiros a dominarem as técnicas de plantio foram os árabes, onde a bebida preparada dos frutos recebeu o nome de *cahue*, palavra árabe cujo significado é "força" (MARTINS, 2012).

O processo de torrefação dos grãos só surgiu no século XIV, quando também surgiu a bebida "café" como é conhecida hoje, apesar de ser consumida apenas para fins medicinais. A partir de 1450, estabeleceu-se o hábito de tomar café, não mais como remédio, mas como uma bebida prazerosa, tanto no ambiente doméstico como em reuniões sociais. O café chegou à Europa, em Veneza no ano de 1615, através

do mercado de especiarias, e ficou conhecida como "Licor do Oriente" (MARTINS, 2012).

Segundo Diby *et al.* (2017), “todas as espécies comerciais de café originaram na África e pertencem ao gênero *Coffea*”. O café Arábica teve origem na região das florestas tropicais da Etiópia, enquanto o café Robusta cresce em altitudes mais baixas e em trópicos equatoriais, quentes e úmidos, originando-se assim, do oeste do Congo. O café pertence à família *Rubiaceae*, a qual compreende cerca de 500 gêneros e mais de 6000 espécies.

No ano-safra de 1990/91, a produção total de café atingiu cerca de 93 milhões de sacas, e em 2016/17, este valor foi de 153 milhões, mostrando o crescimento da produção e também do consumo da bebida ao longo dos anos. Na figura 1, é possível observar o crescimento da produção de café, tanto para a produção mundial, quanto para a produção do Brasil, de acordo com a Organização Internacional do Café (2017).

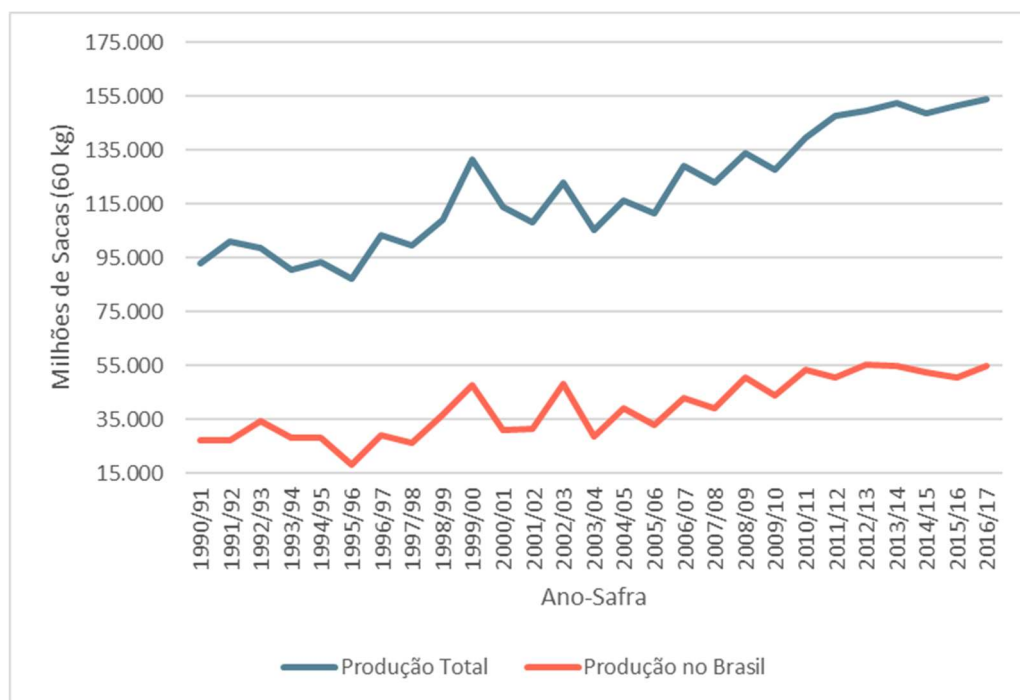


Figura 1 – Crescimento da Produção de Café ao longo dos anos.

Fonte: (ICO, 2017)

A qualidade atribuída ao café ao longo do tempo tornou este produto competitivo, e alguns países como a Colômbia implantaram mudanças no cultivo,

garantindo um produto final homogêneo e de qualidade superior. Assim, desde a década de 80, o Brasil vem implementando, através de investimentos, melhorias na produtividade e selos de garantia da qualidade dos cafés, para não perder lugar no mercado (AGNOLETTI, SARAIVA, *et al.*, 2015).

3.1.2. Qualidade do café

A qualidade do café é um assunto de grande importância para o comércio e tem se tornado cada vez mais relevante na escolha do consumidor, que adquirindo conhecimento fica sempre mais exigente. A escolha do consumidor é baseada na percepção sensorial de aroma e sabor, e estes são influenciados durante todo o processamento do café, desde o plantio até a moagem e armazenamento. As propriedades físicas, químicas e físico-químicas e os constituintes presentes no café influenciam diretamente na qualidade, e são responsáveis pelas características do grão torrado, assim como do aroma e sabor da bebida final, dentre estes constituintes estão compostos voláteis, fenólicos, ácidos graxos, proteínas e enzimas que fornecem *flavor* e aroma únicos. Outro fator que tem influência na qualidade do café é a espécie cultivada, sendo os mais comuns o café arábica e o robusta (PEREIRA, CHALFOUN, *et al.*, 2010).

As características de sabor e aroma presentes no produto final são provenientes, portanto, de transformações de compostos ocorridas durante a torração dos grãos. O grão cru de café possui compostos voláteis e não voláteis como: ácidos, aldeídos, aminoácidos, cafeína, carboidratos, cetonas, compostos fenólicos, lipídios, proteínas, trigonelina, entre outros (CLARKE, 1985). Na tabela 1, podem ser observados os teores de alguns componentes químicos presentes no café torrado arábica e robusta.

Tabela 1 – Composição química do café torrado (valores expressos em % em base seca).

| | Café Arábica | Café Robusta |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| Lipídios | 14,5 – 20,0 | 11,0 – 16,0 |
| Proteínas | 13,0 – 15,0 | 13,0 – 15,0 |
| Minerais | 3,5 – 4,5 | 4,6 – 5,0 |
| Ácidos Clorogênicos | 1,2 – 2,3 | 3,9 – 4,6 |
| Ácidos Alifáticos | 1,0 – 1,5 | 1,0 – 1,5 |
| Cafeína | 1,0 | 2,0 |
| Trigonelina | 0,5 – 1,0 | 0,3 – 0,6 |

FONTE: SMITH (1985).

Conforme mencionado pelo autor, pode-se dizer que as transformações que ocorrem no café são devidas ao processo de torração. Neste contexto, também fica claro que há diferenças entre as duas espécies de café mais comuns, Arábica e Robusta, sendo que as diferenças maiores estão nos teores de lipídios, minerais, ácidos clorogênicos e cafeína. As duas espécies possuem diferenças não só nas características do produto final, mas também no número de cromossomos, no tempo de florada e na formação do fruto. Com o objetivo de aproveitar o potencial sensorial de cada espécie de café, normalmente, é feito o *blend* entre os dois cafés, de forma a enriquecer sensorialmente os sabores e aromas do produto final (AGNOLETTI, SARAIVA, *et al.*, 2015). O café robusta é conhecido por ser mais amargo e fornecer bebidas mais encorpadas, enquanto o café arábica proporciona sabor mais frutado e ácido (FILHO, LUCIA, *et al.*, 2015).

Segundo Pimenta (2002), para obtenção de cafés de qualidade superior também é necessário a aplicação de técnicas adequadas de colheita e preparo dos grãos. A escolha da época e forma de colheita adequada favorece a obtenção de um café com boa composição química, e menores modificações de reduzem a qualidade do produto. Todos estes fatores para obtenção de um café de qualidade facilitam a comercialização e maior retorno econômico. Como bem asseguram os autores acima, pode-se dizer que diversos fatores influenciam na qualidade do café. Neste contexto, fica claro que é preciso controlar de forma correta toda a produção do café, desde o plantio até a torração e moagem do produto final. O mais preocupante,

contudo, é constatar que nem todos os produtores de café têm os cuidados necessários e acabam perdendo, tanto na parte financeira, quanto na preferência dos consumidores. Durante o crescimento dos frutos de café, a maior concentração de compostos químicos ocorre na semente, e começam a migrar para as camadas superficiais na fase de maturação. O café deve ser colhido nessa fase, no ponto ótimo (cereja), para conferir maior qualidade à bebida (MARETTO e STURION, 2016).

O café pode ser classificado de diversas formas em diferentes países. No Brasil, o café arábica é classificado de acordo com a Instrução Normativa nº 08, de 11 de junho de 2003, em função da qualidade da bebida, sendo denominadas, da pior para a melhor, como rio zona, rio, riada, dura, apenas mole, mole e estritamente mole. Já o café robusta, também pela mesma legislação, é classificada, da pior para a melhor, de acordo com sua qualidade, como anormal, regular, boa e excelente (BRASIL, 2003). Apesar da legislação vigente, outras formas de classificar vêm sendo adotadas por degustadores de cafés e institutos como o *Coffe Quality Institute* (CQI) e *Specialty Coffee Association of America* (SCAA), buscando sempre a melhoria da bebida final (AGNOLETTI, SARAIVA, *et al.*, 2015).

3.1.3. Cafés em cápsula

O consumo de café foi se modificando ao longo dos anos, e um dos motivos da mudança foram os modos de preparo da bebida que surgiram. No momento da escolha, o consumidor é motivado pela facilidade, pelo tempo envolvido, e principalmente, pelos diferentes sabores gerados por diferentes modos de preparo (MORRIS, 2013).

O café espresso, cujo método consiste na percolação de uma pequena quantidade de água quente, a alta pressão, durante um breve período de tempo, através de café torrado e moído, oferece características organolépticas que o diferencia de cafés preparados por outros métodos, e por isso a preferência por essa bebida tem aumentado (LOPES, FERREIRA, *et al.*, 2016). Uma das maneiras de preparar o café espresso, que surgiu recentemente, são as máquinas de espresso que utilizam cápsulas de café para o preparo.

As cápsulas de café, caracterizadas pelo preparo em doses únicas (monodoses), tem tido um crescimento acentuado no consumo. Segundo a Associação Brasileira de Indústria de Café (ABIC), os consumidores declararam o desejo por praticidade, qualidade e diversidade no café, e estes consumidores estão sendo capturados pela praticidade das cápsulas especialmente no consumo dentro do lar. O uso do café em cápsula permite ao consumidor ter a certeza de que terá sempre o mesmo café espresso, com mesmo sabor, intensidade, corpo e outras características, tendo poucas modificações, ao contrário do que acontece no preparo comum do espresso.

A forma como o café é acondicionado nas cápsulas permite uma maior vida útil, pois não é necessário abrir todo o café para separação da dose desejada, a própria cápsula já é feita com a dose correta a ser utilizada. Além disso, o tempo de contato com a água, a temperatura, a pressão e o volume são controlados pela própria máquina, evitando a intervenção do consumidor (WANG , WILLIAM, *et al.*, 2016). Na figura 2, é possível entender com mais clareza o funcionamento de uma máquina de café espresso em cápsulas.

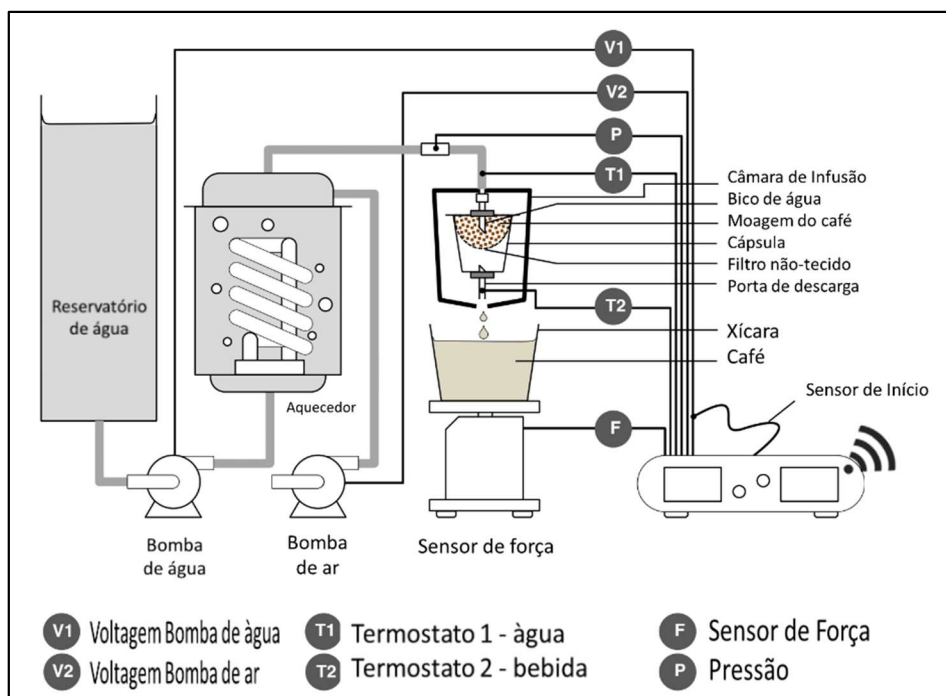


Figura 2 – Esquema de funcionamento de uma máquina de café espresso.

FONTE: Adaptado de (WANG , WILLIAM, *et al.*, 2016).

Primeiro, o fundo da cápsula é perfurado em três locais por onde passará a água, enquanto o selo da cápsula também é perfurado de forma a criar um filtro que impeça a passagem do pó. Em seguida, um volume específico de água quente é injetado, forçando a infusão do café e consequente saída da bebida, que é recolhida na xícara (WANG , WILLIAM, *et al.*, 2016).

3.2. ACIDEZ NO CAFÉ

A acidez presente no café, quando percebida, é um atributo importante para a qualidade sensorial da bebida, e sua intensidade é variável em função do local de origem, colheita, processamento, grau de maturação, secagem, condições climáticas, e outros fatores (SIQUEIRA e ABREU, 2006). A acidez pode ser correlacionada com os valores de pH, sendo esta uma das formas de avaliar o atributo sensorial. Porém, alguns pesquisadores destacam que a melhor correlação pode ser obtida pela acidez total (PEISINO, PEREIRA, *et al.*, 2015).

A fermentação dos grãos de café leva a produção de álcoois e ácidos, através de rotas bioquímicas variadas. A fração ácida do café possui ácidos não voláteis, como oxálico, málico, cítrico, tartárico e pirúvico, e ácidos voláteis, como acético, propiônico, valérico e butírico. Entre estes ácidos, de acordo com a concentração presente, pode conferir odor e sabor agradáveis ou desagradáveis à bebida (COELHO e PEREIRA, 2002). É interessante distinguir os ácidos voláteis dos não voláteis no café, pois os ácidos orgânicos são quimicamente estáveis, enquanto os aldeídos e ácidos clorogênicos podem ser oxidados durante a torração, sofrendo mudanças e produzindo outros compostos, como por exemplo, ácido caféico e quínico (LOPES e PEREIRA, 2000).

O ponto de torra dos grãos de café pode ser indicado pelo conteúdo final de ácidos presentes. O aumento da acidez com a torração é relacionado com a formação de ácidos, porém, quando a torração é mais drástica, o café pode apresentar menor acidez devido a destruição de ácidos clorogênicos que se encontram ligados a matriz do grão (TEIXEIRA, PASSOS e MENDES, 2016). O aumento da acidez também tem sido associado com a fermentação de café durante o processo de secagem, com

uma relação inversa com a qualidade, quanto maior a acidez pior a qualidade do café (FRANCA, MENDONÇA e OLIVEIRA, 2005; MARTINEZ, POLTRONIER, *et al.*, 2013). A acidez dos grãos de café e sua influência na qualidade também é citada por Filho *et al.* (2015). Segundo o autor, a intensidade da acidez está relacionada com fatores como níveis de fermentação, condições climáticas durante a colheita e secagem, estádios de maturação, local de origem e forma de preparo.

A acidez percebida sensorialmente depende da quantidade final de ácidos presentes, e estes estão relacionados principalmente com o grau de torração. Embora ainda não seja claro quais os compostos são responsáveis pela acidez percebida, sabe-se que os ácidos cítrico, málico, acético, quínico e clorogênicos são os ácidos em maior quantidade no grão de café, e podem ser responsáveis pela acidez sensorial (SANTOS, LOPO, *et al.*, 2016).

3.2.1. Ácidos carboxílicos

De acordo com Martinez *et al.* (2013), a acidez resultante de alguns ácidos carboxílicos, como ácido cítrico e málico, é desejável à qualidade da bebida do café. Os ácidos carboxílicos estão presentes em menor quantidade que os ácidos clorogênicos, no café verde, sendo os principais encontrados os: cítrico, málico, oxálico e tartárico. Em relação ao atributo acidez, estes ácidos contribuem individualmente para a percepção sensorial, e geralmente é desejável uma acidez prazerosa. A acidez também é influenciada pelo grau de torração, e uma maior concentração de ácidos carboxílicos no café torrado é observada em uma torração com perda de peso entre 14 e 16% (MENDES e MENEZES, 2005).

Segundo Peisino *et al.* (2015), a variação da acidez total titulável de grãos de café pode ocorrer devido aos níveis de fermentações sofridas pelos grãos e também pelos diferentes estádios de maturação, e esta análise pode ser realizada de forma a auxiliar a determinação da qualidade da bebida. Um aumento da acidez titulável total é observado após a torração dos grãos de café, indicando a formação de ácidos, principalmente a partir de carboidratos que são reduzidos a ácidos carboxílicos e dióxido de carbono (LOPES e PEREIRA, 2000).

Agnoletti *et al.* (2015), em seus estudos, verificaram que a acidez titulável total é maior no café torrado que no café cru, além da acidez ser maior em café arábica que em café conilon, observando maior acidez em bebidas de melhor qualidade. Ele relaciona seus resultados a concentrações mais elevadas de ácido cítrico e málico, o que explicaria a valorização e reconhecimento do café arábica.

Filho *et al.* (2015), em seus estudos, onde avaliou algumas propriedades físico-químicas em *blends* de café arábica com café conilon, observou que a acidez titulável total diminuía à medida que aumentava a concentração de café conilon, e atribuiu a isto o fato de o café conilon ser menos ácido que o café arábica. Estudos destacam que a acidez desejável da bebida é devido aos ácidos málico e cítrico, enquanto que uma acidez imprópria ou indesejável pode ser proveniente da fermentação excessiva dos frutos (PEREIRA e SOUZA, 2008).

3.2.2. Ácidos clorogênicos

Os compostos fenólicos constituem um grande número de compostos que possuem um papel defensivo na proteção e adaptação da planta no meio ambiente, e são a principal fonte de antioxidantes. Os ácidos clorogênicos (ACGs) estão presentes em grande quantidade no café, sendo o isômero mais representativo o ácido-5-cafeoilquínico (5-ACQ), para o qual é empregado o termo "clorogênico", e sua estrutura pode ser observada na figura 3 (ZANIN, CORSO, *et al.*, 2016). Os ácidos clorogênicos, como compostos fenólicos, possuem um papel importante para a saúde humana, e contribuem para a qualidade sensorial de atributos como a acidez e a amargor (SHAN, SUZUKI, *et al.*, 2014).

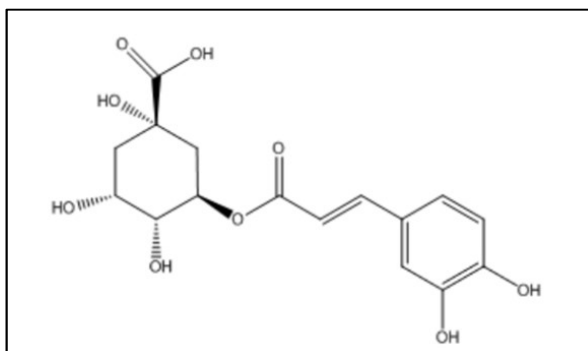


Figura 3 – Estrutura química do ácido-5-cafeoilquínico (5-ACQ).

FONTE: (AGNOLETTI, SARAIVA, *et al.*, 2015).

Os ácidos clorogênicos são formados, principalmente, pela esterificação do ácido quínico com ácidos caféico, ferúlico e p-cumárico, formando grupos de ismômeros com base no número e identidade dos resíduos de acilação: ácidos cafeoilquínicos, dicafeoilquínicos, feruloilquínicos, p-cumaroilquínicos, e cafeoilferuloilquínicos (CLIFFORD, 1985).

Durante a torração pode ocorrer a perda de ácidos clorogênicos, devido a degradação térmica, sendo estes parcialmente hidrolisados, isomerizados ou degradados a compostos de baixo peso molecular que contribuem para o sabor e aroma, acidez final e adstringência da bebida, como ácidos, lactonas e outros derivados fenólicos (AGNOLETTI, SARAIVA, *et al.*, 2015; TEIXEIRA, PASSOS e MENDES, 2016).

A presença de compostos fenólicos afeta diretamente as características organolépticas da bebida, como mudança de cor, sabor e aroma durante o processo de torração, sendo que um alto conteúdo de ACG tem sido associado com a redução da qualidade sensorial do café (ZANIN, CORSO, *et al.*, 2016). Segundo Farah *et al.* (2006), altos níveis de ácidos cafeoilquínicos, principalmente 5-ACQ, e seus produtos de oxidação estão relacionados com uma má qualidade da bebida e *flavor* desagradável. Porém Zanin (2016), em seus estudos, concluiu que é possível obter café com boa qualidade sensorial e alto conteúdo de ACG.

3.3. ANÁLISES DE QUALIDADE EM CAFÉ

3.3.1. Análise sensorial

Os compostos presentes no grão de café responsáveis pelo aroma e sabor da bebida, devido a sua complexidade, ainda não foram completamente identificados. Além da imensa quantidade de compostos, também é preciso compreender os efeitos causados pela mistura entre eles. Dessa forma, a determinação da qualidade do café ainda é dada pela análise sensorial (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009).

Saber a opinião dos consumidores e como eles percebem um produto é importante no desenvolvimento de novos produtos e também na manutenção de sua qualidade. A análise sensorial busca explicar as preferências dos consumidores através das características sensoriais dos produtos, utilizando técnicas específicas (MASSON, DELARUE, *et al.*, 2016).

Segundo Ribeiro (2009), a análise sensorial mais comum utilizada para determinar a qualidade do café, é conhecida como "prova de xícara", porém este método tem algumas críticas, principalmente pela falta de padronização da metodologia, onde são empregadas condições de torra e de preparo da bebida muito diferentes das utilizadas pelos consumidores. Assim, a "prova de xícara" tem sido utilizada para a determinação de *blends* e para exportação, e as análises sensoriais utilizando painéis treinados estão sendo utilizadas no mercado interno brasileiro.

Para obtenção do perfil sensorial da bebida do café, preparada dentro dos padrões de consumo, são empregadas técnicas sensoriais descritivas e também quantitativas como a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), Perfil de Sabor, e Perfil Livre, utilizando painéis treinados. A análise realizada dentro dos padrões de consumo por painéis treinados, com resultados tratados por metodologias estatísticas corretas, pode ser uma ótima ferramenta para as indústrias de café (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009; MENDES e MENEZES, 2005).

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) foi desenvolvida por STONE *et al.* (1974) e é a metodologia mais utilizada para traçar o perfil sensorial quanto aos atributos de aparência, odor, textura e sabor. Para a avaliação de cafés, tem sido

adotado métodos como a ADQ onde os provadores conferem notas a cada atributo especificado (MARETTO e STURION, 2016).

As etapas contidas na ADQ consistem em pré-seleção dos provadores, desenvolvimento da terminologia descritiva, treinamento e seleção dos provadores, avaliação sensorial e análise dos resultados. Os provadores participantes devem ser capazes de descrever os diferentes estímulos sensoriais, ter capacidade discriminativa para perceber diferenças mínimas de intensidade, e capacidade quantitativa, sendo capazes de utilizar a escala determinada em toda sua amplitude, com pequena dispersão entre as repetições (STONE e SIDEL, 1993).

Os provadores, depois de selecionados, são treinados para perceber e reconhecer características sensoriais individuais de um produto e o grau de sua intensidade (SILVA e SPOTO, 2013). Os atributos a serem avaliados são levantados de acordo com a necessidade da análise, podendo-se destacar os atributos de aroma, acidez e sabor. O aroma é a percepção olfativa causada pelos voláteis liberados da bebida do café ainda quente, conforme são inalados pelo nariz e por via retronasal durante a degustação. A acidez é a percepção causada por compostos como ácido clorogênico, cítrico, málico, tartárico e acético que produzem sabor ácido. O sabor é a sensação causada pelo conjunto da bebida do café quando introduzida na boca (MARETTO e STURION, 2016). Segundo Stone e Sidel (STONE e SIDEL, 1993), as vantagens da ADQ sobre os outros métodos é a confiança no julgamento de uma equipe pequena, de 10 a 12 provadores treinados, o desenvolvimento de uma linguagem objetiva e clara, mais próxima da linguagem do consumidor, e o uso de repetições e análise estatística dos resultados.

3.3.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A cromatografia é um método físico-químico de separação onde os compostos da amostra, que serão separados, são particionados entre duas fases, uma fase estacionária e uma fase móvel. A fase estacionária é uma fase fixa e de grande área superficial, e a fase móvel é composta por um fluido que percola através da fase estacionária. Quando o fluido da fase móvel é um líquido, tem se então a cromatografia líquida (CIOLA, 1998; RAMOS e MENDES, 2014).

O primeiro pesquisador a apresentar estudos sobre esta técnica foi Michael S. Tswett no século XX, quando também foi denominada cromatografia. Ele utilizou a cromatografia para seus estudos com pigmentos vegetais, principalmente a clorofila, pois estava convencido de que era uma mistura de substâncias. Assim, aplicou o fenômeno de adsorção e deu início a utilização da técnica (CIOLA, 1998). Na figura 4, é possível observar o esquema de funcionamento da cromatografia líquida de alta eficiência.

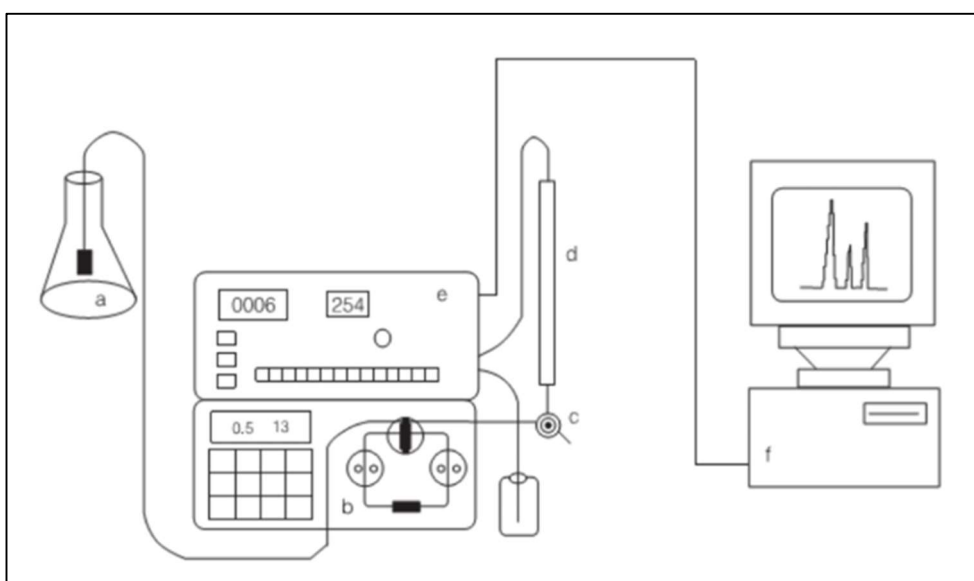


Figura 4 – Esquema de um HPLC. a) reservatório da fase móvel; b) bomba de alta pressão; c) válvula de injeção; d) coluna; e) detector e f) registrador.

FONTE: (MARQUES e BERTAZZOLI, 2014).

A separação dos compostos na cromatografia ocorre devido à migração diferencial dos componentes da mistura, como consequência de diferentes interações do analito com a fase móvel e com a fase estacionária. Dessa forma, os analitos que

apresentam maior interação com a fase estacionária irão permanecer menos tempo na fase móvel e se deslocarão mais lentamente através da fase estacionária. A fase estacionária se encontra acondicionada dentro de uma coluna, e através desta a fase móvel, ou eluente, irá fluir continuamente (RAMOS e MENDES, 2014).

De acordo com Ramos (2014), para determinar a separação dos compostos, são utilizados diferentes sistemas de detecção. A primeira forma utilizada para detecção foi o próprio olho humano, e mais tarde, foram utilizadas técnicas clássicas de química analítica em frações coletadas da cromatografia, para detecção da separação. Hoje, existem diferentes detectores e estes são acoplados diretamente ao sistema cromatográfico, gerando um sinal analítico em tempo real.

O detector mais utilizado se baseia na absorção da radiação ultravioleta ou visível, onde a amostra absorve uma parte da luz ao passar através da radiação eletromagnética na faixa do UV-Vis. As interações entre fótons e elétrons que participam da formação das ligações, faz com que ocorra a absorção de luz por moléculas orgânicas na região de comprimento de onda de 180 a 780 nm (SKOOG, WEST e HOLLER, 1988).

3.3.3. Espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS)

A espectroscopia estuda a interação da matéria com a radiação eletromagnética. Um ou mais processos como reflexão, espalhamento, fluorescência, reação fotoquímica e absorção, podem ocorrer dependendo da energia de radiação incidente. Na espectroscopia na região do infravermelho ocorrem absorções devido a mudanças de estados rotacionais e vibracionais das moléculas. A região do infravermelho pode ser dividida em três sub-regiões distintas: o infravermelho distante, o infravermelho próximo (NIR) e o infravermelho médio (MIR), as quais se encontram entre as regiões do visível e das micro-ondas, conforme pode ser observado na figura 5 (SILVERSTEIN e WEBSTER, 1998; SANTOS e MELO, 2005).

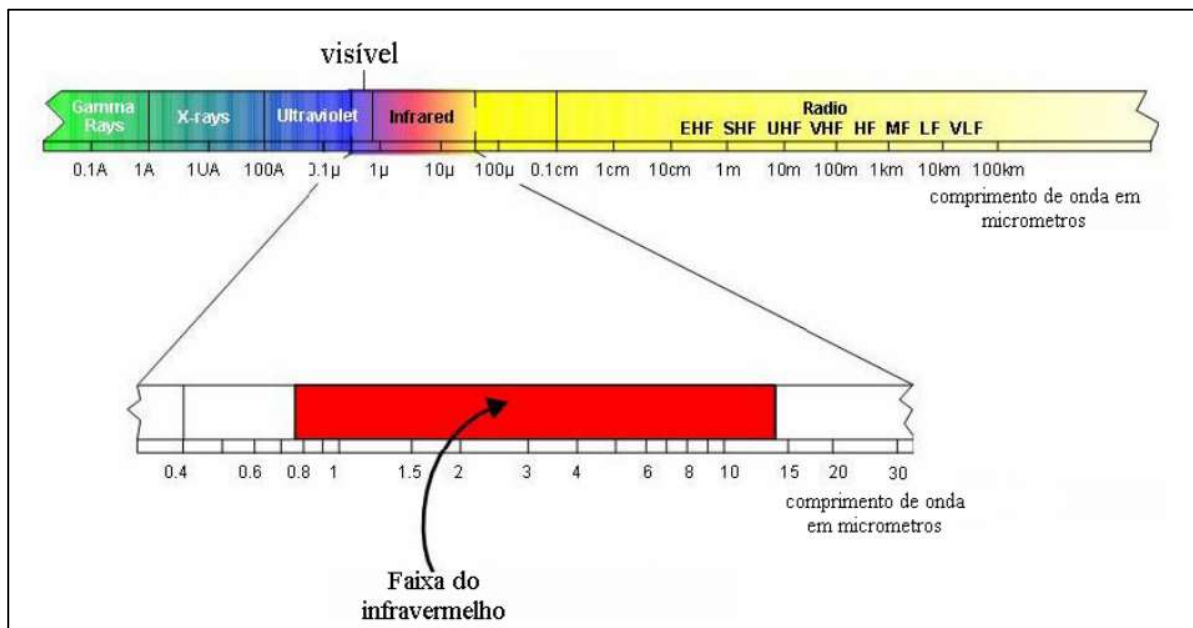


Figura 5 – Espectro eletromagnético, com destaque para a região do infravermelho.

FONTES: (ÁLVARES, RESENDE e SILVINO, 2008).

Para que uma molécula absorva radiação infravermelha, ela precisa sofrer uma variação no momento dipolo, com conseqüente variação no movimento vibracional ou rotacional. O momento dipolo é determinado pela magnitude da diferença de carga e a distância entre os dois centros de carga (SKOOG, HOLLER e NEIMAM, 2009).

A região do infravermelho próximo contém quase que exclusivamente absorção de vibrações relacionadas à sobretons e combinações. Estas vibrações fazem com que ocorra a sobreposição de bandas diminuindo assim a especificidade do NIR, motivo pelo qual esta não tem sido utilizada com propósito de interpretação de espectros, mas somente em conjunto com ferramentas quimiométricas (BURNS e CIURCZAK, 2007).

O intervalo de comprimento de onda coberto pela espectroscopia NIR é adjacente ao MIR e se estende até a região visível, de 2500 a 800 nm (4000 a 12500 cm^{-1}). As vibrações de sobretons e combinações possuem probabilidades de transição mais baixas, e por isso as intensidades geralmente diminuem a cada passo do nível fundamental da ligação para o próximo sobreton. Conseqüentemente, as

intensidades das bandas de absorção diminuem sucessivamente na direção do MIR para a região visível (SIESLER, 2007).

As bandas vibracionais de absorção de compostos orgânicos geradas por sobretons ocorrem na região de 800 a 2000 nm, e as bandas de combinação ocorrem na região de 1800 a 2500 nm, envolvendo estiramentos e deformações angulares, referentes às ligações C=O (1900-2000 nm), C-H (1100-1225 nm, 1300-1420 nm, 1620-1800 nm, 2200-2460 nm), C-O, N-H (1400-1600 nm, 2000-2200 nm), e O-H (1400-1600 nm, 1900-2000 nm, 2000-2200 nm) (WORKMAN e WEYER, 2008; RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009). As vibrações de estiramentos envolvem uma variação contínua na distância interatômica ao longo do eixo de ligação entre dois átomos, enquanto as deformações se caracterizam por variações no ângulo entre duas ligações, podendo ser de balanço no plano, tesoura no plano, sacudida fora do plano e torção fora do plano (LIMA, MOURA e SILVA, 2015).

Dos diferentes métodos de espectroscopia vibracional (MIR, NIR e Raman), a técnica NIR tem sido utilizada nas últimas décadas em combinação com fibra óptica, acessórios de sonda on-line, acessórios portáteis e procedimentos de avaliação quimiométricos, para controle de qualidade industrial e monitoramento de processos. É importante ressaltar que a espectroscopia NIR não é somente uma ferramenta de rotina, pois possui grande potencial de pesquisa pelo fato de fornecer informações únicas que não são acessíveis por outras técnicas (SIESLER, 2007). Através do espectro NIR é possível obter não apenas informações químicas, mas também informações físicas das amostras analisadas (LIMA, MOURA e SILVA, 2015).

As técnicas de espectroscopia no infravermelho (médio e próximo) tem recebido atenção entre os pesquisadores como uma ferramenta de medida rápida e que permite a avaliação simultânea de diversos atributos de materiais orgânicos com pouco ou nenhum preparo de amostras (BARBIN, FELÍCIO, *et al.*, 2014). Madeira *et al.* (2015), também cita em seus estudos como a espectroscopia é uma técnica de uso crescente, devido à sua rapidez, simplicidade e segurança.

A habilidade de moléculas orgânicas constituídas de átomos de carbono, oxigênio, hidrogênio e nitrogênio, ligados entre si por ligações químicas covalentes, em absorver luz quando a frequência de radiação que atinge a ligação é igual e

frequência de vibração da mesma ligação, permite a medida por espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) (ALUKA, DAVRIEUX, *et al.*, 2016). Embora algumas vibrações de moléculas possam ser devidamente atribuídas na região do infravermelho próximo dos espectros, a composição complexa de algumas amostras, como o café, onde são encontrados mais de 800 compostos, pode dificultar a análise (BARBIN, FELÍCIO, *et al.*, 2014).

Recentemente, a espectroscopia NIR tem sido relatada em diversos estudos com alimentos, como vinho, tomates, maçãs, carne de frango, dentre outros (GENISHEVA, QUINTELAS, *et al.*, 2018; HUANG, LU e CHEN, 2018; MOSCETTI, RAPONI, *et al.*, 2018; YANG, ZHUANG, *et al.*, 2018). Santos *et al.* (2016) utilizaram a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRs) para monitorar a acidez durante a torrefação de grãos de café, e obtiveram resultados com boa precisão comparados a análise de acidez titulável total. O modelo derivado dos dados espectrais fortalece e complementa a análise sensorial, reduzindo a subjetividade. Madeira *et al.* (2015) encontrou, em seus estudos, através da quimiometria, correlação entre a qualidade sensorial de cafés e a espectroscopia no infravermelho próximo.

3.3.4. Quimiometria

As técnicas instrumentais, dentre elas a espectroscopia no infravermelho, estão sendo cada vez mais utilizadas pelo fato de serem mais precisas e rápidas do que as análises clássicas de laboratório. Porém estas técnicas geram uma grande quantidade de dados, sendo necessária a criação de novos tratamentos de dados mais complexos, através da matemática e da estatística, buscando resultados através dos sinais analíticos obtidos (LIMA, MOURA e SILVA, 2015).

Surgiu então a quimiometria, que segundo Kowalski (1975), é "a aplicação de ferramentas matemáticas e estatísticas à química". Em resumo, é o nome dado à disciplina que uni três grandes áreas - química, matemática e estatística - para resolução de problemas com um maior número de variáveis, onde a estatística básica não consegue resolver.

3.3.4.1. Pré-tratamentos dos dados

Os dados experimentais obtidos de instrumentos como o NIRS devem, quase sempre, passar por pré-tratamentos, para melhorar a qualidade dos dados e obter assim, modelos melhores. No geral, vários métodos são testados para a escolha de quais serão utilizados.

A realização de pré-tratamentos de dados tem o objetivo de reduzir variações indesejáveis que não puderam ser removidas durante a aquisição dos dados e que não serão retiradas naturalmente ao longo da análise, mas que poderão ter influência nos resultados finais. A utilização de pré-tratamentos deve ser realizada com devida precaução e de forma criteriosa para não distorcer ou comprometer os dados (FERREIRA, 2015). Os pré-tratamentos podem ser divididos em dois tipos, conforme mostra a figura 6.

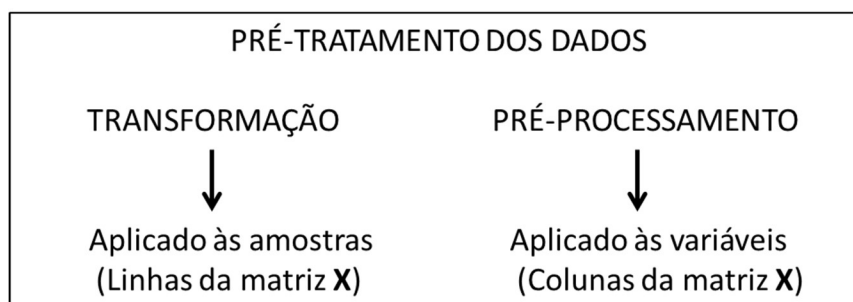


Figura 6 – Quadro indicativo dos pré-tratamentos dos dados.

FONTES: (FERREIRA, 2015).

Segundo determinado por Ferreira (2015), os pré-tratamentos aplicados às amostras serão chamados de transformações, enquanto os pré-tratamentos aplicados às variáveis serão chamados de pré-processamento.

a) Transformações

- Alisamento dos dados

Os instrumentos mais modernos de análise já trazem alguns tratamentos embutidos no próprio *software*, e as técnicas de alisamento estão presente na maioria destes *softwares*. O alisamento tem como objetivo a redução do ruído presente nos dados, aumentando assim a razão sinal-ruído.

O alisamento mais comum e utilizado é o de Savitzky-Golay (SAVITZKY e GOLAY, 1964). Ele utiliza um ajuste de uma função polinomial, por quadrados mínimos, aplicado aos dados ruidosos presente em uma janela móvel de tamanho definido. Em seguida, a resposta no ponto central da janela é substituída pelo valor do polinômio ajustado, e assim a janela é movida, ponto a ponto, até que a curva inteira seja alisada. A magnitude do alisamento é definida por dois parâmetros, o número de pontos da janela e o grau do polinômio ajustado (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009; FERREIRA, 2015).

- Correção da linha de base

Em dados espectrais e também cromatográficos podem ocorrer problemas de deslocamento da linha de base, onde ocorre o deslocamento de um espectro como um todo, seja este deslocamento positivo ou negativo em relação ao zero da absorvância, por exemplo.

A transformação mais comum a ser utilizada é a primeira derivada, pois permite que a constante adicional dos efeitos de segundo plano, que causa o deslocamento, seja removida, pois a derivada do termo constante de uma função contínua é zero. Caso o espectro apresente também inclinação na linha de base, pode ser aplicada a segunda derivada para resolução do problema, porém, pode ser observado um espectro com mais ruídos (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009).

- Normalização

A normalização pode ser utilizada para remover variações sistemáticas, como variações causadas pelo tamanho da amostra, dias diferentes de análises, diferentes volumes de injeção, entre outras. Nesta transformação, os valores de cada uma das variáveis de uma amostra i são divididos por um fator de normalização, que pode ser, por exemplo, a norma da amostra ($\|x_i\|$), de forma que todas as amostras estarão na mesma escala. A normalização é indicada, segundo Ferreira (2015), quando se deseja reter somente a informação que diferencia uma amostra da outra qualitativamente e remover toda a informação que diferenciaria duas amostras de composição idêntica, mas com concentrações diferentes.

- Correção Multiplicativa de Sinal (MSC)

A transformação MSC é usada para corrigir efeitos de espalhamento, aditivos e multiplicativos, causados por fenômenos físicos, por exemplo, variações de temperatura e pressão, diferenças na forma e tamanho das partículas das amostras, mudanças no caminho ótico e na sensibilidade do detector, e não possui relação com a composição da amostra. Na prática, os efeitos de espalhamento são removidos deslocando e escalando cada espectro de forma que se ajuste a um espectro ideal, que pode ser um espectro padrão, ou o espectro médio (FERREIRA, 2015). Como vantagem desta transformação, o espectro corrigido se assemelha ao espectro original, o que auxilia na interpretação dos dados.

Com a utilização da MSC não é necessário o uso da derivada primeira, pois esta transformação também corrige o deslocamento na linha de base. Porém, ela não faz a correção da inclinação da linha de base, sendo necessário o uso da segunda derivada caso seja de interesse para a análise dos dados.

- Padronização Normal de Sinal (SNV)

A transformação SNV, assim como a MSC, tem a função de corrigir efeitos aditivos e multiplicativos, apropriada para remover interferências de espalhamento e de tamanho de partícula sólida. Diferente da MSC que utiliza um espectro padrão como referência para os cálculos, a SNV é aplicada a cada espectro individualmente. Matematicamente, é calculada a média e o desvio padrão de todos os pontos do espectro, em seguida, o valor médio é subtraído de cada ponto e o resultado é dividido pelo desvio padrão (FERREIRA, 2015; REIS, FRANCA e OLIVEIRA, 2016).

b) Pré-processamentos

- Centrar os dados na média

Centrar os dados na média é um pré-processamento aplicado às variáveis cujo resultado é uma translação de eixos para o valor médio de cada um deles de forma que a estrutura dos dados é totalmente preservada. Para realizar este pré-processamento, calcula-se o valor médio de cada coluna da matriz **X** de dados e, em seguida, esse valor é subtraído de cada um dos valores da respectiva coluna (FERREIRA, 2015).

3.3.4.2. Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) é um método da estatística multivariada, utilizado para projetar dados multivariados em um espaço de dimensões menores, ou seja, a dimensão do conjunto de dados é reduzida sem afetar a relação entre as amostras. Dessa forma, as informações mais relevantes são ampliadas permitindo que sejam visualizadas e interpretadas de maneira mais fácil (FERREIRA, 2015). A PCA é um dos métodos quimiométricos mais difundido, podendo ser considerada a base para a maioria dos tratamentos realizados na análise multivariada de dados (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009).

Quando há correlação entre as variáveis do conjunto de dados analíticos, é possível realizar uma compressão dos dados, gerando novas variáveis, a partir de combinações lineares das variáveis originais, que são denominadas de componentes principais (PC), ou de autovetores e fatores, como também são conhecidas. As componentes principais geradas, não possuem correlação e ortogonalidade entre si, ou seja, a informação contida em uma PC não está contida em outra (FERREIRA, 2015).

As componentes principais são geradas em ordem decrescente segundo a variância que descrevem, de forma que a PC1 descreve a direção de maior variação dos dados, a PC2 descreve o máximo de variância restante, e assim igualmente para as próximas PCs (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009).

Matematicamente, o conjunto de dados analíticos é transformado em uma matriz de dados \mathbf{X} , de dimensão $\mathbf{I} \times \mathbf{J}$, onde \mathbf{I} é o número de amostras e \mathbf{J} é o número de variáveis. Esta matriz \mathbf{X} é então, decomposta um produto de duas matrizes menores, \mathbf{T} e \mathbf{P} , mais uma matriz de resíduos \mathbf{E} , conforme equação abaixo:

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^t + \mathbf{E}$$

Na equação acima, \mathbf{T} representa a matriz de escores que expressam as relações entre as amostras, e \mathbf{P} representa a matriz de pesos que indicam as relações entre as variáveis. Como as informações dos dados são descritas na ordem decrescente das componentes principais, um pequeno número de PCs irão conter quase toda a informação do conjunto original, de forma que as últimas PCs irão

descrever principalmente informações aleatórias, como ruídos e erros experimentais (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009).

3.3.4.3. Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

O PLS, ou regressão por mínimos quadrados parciais, é um dos métodos de calibração multivariada que busca estabelecer um modelo de regressão que relaciona sinais analíticos medidos para uma amostra, com propriedade específica (BOTELHO e SENA, 2014). Se baseia nos princípios básicos de Herman Wold, onde os problemas complexos de análise de sistemas multivariados podem ser resolvidos por uma sequência de regressões simples de mínimos quadrados, e é definido como um método de regressão de dois blocos preditivos baseado na estimativa de variáveis latentes (BURNS e CIURCZAK, 2007).

O objetivo do método é estabelecer uma relação linear entre duas matrizes, a matriz de espectros \mathbf{X} e a matriz dos valores de referência \mathbf{Y} . Para isso, deve-se encontrar as variáveis latentes da matriz de dados \mathbf{X} que maximizem a covariância entre os escores de \mathbf{X} e \mathbf{y} , dessa forma, o PLS modela \mathbf{X} e \mathbf{y} simultaneamente para encontrar as variáveis latentes em \mathbf{X} . Assim, inicialmente, o vetor de resposta \mathbf{y} é utilizado como vetor de escores, na decomposição de \mathbf{X} , para gerar um vetor de pesos \mathbf{w} (CARNEIREIRO e FRANCA, 2013; RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009). O modelo PLS gera um vetor \mathbf{y} , ou uma matriz \mathbf{Y} , de resposta.

Esta resposta preditiva pode ser feita de forma confiável através da validação cruzada. A validação cruzada, segundo Carneireiro e Franca (2013), é uma técnica onde um ou mais espectros de amostras são removidos do vetor, ou da matriz de valor de referência e um modelo é criado com as amostras restantes. Este modelo é utilizado para prever o valor das amostras que foram excluídas, então, o procedimento é repetido até que todas as amostras tenham ficado de fora pelo menos uma vez. Para conjuntos de dados pequenos, até 20 amostras de calibração, o método recomendado para validação cruzada é o *leave-one-out*, onde uma amostra é retirada de cada vez do conjunto, e para conjuntos maiores podem ser utilizados os blocos contínuos ou o método de venezianas (BOTELHO e SENA, 2014).

O melhor modelo PLS deve ser determinado a partir dos valores da raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de validação cruzada (RMSECV) e do coeficiente de correlação da validação cruzada (r_{vc}). O menor valor de RMSECV irá indicar o número de variáveis latentes ideal para obter o melhor modelo PLS. Além da validação cruzada, o modelo PLS deve ser validado com um conjunto independente de amostras (validação externa), e neste caso, para mensurar o poder de previsão do modelo é utilizada a raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de previsão, RMSEP, e a raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de calibração, RMSEC (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009).

3.3.4.4. Mínimos Quadrados Parciais – Análise Discriminante (PLS-DA)

O método PLS quando utilizado para discriminar ou classificar é denominado Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA). O PLS-DA possui uma pequena diferença para o PLS, onde o bloco **Y** (variáveis dependentes), que no PLS são os valores experimentais, é substituído por uma matriz ou vetor de variáveis binárias que representam diferentes classes. O PLSDA realça as diferenças entre classes das amostras e pode ser utilizado, por exemplo, quando não é possível a diferenciação por PCA (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009; FERREIRA, 2015).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. AMOSTRAS

Foram utilizadas 24 amostras de café em cápsula, com diferentes níveis de intensidade e características sensoriais, obtidas de diferentes marcas comerciais, compatíveis com a máquina de café Nespresso Automática Essenza C101 ®, conforme descrito na tabela 2.

Tabela 2 – Descrição das amostras obtidas pelos fabricantes.

| Marca | Denominação | Descrição | Intensidade |
|--------------|--------------------------------------|---|--------------------|
| A1 | Mitsuo Nakao® Catuaí amarelo | Espécie: Arábica. Origem: Fazenda Serra Negra do Cerrado Mineiro. Características Sensoriais: aroma caramelizado e frutas amarelas; sabor de chocolate e frutas cítricas amarelas; acidez equilibrada. | 7 |
| A2 | Mitsuo Nakao® Bourbon Vermelho | Espécie: Arábica. Origem: Fazenda Serra Negra do Cerrado Mineiro. Características Sensoriais: aroma caramelizado; sabor de chocolate e nozes; acidez leve. | 10 |
| A3 | Mitsuo Nakao® Mundo Novo | Espécie: Arábica. Origem: Fazenda Serra Negra do Cerrado Mineiro. Características Sensoriais: aroma de caramelo e manteiga de cacau; sabor de chocolate e avelã; baixa acidez. | 12 |
| A4 | Espresso Blend® Intenso | Espécie: Arábica. Origem: não especificado. Características Sensoriais: aroma cítrico; sabor forte e vincado; corpo intenso. | 11 |
| A5 | Espresso Blend® Gourmet | Espécie: Arábica. Origem: não especificado. Características Sensoriais: aroma e sabor intenso; encorpado. | 6 |
| A6 | Espresso Blend® Extra Forte | Espécie: Arábica. Origem: não especificado. Características Sensoriais: aroma e sabor intenso; encorpado. | 8 |
| A7 | Espresso Blend® Tradicional | Espécie: Arábica. Origem: não especificado. Características Sensoriais: aroma intenso; sabor suave; encorpado. | 7 |

| | | | |
|------------|--------------------------------------|--|----|
| A8 | Nespresso® Livanto | Espécie: Arábica. Origem: América do Sul e Central. Características Sensoriais: notas de caramelo torrado; perfil equilibrado e arredondado, combinação entre notas de cereais, de malte, caramelizadas e de finas notas frutadas. | 6 |
| A9 | Nespresso® Capriccio | Espécie: Arábica e Robusta. Origem: América do Sul. Características Sensoriais: aroma complexo e uma forte nota de cereais; leve acidez. | 5 |
| A10 | Nespresso® Vivalto Lungo | Espécie: Arábica. Origem: América do Sul e África Oriental. Características Sensoriais: notas de torrado, suavemente amadeirada, doces de cereais e florais. | 4 |
| A11 | Nespresso® Dharkan | Espécie: Arábica. Origem: América Latina e Ásia. Características Sensoriais: notas intensamente torradas de cacau e de cereais torrados. | 11 |
| A12 | Nespresso® Roma | Espécie: Arábica e Robusta. Origem: Américas Central e do Sul. Características Sensoriais: notas doces e amadeiradas, de cereais. | 8 |
| A13 | Nespresso® Arpeggio | Espécie: Arábica. Origem: América do Sul e Central. Características Sensoriais: notas de torrado em conjunto com sutis notas de cacau e toques amadeirados. | 9 |
| A14 | Nespresso Rosabaya de Colombia | Espécie: Arábica. Origem: Colômbia. Características Sensoriais: notas de frutas vermelhas; toque de vinho; amora-preta; blueberry e groselhas-vermelhas. | 6 |
| A15 | Nespresso® Envivo Lungo | Espécie: Arábica e Robusta. Origem: Índia e México. Características Sensoriais: notas caramelizadas, amadeiradas e gengibre. | 9 |
| A16 | Nespresso® Dulsão do Brasil | Espécie: Arábica. Origem: Brasil. Características Sensoriais: base de cereais maltados como notas doces de mel e xarope de bordo. | 4 |
| A17 | Nespresso® Kazzar | Espécie: Arábica e Robusta. Origem: América do Sul e Guatemala. Características Sensoriais: notas de torrado; amargor e notas de pimenta. | 12 |
| A18 | Nespresso® Fortissio Lungo | Espécie: Arábica. Origem: Índia e América Latina. Características | 8 |

| | | | |
|------------|--|---|----|
| | | Sensoriais: notas de cereais doces e malte torrado. | |
| A19 | Nespresso® Linizio Lungo | Espécie: Arábica. Origem: Brasil e Colômbia. Características Sensoriais: notas de malte, cereal adocicado. | 4 |
| A20 | Nespresso® Ristretto | Espécie: Arábica e Robusta. Origem: América do Sul e África Oriental. Características Sensoriais: notas de torrado suavizadas por notas de chocolate; amargor, acidez e notas frutadas. | 10 |
| A21 | Nespresso® Cosi | Espécie: Arábica. Origem: Costa Rica, Quênia e América Latina. Características Sensoriais: cereal suave e notas levemente tostadas reforçada por sutis notas frutadas. | 4 |
| A22 | Nespresso® Bukeela ka Ethiopia Lungo | Espécie: Arábica. Origem: Etiópia. Características Sensoriais: blend de dois cafés, com corpo e notas delicadas. Frutado e Floral. | 3 |
| A23 | Nespresso® Indrya from India | Espécie: Arábica e Robusta. Origem: Sul da Índia. Características Sensoriais: espresso encorpado, notas incomuns de especiarias. Apimentado. | 10 |
| A24 | Nespresso® Volluto | Espécie: Arábica. Origem: Brasil e Colômbia. Características Sensoriais: Corpo redondo com notas de biscoito doce e frutas. | 4 |

4.2. ACIDEZ TITULÁVEL TOTAL

A análise de acidez titulável total foi realizada conforme metodologia da AOAC, método 920.92 para café torrado, com adaptações (AOAC, 2012). Foram pesados 2,15 g de amostra em tubo Falcon de 50 mL, e adicionado 50 mL de solução alcoólica 80%. A solução foi homogeneizada e mantida em repouso por dezesseis horas, agitando-se ocasionalmente. Após decantação, 30 mL do sobrenadante foi transferido para Erlenmeyer de 250 mL, e diluído com 70 mL de água destilada. Procedeu-se a titulação com NaOH 0,1M utilizando solução de fenolftaleína 1% como indicador. A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos em mL NaOH 0,1M 100 g⁻¹ de amostra. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade quando necessário.

4.3. ANÁLISE SENSORIAL

As 24 amostras de café em cápsulas foram analisadas por 16 provadores não-profissionais, previamente treinados com o auxílio de um profissional *Q-grader*. As análises foram realizadas em duplicata.

O treinamento e seleção dos provadores foram baseados na literatura de Meilgaard e Civille (2006). Foi elaborado um questionário preliminar para recrutamento dos provadores com o objetivo de obter as informações pessoais de contato, e informações sobre os hábitos alimentares da cada provador (Apêndice A). Em conjunto com o questionário foi apresentado o Termo de Consentimento Livre Esclarecido, o qual foi assinado pelos candidatos (Apêndice B). Em seguida, os provadores foram selecionados para a fase de treinamento que consistiu em quatro etapas.

A primeira etapa do treinamento consistiu em um teste de correspondência com o objetivo de determinar a habilidade dos provadores em discriminar diferenças entre vários estímulos apresentados em intensidades acima do limiar de detecção. Foi apresentado um conjunto de 4 amostras, e em seguida, foi apresentado um segundo conjunto de 8 amostras também codificadas. Aos provadores foi solicitado indicar as amostras do segundo conjunto que tivessem correspondência com o primeiro conjunto. As soluções utilizadas nesta etapa estão listadas na tabela 3.

Tabela 3 – Concentração das soluções utilizadas no teste de correspondência.

| Gosto | Substância | Concentração (g L ⁻¹) |
|---------------|------------------|-----------------------------------|
| Doce | Sacarose | 20,0 |
| Azedo (ácido) | Ácido Cítrico | 1,0 |
| Amargo | Cafeína | 1,0 |
| Salgado | Cloreto de Sódio | 2,0 |

A segunda etapa teve o objetivo de determinar a capacidade dos candidatos para detectar diferenças entre gostos similares com ingredientes diferentes, através de um teste de detecção. Foi solicitado aos candidatos identificar a amostra diferente entre três amostras apresentadas. O teste foi realizado em duas sessões, sendo uma

em concentrações maiores e, portanto, mais fácil de identificar, e outra em concentrações menores e mais difíceis de identificar. As soluções utilizadas nesta etapa estão listadas na tabela 4.

Tabela 4 – Concentração das soluções utilizadas no teste de detecção.

| Sessões | Substância | Concentração (g L⁻¹) |
|------------------------|-------------------|--|
| Primeira Sessão | Ácido Cítrico | 0,9 |
| | Cafeína | 0,6 |
| Segunda Sessão | Ácido Cítrico | 0,3 |
| | Cafeína | 0,2 |

Na terceira etapa foi realizado um teste de ranqueamento para determinar a capacidade dos provadores em discriminar níveis graduados de intensidade do atributo acidez, dada pelo composto ácido cítrico. Foi apresentada aos provadores uma série de quatro amostras em ordem aleatória onde o atributo acidez se encontrava em diferentes concentrações. Foi solicitado aos candidatos ordenar as amostras em ordem crescente, ou seja, da menos concentrada para a mais concentrada. As soluções utilizadas estão listadas na tabela 5.

Tabela 5 – Concentração das soluções utilizadas no teste de ranqueamento.

| Ordem | Concentração de ácido cítrico (g L⁻¹) |
|--------------|---|
| 1 | 0,25 |
| 2 | 0,50 |
| 3 | 1,0 |
| 4 | 1,5 |

Nas três primeiras etapas de treinamento os testes foram realizados em duplicata. Todas as amostras apresentadas foram codificadas com códigos aleatórios de três dígitos. As fichas de avaliação utilizadas nos testes estão apresentadas no Apêndice C.

A quarta etapa consistiu na familiarização dos provadores com as amostras de café em cápsulas. Foram apresentados alguns cafés de diferentes intensidades e diferentes níveis de acidez, de forma que os provadores puderam experimentar e identificar a diferença entre as amostras. Nesta etapa, também foram apresentados

aos candidatos a ficha de avaliação que seria utilizada após o treinamento, e os atributos que seriam avaliados: aroma, sabor e acidez. A análise era iniciada pela percepção do aroma, através do olfato, e em seguida ocorria a prova do café para percepção dos atributos de sabor e acidez.

O aroma é descrito como o cheiro do café quando diluído em água quente. O sabor representa a combinação de todas as percepções captadas na degustação através das papilas gustativas, nas sensações percebidas no palato alto e na área retro-nasal, ou seja, a partir das sensações que vão da boca até o nariz. A acidez pode ser considerada agradável ou não, dependendo da natureza do ácido presente. A acidez pode ser descrita como "brilhante" quando a sensação é agradável, e como "azedada" quando desagradável (SCAA - SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2008).

Após o treinamento, foi realizada a análise sensorial das 24 amostras de cafés em cápsula. Cada amostra foi apresentada aos provadores individualmente de forma aleatória. A análise foi realizada em duplicata. Os atributos foram avaliados em termos de intensidade e qualidade utilizando uma escala de 1 a 5, de "intenso e desagradável" (nota 1) a "intenso e agradável" (nota 5), conforme ficha de avaliação no apêndice C. Os cafés foram extraídos no momento da avaliação, segundo as indicações dos fabricantes, utilizando a máquina de café Nespresso Automática Essenza C101®, com água filtrada. As amostras foram apresentadas aos provadores na temperatura de 65 a 75°C, com códigos aleatórios de três dígitos. Todas as análises foram realizadas em ambiente climatizado e com iluminação adequada. As sessões tiveram duração máxima de 40 minutos, e no máximo seis provadores. Cada provador recebia sua amostra individual em copo descartável de 50 mL, acompanhada de água e biscoito água e sal para limpeza do paladar entre uma amostra e outra. Foi respeitado o limite de 8 amostras por sessão (GLOESS, SCHONBACHLER, *et al.*, 2013; SALAMANCA, FIOL, *et al.*, 2017; STEEN, WAEHRENS, *et al.*, 2017). A proposta de análise foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CAAE 56961316.0.0000.5093). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade quando necessário.

4.4. ANÁLISE DE ÁCIDO CLOROGÊNICO POR HPLC

Para análise de ácidos clorogênicos por HPLC, foram obtidos extratos em duplicata de cada amostra. Para o extrato, 0,5 g de café foram extraídos com 30 mL de água ultrapura à 80°C por 10 minutos, logo em seguida, a mistura foi filtrada em papel de filtro qualitativo e uma alíquota de 1 mL do extrato filtrado foi diluído para 5 mL com água ultrapura (ZANIN, 2016). Por fim, o extrato final foi filtrado em membrana Milipore 0,20 µm e injetado.

A metodologia foi realizada de acordo com o método proposto por Leão (2017) para quantificação de compostos fenólicos, foi utilizado o cromatógrafo de fase líquida da marca Shimadzu modelo Prominence, a coluna utilizada foi de fase reversa C18 da Shimadzu (4,6 µm x 150 mm, partículas de 5 µm) e foi utilizado o detector UV/DAD. Foi utilizado um método com sistema de gradiente e foram utilizadas duas fases móveis, sendo a fase A constituída de 92,6% de água ultrapura, 7% de acetonitrila e 0,4% de ácido fosfórico, e a fase B constituída de acetonitrila com 0,4% de ácido fosfórico. O gradiente de eluição é apresentado na tabela 6. A vazão da fase móvel foi de 1,2 mL min⁻¹, a temperatura do forno utilizada foi de 50°C, e o volume de injeção foi de 5 µL.

Tabela 6 – Gradiente de eluição utilizado no método para análise de ácido clorogênico por HPLC.

| Tempo (minutos) | Concentração da Fase B (%) |
|-----------------|----------------------------|
| 0 – 8 | 1 – 3 |
| 8 – 12 | 3 – 8 |
| 12 – 15 | 8 – 10 |
| 15 – 20 | 10 – 15 |
| 20 – 25 | 15 – 40 |
| 25 – 30 | 40 – 80 |
| 30 – 35 | 80 – 95 |
| 35 – 35,1 | 95 |
| 35,1 – 42 | 1 |

A identificação de ácido clorogênico nas amostras foi feita utilizando o tempo de retenção e o espectro do padrão individual do composto. O comprimento de onda

utilizado para identificação foi de 324 nm. Para a quantificação do ácido clorogênico nas amostras, foi feita a curva de calibração utilizando o padrão de ácido clorogênico (Sigma-Aldrich). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade quando necessário.

4.5. ANÁLISE DE ÁCIDO CÍTRICO POR HPLC

Para análise de ácido cítrico por HPLC, foram obtidos extratos em duplicata de cada amostra. Para o extrato, 0,1 g de café foram extraídos com 10 mL de água ultrapura a 80°C por 10 minutos, logo em seguida, uma alíquota de 0,5 mL do extrato filtrado foi diluído para 5 mL com água ultrapura (GREMBECKA, 2014; ZANIN, 2016). Por fim, o extrato final foi filtrado em membrana Milipore 0,20 µm e injetado.

A metodologia foi realizado conforme Lima (2010), foi utilizado o cromatógrafo de fase líquida da marca Shimadzu modelo Prominence®, a coluna utilizada foi de fase reversa C18 da Shimadzu® (4,6 µm x 150 mm, partículas de 5 µm) e foi utilizado o detector UV/DAD. Foi utilizado um método com sistema isocrático com fase móvel constituída de água ultrapura com 0,1% de acetonitrila e 0,12% de ácido fosfórico. A vazão da fase móvel foi de 0,8 mL min⁻¹, a temperatura do forno utilizada foi de 30°C, com volume de injeção foi de 20 µL e tempo de corrida de 16 minutos.

A identificação de ácido cítrico nas amostras foi feita utilizando o tempo de retenção e o espectro do padrão individual do composto. O comprimento de onda utilizado para identificação foi de 208 nm. Para a quantificação do ácido cítrico nas amostras, foi feita a curva de calibração utilizando o padrão de ácido cítrico da marca Supelco. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de probabilidade quando necessário.

4.6. NIRS

Os espectros foram obtidos através do espectrofotômetro de infravermelho próximo, Red-Wave-NIRX-SR StellarNet®, com resolução de 16 nm e 64 scans, na

faixa de 900 a 2300 nm. Para análise, cerca de 5 g de cada amostra foi colocada em um recipiente de vidro, o qual foi posicionado no equipamento para medida (figura 7).



Figura 7 – Obtenção de espectro NIR para café no equipamento Red-Wave-NIRX-SR StellarNet®.

As análises foram realizadas em triplicata, obtendo-se 3 espectros para cada amostra, totalizando 72 espectros. Previamente as análises, foram obtidos espectros de referência utilizando o padrão de reflectância RS-50, conforme recomendado pelo fabricante do equipamento. As medidas foram obtidas em ambiente controlado com temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ e baixa umidade.

4.7. ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

4.7.1. Análise de Componentes Principais - PCA

Foi realizada uma análise exploratória dos dados espectrais através da Análise de Componentes Principais (PCA), para isso os dados foram pré-processados utilizando MSC (correção de espalhamento multiplicativo) e foram centrados na média. Foi utilizado os espectros NIR obtidos das 24 amostras de café. Os dados obtidos foram tratados utilizando o software MATLAB® versão 7.9 em conjunto com o pacote PLS Toolbox®.

4.7.2. Mínimos Quadrados Parciais - PLS

A metodologia de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) foi utilizada para quantificação dos dados de análise sensorial, ácido cítrico e ácido clorogênico, a partir dos espectros NIR. Os dados obtidos foram tratados utilizando o software MATLAB® versão 7.9 em conjunto com o pacote PLS Toolbox®.

4.7.3. Mínimos Quadrados Parciais - Análise Discriminante - PLS-DA

A análise discriminante dos dados por meio do PLS-DA foi realizada para classificação dos dados de análise sensorial, ácido clorogênico e ácido cítrico, a partir dos espectros NIR. Os dados obtidos foram tratados utilizando o software MATLAB® versão 7.9 em conjunto com o pacote PLS Toolbox®.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ACIDEZ TITULÁVEL TOTAL

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a qual demonstrou diferença significativa entre as amostras, sendo realizado assim, o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados obtidos estão representados na tabela 7.

Tabela 7 – Resultados obtidos pela análise de Acidez Titulável Total.

| Amostra | Acidez Titulável Total (mL de NaOH 0,1M 100 g⁻¹ de amostra) | Amostra | Acidez Titulável Total (mL de NaOH 0,1M 100 g⁻¹ de amostra) |
|----------------|---|----------------|---|
| A1 | 92,9 ± 4,5 ^{d, e, f} | A13 | 73,3 ± 1,2 ^{g, h} |
| A2 | 63,3 ± 7,0 ^h | A14 | 111,5 ± 6,1 ^a |
| A3 | 94,1 ± 5,3 ^{c, d, e, f} | A15 | 74,4 ± 2,4 ^{g, h} |
| A4 | 82,5 ± 1,2 ^{e, f, g} | A16 | 107,7 ± 10,5 ^{a, b, c} |
| A5 | 72,8 ± 3,6 ^{g, h} | A17 | 82,0 ± 7,4 ^{e, f, g} |
| A6 | 80,6 ± 8,8 ^{f, g} | A18 | 105,3 ± 3,5 ^{a, b, c, d} |
| A7 | 96,0 ± 5,3 ^{b, c, d, e} | A19 | 100,6 ± 1,3 ^{a, b, c, d} |
| A8 | 98,7 ± 1,2 ^{a, b, c, d} | A20 | 82,4 ± 1,2 ^{e, f, g} |
| A9 | 102,2 ± 2,5 ^{a, b, c, d} | A21 | 110,0 ± 3,5 ^{a, b} |
| A10 | 83,6 ± 0,1 ^{e, f, g} | A22 | 112,8 ± 2,8 ^a |
| A11 | 98,4 ± 5,4 ^{a, b, c, d} | A23 | 109,8 ± 2,5 ^{a, b} |
| A12 | 92,9 ± 2,3 ^{d, e, f} | A24 | 82,1 ± 2,8 ^{e, f, g} |

Valor médio ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Observa-se pelos resultados que há diferença de acidez entre os diferentes tipos e marcas de cápsulas de café. Pode ser destacado o fato de que os maiores valores de acidez foram encontrados em cafés de torra mais clara, ou seja, de menor intensidade, enquanto os valores menores foram observados para cafés de torra mais escura, de maior intensidade. Os valores encontrados estão próximos aos valores

observados por França *et al* (2005) para café torrado, de 101,0 a 114,0 mL NaOH 0,1M L⁻¹ 100 g⁻¹. Agnoletti (2015), em seus estudos, encontrou acidez variando de 200,95 a 251,23 mL NaOH 0,1M L⁻¹ 100 g⁻¹ para café arábica, e de 112,23 a 148,70 mL NaOH 0,1M L⁻¹ 100 g⁻¹ para café conilon, ele observou ainda diferença significativa entre as classes de cafés, sendo que o café de melhor qualidade apresentou maior acidez, se comparado com o de pior qualidade. Filho (2015) também demonstra que o café arábica possui acidez titulável maior que o café conilon. Mendes (2005) encontrou maior teor de ácidos em café arábica, que no café robusta, sendo que encontrou entre os ácidos carboxílicos, o ácido cítrico em maior quantidade, seguido do ácido málico. Pode ocorrer variação na acidez titulável de acordo com os níveis de fermentação sofrida pelo grão de café, e também em diferentes estádios de maturação (PEISINO, PEREIRA, *et al.*, 2015).

Alguns autores relatam um aumento da acidez titulável em cafés de pior qualidade (CARVALHO, CHALFOUN, *et al.*, 1989; CHAGAS, 1994) porém, conforme citado por Pereira (2008), é preciso ressaltar que mais relevante que o valor de acidez presente no café, deve-se ter atenção ao tipo de acidez, podendo esta ser desejável ou indesejável no teste sensorial.

5.2. ANÁLISE SENSORIAL

Os dados obtidos da análise sensorial foram submetidos à análise de variância (ANOVA fator duplo – 5% de significância), analisando se havia diferença entre as amostras e entre os provadores para cada atributo avaliado. De acordo com os resultados apresentados (tabela 8), todas as análises foram significativas.

Tabela 8 – ANOVA fator duplo para as notas sensoriais dos diferentes atributos avaliados, e consistência dos provadores para cada atributo (5% de probabilidade.

| Fonte | Soma de Quadrados | Graus de liberdade | Quadrados médios | F | valor-P | F crítico |
|------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------|------------------------|-----------|
| Amostras | 11,45 | 23 | 0,50 | 6,86 | $1,73 \times 10^{-08}$ | 1,77 |
| Atributos | 8,15 | 2 | 4,08 | 56,17 | $4,49 \times 10^{-13}$ | 3,20 |
| Erro | 3,34 | 46 | 0,07 | | | |
| Total | 22,94 | 71 | | | | |
| Aroma | | | | | | |
| Amostras | 33,41 | 23 | 1,45 | 2,30 | $7,69 \times 10^{-04}$ | 1,56 |
| Provadores | 85,92 | 15 | 5,73 | 9,05 | $8,68 \times 10^{-18}$ | 1,70 |
| Erro | 218,30 | 345 | 0,63 | | | |
| Total | 337,63 | 383 | | | | |
| Sabor | | | | | | |
| Amostras | 165,47 | 23 | 7,19 | 7,16 | $1,75 \times 10^{-18}$ | 1,56 |
| Provadores | 52,14 | 15 | 3,48 | 3,46 | $1,62 \times 10^{-05}$ | 1,70 |
| Erro | 346,88 | 345 | 1,01 | | | |
| Total | 564,48 | 383 | | | | |
| Acidez | | | | | | |
| Amostras | 68,22 | 23 | 2,97 | 4,17 | $2,20 \times 10^{-09}$ | 1,56 |
| Provadores | 72,21 | 15 | 4,81 | 6,76 | $7,86 \times 10^{-13}$ | 1,70 |
| Erro | 245,64 | 345 | 0,71 | | | |
| Total | 386,06 | 383 | | | | |

A diferença significativa entre as amostras indica a capacidade dos provadores em discriminar diferentes amostras de café, porém, a diferença significativa entre os provadores indica a não consistência das notas sensoriais dadas por diferentes provadores para uma mesma amostra. Para a análise quimiométrica foi analisada a presença de *outliers*, sendo possível a retirada de alguns provadores para garantir a consistência dos resultados para o modelo. Devido aos resultados significativos, foi realizado o Teste de Tukey (5% de significância) para comparação das médias de forma a verificar quais amostras se diferenciavam entre si (tabela 9).

Tabela 9 – Média das notas obtidas na análise sensorial para cada atributo avaliado \pm desvio padrão.

| Amostras | Aroma | Sabor | Acidez |
|-----------------|-------------------|-------------------------|---------------------------|
| A1 | 4,2 \pm 0,5 a,b | 3,4 \pm 1,2 a,b,c,d | 3,9 \pm 0,9 a |
| A2 | 3,6 \pm 0,8 a,b | 3,0 \pm 1,5 a,b,c,d,e | 3,4 \pm 1,2 a,b,c,d,e |
| A3 | 3,3 \pm 0,9 a,b | 2,6 \pm 1,4 c,d,e,f | 2,7 \pm 0,7 b,c,d,e,f |
| A4 | 3,3 \pm 0,8 a,b | 2,9 \pm 1,4 a,b,c,d,e | 3,2 \pm 0,9 a,b,c,d,e,f |
| A5 | 4,2 \pm 0,2 a,b | 4,0 \pm 0,4 a | 3,8 \pm 0,7 a |
| A6 | 3,5 \pm 0,8 a,b | 3,3 \pm 1,7 a,b,c,d | 3,3 \pm 1,4 a,b,c,d,e,f |
| A7 | 3,9 \pm 0,4 a,b | 3,5 \pm 0,7 a,b,c | 3,6 \pm 0,7 a,b,c |
| A8 | 3,9 \pm 1,0 a,b | 2,8 \pm 1,6 b,c,d,e | 2,9 \pm 1,4 a,b,c,d,e,f |
| A9 | 4,0 \pm 0,3 a,b | 3,2 \pm 1,5 a,b,c,d | 3,5 \pm 1,6 a,b,c,d,e |
| A10 | 4,0 \pm 0,6 a,b | 3,7 \pm 0,5 a,b,c | 3,7 \pm 0,5 a,b |
| A11 | 3,2 \pm 1,9 b | 1,5 \pm 0,7 f,g | 2,3 \pm 0,7 f |
| A12 | 3,8 \pm 0,9 a,b | 3,2 \pm 1,0 a,b,c,d | 3,2 \pm 0,8 a,b,c,d,e,f |
| A13 | 3,8 \pm 0,9 a,b | 2,5 \pm 1,6 c,d,e,f,g | 2,5 \pm 1,7 e,f |
| A14 | 4,1 \pm 0,6 a,b | 3,0 \pm 1,4 a,b,c,d,e | 3,5 \pm 1,1 a,b,c,d,e |
| A15 | 3,4 \pm 1,2 a,b | 2,6 \pm 0,8 c,d,e,f,g | 3,1 \pm 0,6 a,b,c,d,e,f |
| A16 | 4,0 \pm 0,5 a,b | 3,1 \pm 0,9 a,b,c,d,e | 3,2 \pm 0,6 a,b,c,d,e,f |
| A17 | 3,6 \pm 1,4 a,b | 1,4 \pm 0,6 g | 2,5 \pm 0,4 d,e,f |
| A18 | 3,9 \pm 0,5 a,b | 3,5 \pm 0,8 a,b,c | 3,5 \pm 0,7 a,b,c,d |
| A19 | 3,7 \pm 1,1 a,b | 2,7 \pm 0,6 b,c,d,e | 3,0 \pm 0,7 a,b,c,d,e,f |
| A20 | 3,5 \pm 1,5 a,b | 1,9 \pm 1,0 e,f,g | 2,6 \pm 0,7 c,d,e,f |
| A21 | 4,1 \pm 0,7 a,b | 3,1 \pm 0,9 a,b,c,d,e | 3,3 \pm 0,9 a,b,c,d,e |
| A22 | 4,2 \pm 0,9 a | 3,8 \pm 0,5 a,b | 3,5 \pm 0,6 a,b,c,d |
| A23 | 3,7 \pm 1,2 a,b | 2,2 \pm 1,7 d,e,f,g | 3,1 \pm 1,0 a,b,c,d,e,f |
| A24 | 3,7 \pm 0,7 a,b | 3,0 \pm 1,9 a,b,c,d,e | 3,2 \pm 1,7 a,b,c,d,e,f |

Valor médio \pm desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando os resultados obtidos na tabela 9, é possível observar que as amostras A5 e A22 se destacam nos atributos aroma e sabor, com as maiores notas, estando também entre as cinco maiores notas para o atributo acidez. A amostra A11 apresentou as menores notas para o atributo aroma e acidez, e a segunda menor nota no atributo sabor. De acordo com as intensidades apresentadas na descrição das amostras (tabela 2), as amostras que apresentaram as maiores notas possuem intensidades menores do que a amostra que recebeu menores notas na avaliação sensorial.

Outra forma de apresentação dos dados é através da PCA. Devido ao grande número de amostras, a visualização dos dados em tabela é dificultada, sendo mais fácil a visualização e interpretação pela análise de componentes principais (figura 8). No gráfico, pode-se observar que as amostras na parte positiva de PC1 foram aquelas que receberam melhores notas dos provadores nos três atributos avaliados, aroma, sabor e acidez, e conseqüentemente, as que estão na parte negativa receberam as menores notas. A partir da PC1 é possível inferir que as amostras A1, A5, A10 e A22 apresentam os cafés com maiores notas sensoriais, enquanto as amostras A11, A17 e A20 apresentam os cafés com menores notas sensoriais. Observando os *loadings* (aroma, acidez sensorial e sabor) é possível ver que o sabor possui maior influência para o modelo do que os demais.

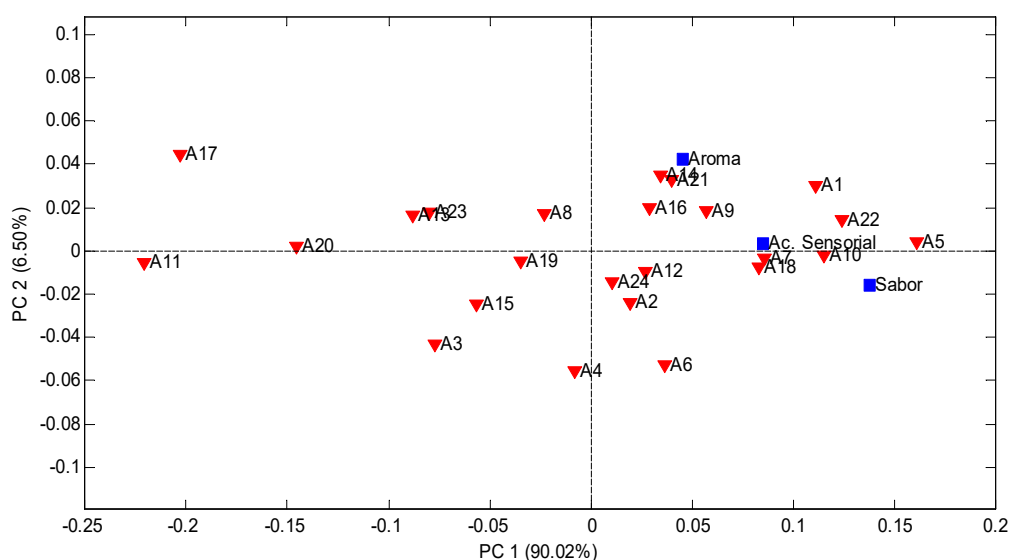


Figura 8 – Gráfico Biplot de PC1(90,02%)xPC2(6,50%) obtido da PCA dos dados de análise sensorial.

Além da diferença entre as amostras, também foi observada diferença significativa entre os provadores. Assim, foi realizado o Teste de Tukey (5% de significância) para comparação das médias de forma a verificar quais provadores se diferenciavam entre si. Os resultados podem ser observados na tabela 10.

Tabela 10 – Média das notas obtidas na análise sensorial para cada provador \pm desvio padrão.

| Provadores | Aroma | Sabor | Acidez |
|------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| P1 | 4,19 \pm 0,41 ^a | 3,71 \pm 2,04 ^a | 4,08 \pm 0,43 ^a |
| P2 | 4,35 \pm 0,79 ^a | 2,73 \pm 0,89 ^{a,b,c,d} | 3,19 \pm 0,84 ^{b,c,d,e} |
| P3 | 3,60 \pm 1,08 ^{a,b} | 3,17 \pm 1,49 ^{a,b,c,d} | 3,85 \pm 0,40 ^{a,b} |
| P4 | 3,56 \pm 0,70 ^{a,b,c} | 3,42 \pm 1,67 ^{a,b} | 3,60 \pm 1,00 ^{a,b,c} |
| P5 | 4,31 \pm 0,73 ^a | 2,67 \pm 1,95 ^{b,c,d} | 2,83 \pm 1,88 ^{c,d,e} |
| P6 | 3,65 \pm 0,88 ^a | 3,40 \pm 1,22 ^{a,b,c} | 3,44 \pm 0,49 ^{a,b,c,d} |
| P7 | 3,60 \pm 0,33 ^{a,b} | 2,92 \pm 0,47 ^{a,b,c,d} | 2,50 \pm 0,47 ^e |
| P8 | 3,96 \pm 0,87 ^a | 2,40 \pm 2,48 ^{c,d} | 3,08 \pm 1,75 ^{b,c,d,e} |
| P9 | 2,79 \pm 1,48 ^{b,c} | 2,54 \pm 2,30 ^{b,c,d} | 3,13 \pm 1,66 ^{b,c,d,e} |
| P10 | 3,71 \pm 1,11 ^a | 3,10 \pm 1,35 ^{a,b,c,d} | 2,65 \pm 1,25 ^{d,e} |
| P11 | 4,12 \pm 0,42 ^a | 2,67 \pm 0,84 ^{b,c,d} | 3,10 \pm 0,48 ^{b,c,d,e} |
| P12 | 4,27 \pm 0,33 ^a | 2,65 \pm 1,53 ^{b,c,d} | 2,69 \pm 0,67 ^{d,e} |
| P13 | 3,87 \pm 0,27 ^a | 3,25 \pm 1,02 ^{a,b,c} | 3,17 \pm 1,10 ^{b,c,d,e} |
| P14 | 2,67 \pm 0,56 ^{a,b,c} | 2,77 \pm 0,72 ^{a,b,c,d} | 3,65 \pm 0,29 ^{a,b,c} |
| P15 | 3,83 \pm 0,91 ^a | 2,92 \pm 1,14 ^{a,b,c,d} | 3,39 \pm 0,59 ^{a,b,c,d} |
| P16 | 4,00 \pm 0,09 ^a | 2,48 \pm 1,14 ^{b,c,d} | 2,85 \pm 0,36 ^{c,d,e} |

Valor médio \pm desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pode-se observar que houve diferença significativa entre os provadores que avaliaram os cafés, indicando a não consistência destes. Deveria ter sido realizado um treinamento ainda mais elaborado e com mais sessões para garantir a boa avaliação pelos candidatos. Porém, a análise foi realizada com um número de provadores superior ao recomendado para uma ADQ, de 10 a 12 provadores, de forma que pode ainda, se necessário ser realizada a detecção e remoção de possíveis *outliers*.

5.3. ÁCIDO CLOROGÊNICO POR HPLC

O teor de ácido clorogênico (5-ACQ) foi quantificado a partir do método de padrão externo, onde a solução padrão foi injetada separadamente em concentrações distintas para a obtenção de uma curva de calibração. Na figura 9 é apresentado o cromatograma, obtido a 324 nm, da solução padrão de ácido clorogênico. O tempo de retenção obtido para o padrão de ácido clorogênico foi de 8,8 minutos.

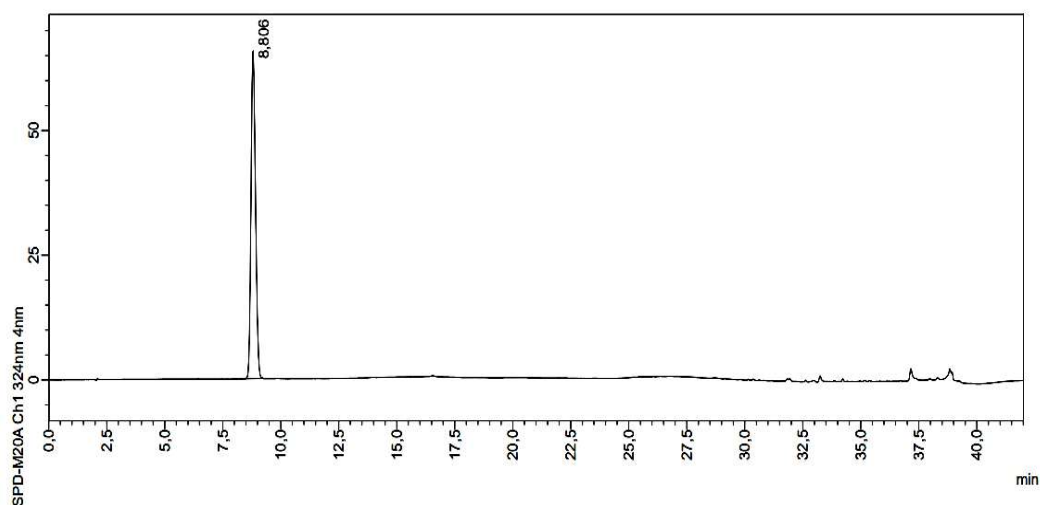


Figura 9 – Cromatograma para o padrão de ácido clorogênico.

A curva de calibração foi realizada nas concentrações de 70, 42, 35, 28, 21, 14 e 7 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e foi calculada a partir da área do pico da cada concentração, como apresentada na figura 10.

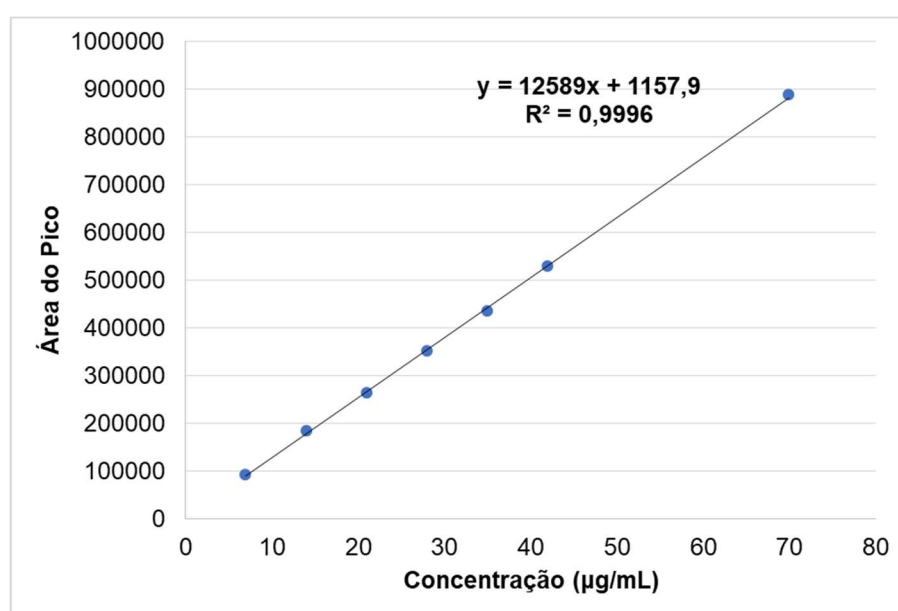


Figura 10 – Curva de calibração para o padrão ácido clorogênico.

Para cada amostra de café, foi obtido um cromatograma semelhante ao apresentado na figura 11. Pequenas variações no tempo de retenção podem ocorrer devido à mudança da fase móvel, porém o composto pode ser confirmado pelo perfil do espectro obtido. Na figura 12 é apresentado o espectro obtido para o padrão de ácido clorogênico e o espectro obtido para a amostra de café.

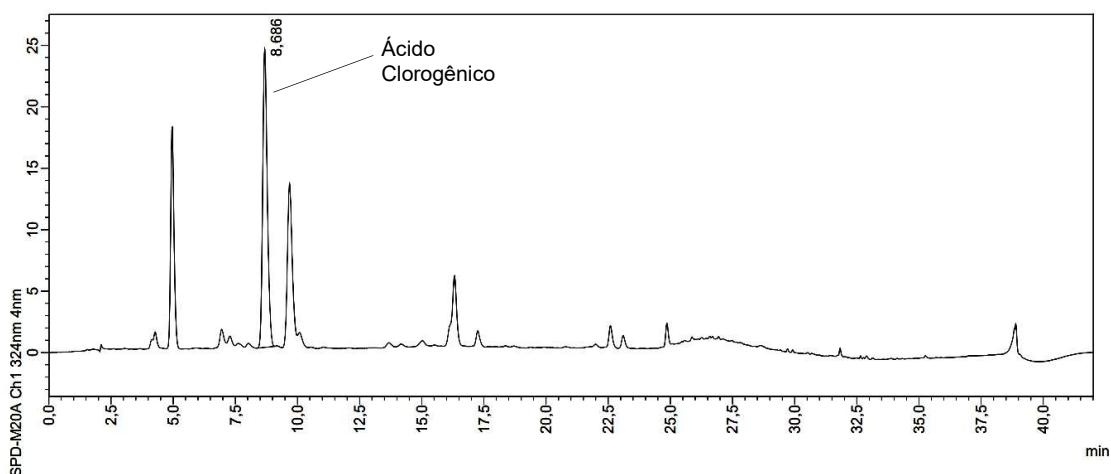


Figura 11 – Cromatograma de café para análise de ácido clorogênico.

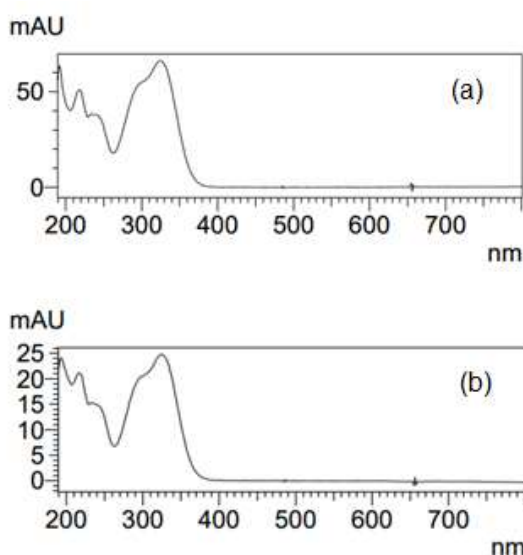


Figura 12 – Perfil de espectro para o composto ácido clorogênico: (a) para o padrão, e (b) para a amostra de café.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a qual demonstrou diferença significativa entre as amostras, sendo realizado assim, o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados obtidos estão representados na tabela 11.

Tabela 11 – Resultados obtidos pela análise de ácido clorogênico por HPLC.

| Amostras | Ácido Clorogênico (mg 100g ⁻¹ de amostra) |
|----------|--|
| A1 | 518,197 ± 0,223 ^{d,e,f,g} |
| A2 | 294,246 ± 0,170 ^{ij,k} |
| A3 | 137,900 ± 0,297 ^l |
| A4 | 590,900 ± 0,206 ^{c,d,e} |
| A5 | 763,107 ± 1,775 ^a |
| A6 | 590,532 ± 0,325 ^{c,d,e} |
| A7 | 687,582 ± 0,002 ^{a,b,c} |
| A8 | 415,651 ± 0,683 ^{f,g,h,i} |
| A9 | 594,902 ± 2,318 ^{c,d,e} |
| A10 | 477,486 ± 4,956 ^{e,f,g,h} |
| A11 | 233,799 ± 0,156 ^{k,l} |
| A12 | 454,792 ± 0,184 ^{f,g,h} |
| A13 | 242,779 ± 5,030 ^{j,k,l} |
| A14 | 606,853 ± 0,001 ^{b,c,d,e} |
| A15 | 217,753 ± 0,208 ^{k,l} |
| A16 | 301,340 ± 3,786 ^{ij,k} |
| A17 | 225,913 ± 0,943 ^{k,l} |
| A18 | 390,286 ± 0,001 ^{g,h,i} |
| A19 | 525,303 ± 0,726 ^{d,e,f} |
| A20 | 392,424 ± 0,342 ^{g,h,i} |
| A21 | 616,101 ± 2,032 ^{b,c,d} |
| A22 | 733,994 ± 0,024 ^{a,b} |
| A23 | 370,325 ± 0,091 ^{h,i,j} |
| A24 | 531,352 ± 0,022 ^{d,e,f} |

Valor médio ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os teores de 5-ACQ encontrados variaram de 137,900±0,297 a 763,107 ± 1,775 g 100g⁻¹ para as amostras de café, sendo que as amostras A5 e A22 apresentaram os maiores teores de 5-ACQ e a amostra A3, seguida das amostras A15 e A17 apresentaram os menores teores. Alves (2006) encontrou em seus estudos, valores de 0,26±0,01 e 0,47±0,02 g 100g⁻¹ de 5-ACQ para café arábica de torra escura e média, respectivamente, mostrando que a quantidade de ácido clorogênico presente no café diminui à medida que aumenta a intensidade de

torração. A redução de ácido clorogênico ao longo da torração se deve a inúmeras reações que podem ocorrer como isomerização, hidrólise, oxidação, fragmentação, polimerização, associação com proteínas desnaturadas, etc. (CLIFFORD, 1985). Esse fato também pode ser identificado neste trabalho, pois as amostras com os menores teores de 5-ACQ foram aquelas de intensidade mais elevada. Além da torração, o conteúdo de ácidos clorogênicos também pode ser afetado pela origem do cultivar do grão, conforme observado por Zanin (2016). Eugênio (2010), em seus estudos, encontrou valores de 0,45 a 0,59 g 100g⁻¹ em *blends* de café arábica com robusta. Souza (2010) também encontrou valores semelhantes, de 0,14 a 0,68 g 100 g⁻¹ para bebidas comerciais tradicionais, e especificamente, de 0,38 a 0,60 g 100 g⁻¹ para café espresso.

As amostras A5 e A22, que apresentaram maiores teores de 5-ACQ, também foram as que apresentaram maiores notas pela análise sensorial. Alguns estudos mostram que a quantidade de 5-ACQ tende a aumentar à medida que a qualidade da bebida diminui (FARAH, MONTEIRO, *et al.*, 2006). Porém, as amostras utilizadas neste estudo apresentam qualidade semelhante quanto à classificação (rio zona, rio, riada, dura, apenas mole, mole e estritamente mole), não sendo apropriado, portanto, a comparação com estudos que utilizaram cafés de classes diferentes.

5.4. ÁCIDO CÍTRICO POR HPLC

O teor de ácido cítrico também foi quantificado a partir do método de padrão externo, onde a solução padrão foi injetada separadamente em concentrações distintas para a obtenção de uma curva de calibração. Na figura 13 é apresentado o cromatograma, obtido a 208 nm, da solução padrão de ácido cítrico. O tempo de retenção obtido para o padrão de ácido cítrico foi de 8,38 minutos.

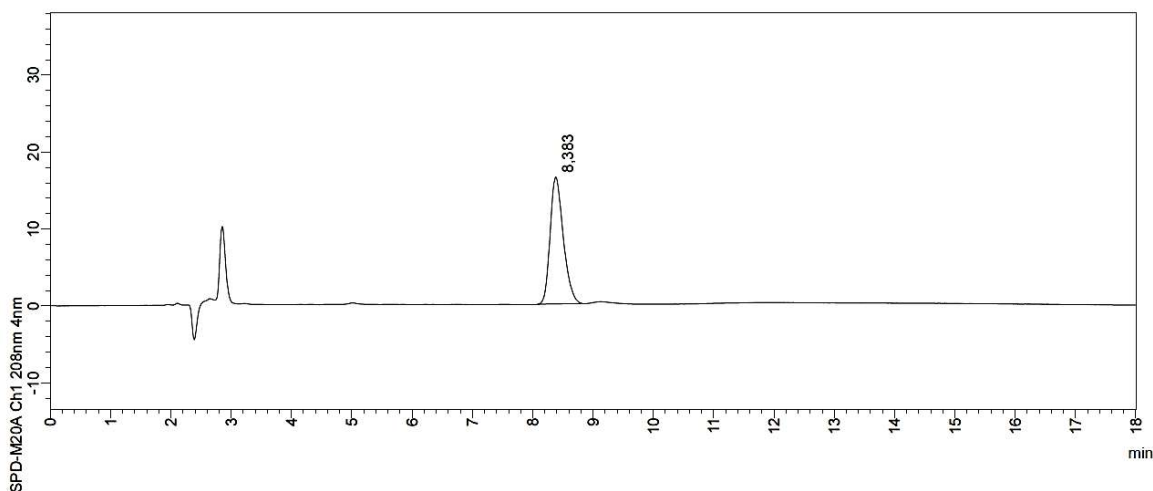


Figura 13 – Cromatograma para o padrão de ácido cítrico.

A curva de calibração foi realizada nas concentrações de 100, 50, 40, 30, 20, 10 e 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e foi calculada a partir da área do pico da cada concentração, como apresentada na figura 14.

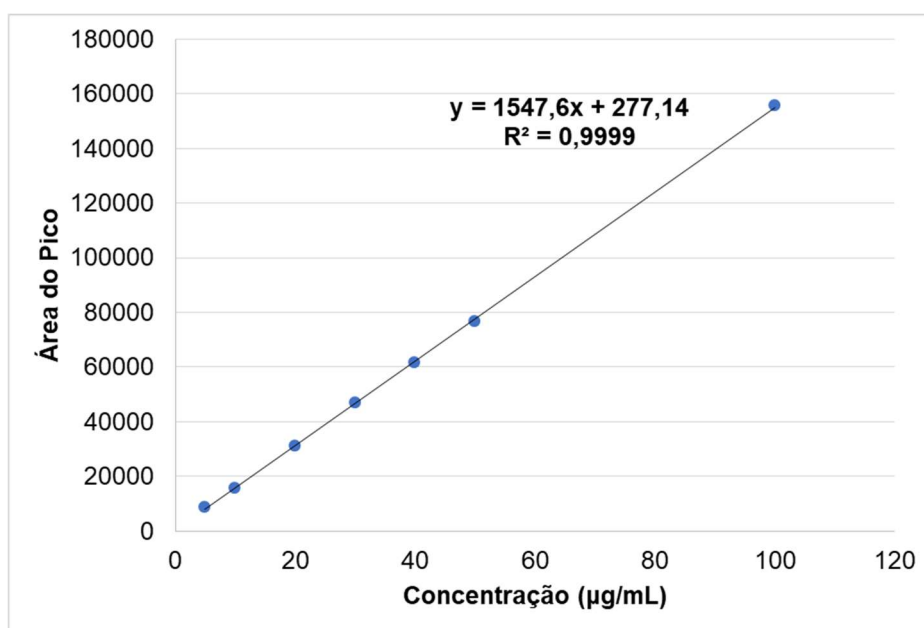


Figura 14 – Curva de calibração para o padrão de ácido cítrico.

Para cada amostra de café, foi obtido um cromatograma semelhante ao apresentado na figura 15. Pequenas variações no tempo de retenção podem ocorrer devido à mudança da fase móvel, porém o composto pode ser confirmado pelo perfil do espectro obtido. Na figura 16 é apresentado o espectro obtido para o padrão de ácido cítrico e o espectro obtido para a amostra de café.

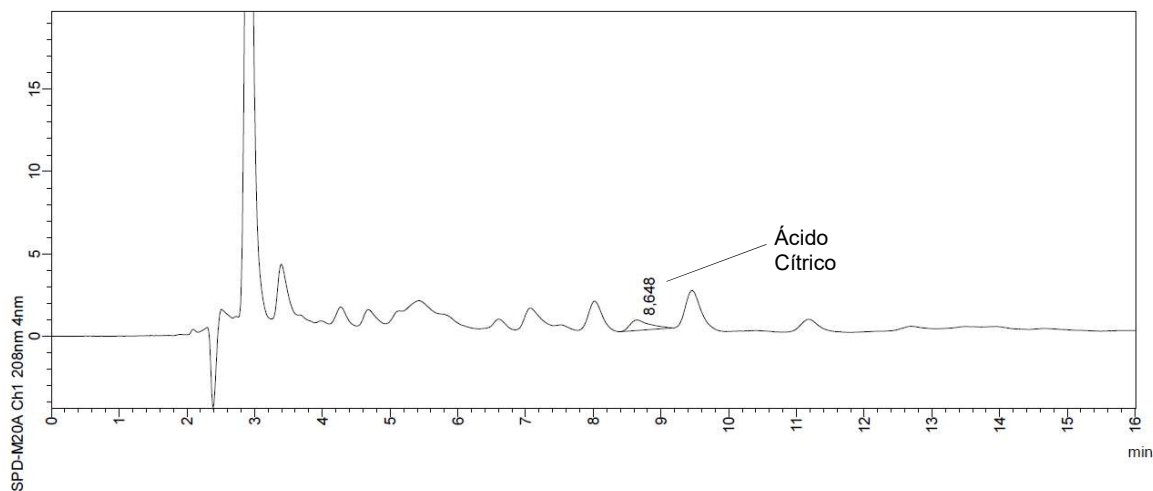


Figura 15 – Cromatograma de café para análise de ácido cítrico.

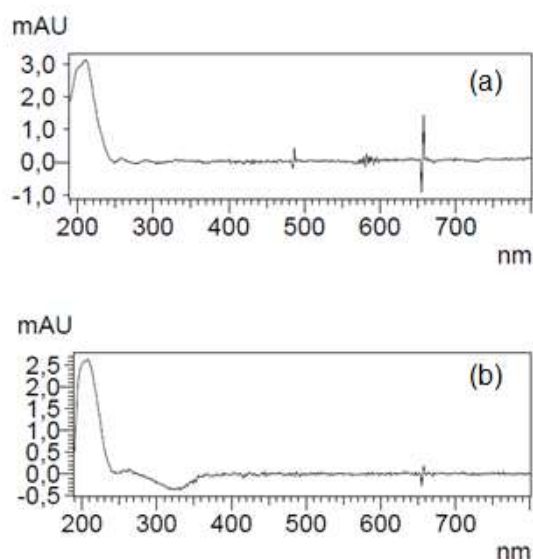


Figura 16 – Perfil de espectro para o composto ácido cítrico: (a) para o padrão, e (b) para a amostra de café.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a qual demonstrou diferença significativa entre as amostras, sendo realizado assim, o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados obtidos estão representados na tabela 12.

Tabela 12 – Resultados obtidos pela análise de ácido cítrico por HPLC.

| Amostras | Ácido Cítrico (mg 100 g⁻¹ de amostra) |
|-----------------|---|
| A1 | 867,72 ± 4,22 ^{a,b,c,d,e} |
| A2 | 604,52 ± 240,65 ^{b,c,d,e} |
| A3 | 477,42 ± 17,54 ^{c,d,e} |
| A4 | 934,79 ± 1,44 ^{a,b,c,d,e} |
| A5 | 1186,87 ± 6,47 ^{a,b,c} |
| A6 | 1329,04 ± 20,59 ^{a,b} |
| A7 | 973,76 ± 91,25 ^{a,b,c,d,e} |
| A8 | 1171,98 ± 19,58 ^{a,b,c} |
| A9 | 1066,43 ± 2,59 ^{a,b,c,d} |
| A10 | 407,16 ± 0,02 ^{c,d,e} |
| A11 | 691,51 ± 102,33 ^{a,b,c,d,e} |
| A12 | 1081,75 ± 99,68 ^{a,b,c,d} |
| A13 | 255,77 ± 67,38 ^e |
| A14 | 661,22 ± 6,56 ^{b,c,d,e} |
| A15 | 1033,88 ± 5,57 ^{a,b,c,d,e} |
| A16 | 1496,63 ± 43,66 ^a |
| A17 | 899,68 ± 37,12 ^{a,b,c,d,e} |
| A18 | 296,54 ± 0,79 ^{d,e} |
| A19 | 1174,51 ± 14,71 ^{a,b,c} |
| A20 | 1189,72 ± 2,83 ^{a,b,c} |
| A21 | 637,61 ± 2,02 ^{b,c,d,e} |
| A22 | 332,64 ± 7,04 ^{d,e} |
| A23 | 611,67 ± 54,72 ^{b,c,d,e} |
| A24 | 1099,07 ± 100,29 ^{a,b,c,d} |

Valor médio ± desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os teores de ácido cítrico encontrados variaram de 332,64 ± 7,04 a 1496,63 ± 43,66 g 100 g⁻¹ para as amostras de café, sendo que as amostras A16 e A6 apresentaram maiores teores de ácido cítrico e as amostras A13 e A18 apresentaram os menores teores. Os procedimentos de análise de ácidos orgânicos em café por HPLC ainda não foram explorados e, portanto, poucos trabalhos na literatura descrevem esta análise. Jham (2002) comparou os valores de alguns ácidos orgânicos em café obtidos por HPLC e por cromatografia gasosa, sendo que na análise de HPLC ele encontrou valores de 0,11±0,04 a 0,13±1,3 g 100 g⁻¹, porém estes valores foram determinados para grãos de café verde. Mendes (2005), em seus

estudos, encontrou valores de 1,501% de ácido cítrico em café arábica verde, contra 1,049% no café robusta verde, e os valores encontrados para os cafés arábica e robusta torrados foram de 1,703% e 0,847%, respectivamente. Além de avaliar o teor de ácidos carboxílicos nos grãos, Mendes (2005) também avalia os teores presentes na bebida obtida por filtro de papel, 0,58% no café arábica e 0,23% no café robusta, e no café espresso, 0,73% no café arábica e 0,46% no café robusta, sendo estes valores os mais próximos dos valores encontrados neste trabalho.

Para melhor interpretação dos dados, foi realizada uma análise exploratória através da PCA, relacionando os teores de ácido clorogênico, ácido cítrico e intensidade das amostras estudadas. O resultado obtido pode ser observado na figura 17.

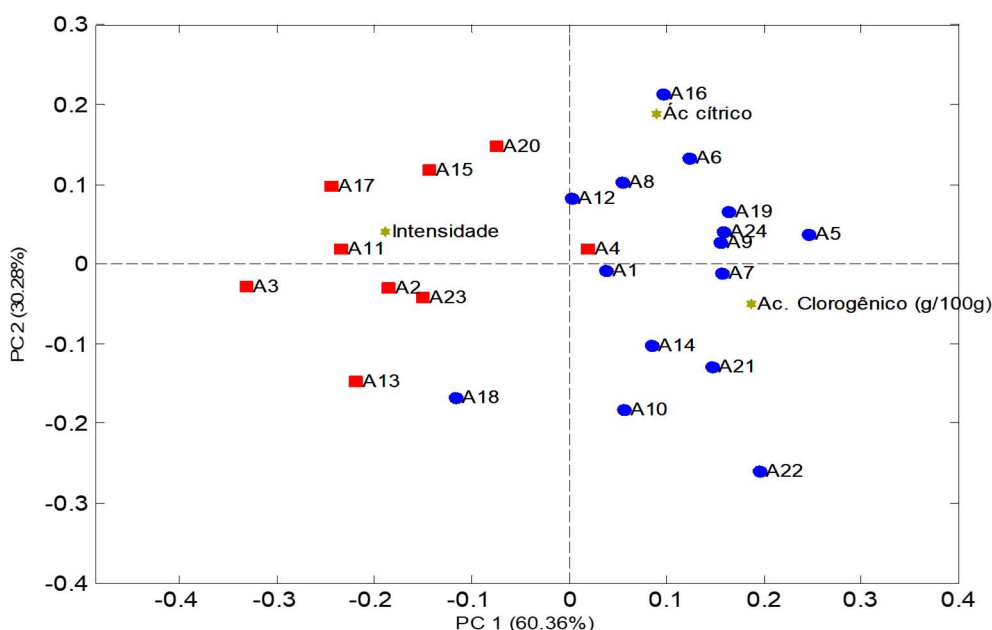


Figura 17 – Gráfico Biplot de PC1 contra PC2 para relacionar o teor de ácido clorogênico e ácido cítrico com a intensidade das amostras de café (■ – Mais Intenso, ● – Menos Intenso e * - variável).

Os resultados demonstrados na figura 17 mostram que a PC1 faz a separação das amostras por intensidade, sendo que a variável “ácido clorogênico” se encontra mais à direita do gráfico, confirmando que as amostras de menor intensidade possuem maior teor de ácido clorogênico, e a variável “ácido cítrico” fica intermediária, entre os cafés mais intensos e menos intensos, indicando que os cafés de intensidade média, podem possuir maior teor de ácido cítrico. Isso é observado na literatura por Mendes

(2005) e outros autores (BLANC, 1977; MAIER, 1987; PORTO, NICOLI, *et al.*, 1991; WOODMAN, 1985) onde afirmam que a maior concentração de ácidos carboxílicos no café torrado se dá com uma torração com perda de peso de 14 e 16%, que corresponde a uma torração média.

5.5. NIRS – ANÁLISE EXPLORATÓRIA UTILIZANDO PCA

Os 72 espectros de infravermelho próximo das 24 amostras de café podem ser observados na figura 18. A região observada nos espectros é de 900 a 2100 nm, pois devido à alta presença de ruído na região de 2100 a 2300 nm, esta região foi removida dos dados.

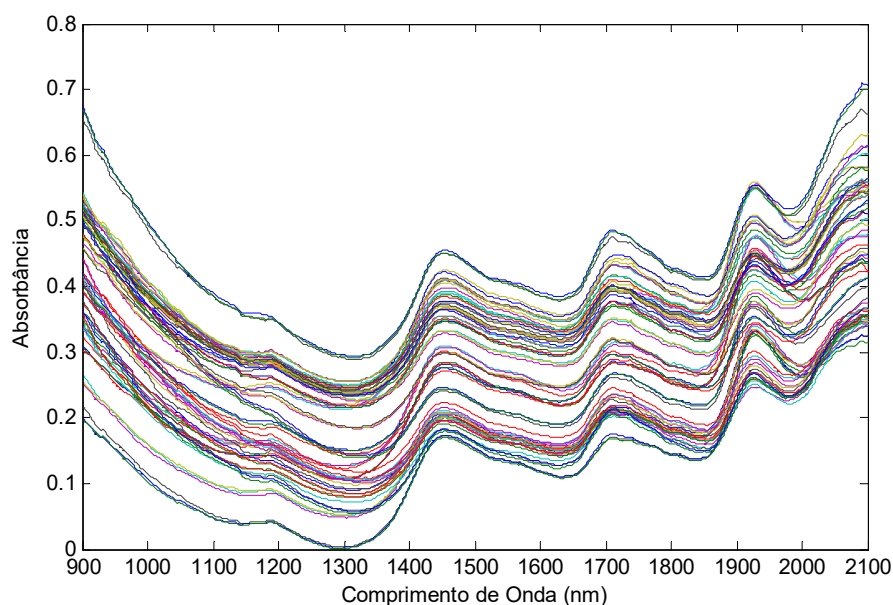


Figura 18 – Espectros de Infravermelho Próximo originais, das 24 amostras de café em triplicata.

Os espectros obtidos são semelhantes aos observados por Madeira (2015), a banda de absorção que aparece próximo de 1450 nm corresponde ao primeiro sobretom de estiramento de O-H, e a banda próximo de 1920 nm à banda de combinação de estiramento e deformação angular de O-H, ambas relacionadas a presença de água (JIANG e CHEN, 2015). A região de 1200 nm, onde pode ser observada uma pequena banda de absorção está relacionada ao segundo sobretom de ligações de C-H, C-H₂ e C-H₃, assim como a região de 1700 nm, que está

relacionada ao primeiro sobretudo das mesmas ligações de carbono e hidrogênio, e também às ligações de C-H ligados a anéis aromáticos. A região de 1900 nm, além de representar ligações relacionadas a água, também está relacionada ao segundo sobretudo de COOH de ácidos carboxílicos e ésteres (SIESLER, 2007). O café é uma matéria-prima complexa que contém diversos compostos como: carboidratos, cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos, ácidos carboxílicos, proteínas, entre outros, os quais compartilham de ligações de OH, CH, NH e outras que são identificadas pela espectroscopia no infravermelho próximo, como sobretudo e bandas de combinações. Portanto, não é possível afirmar que bandas correspondem a grupos específicos, sendo necessária a utilização de estatística multivariada para obter melhores resultados.

Na figura 18, pode ser observada a presença de desvios não lineares de linha de base causados pelo espalhamento multiplicativo de luz, comum em medidas de reflectância difusa (BOTELHO e SENA, 2014). A Correção de Espalhamento Multiplicativo (MSC) foi utilizada como pré-processamento para resolução do problema, e em seguida os dados foram centrados na média. O resultado do pré-processamento por MSC pode ser observado na Figura 19.

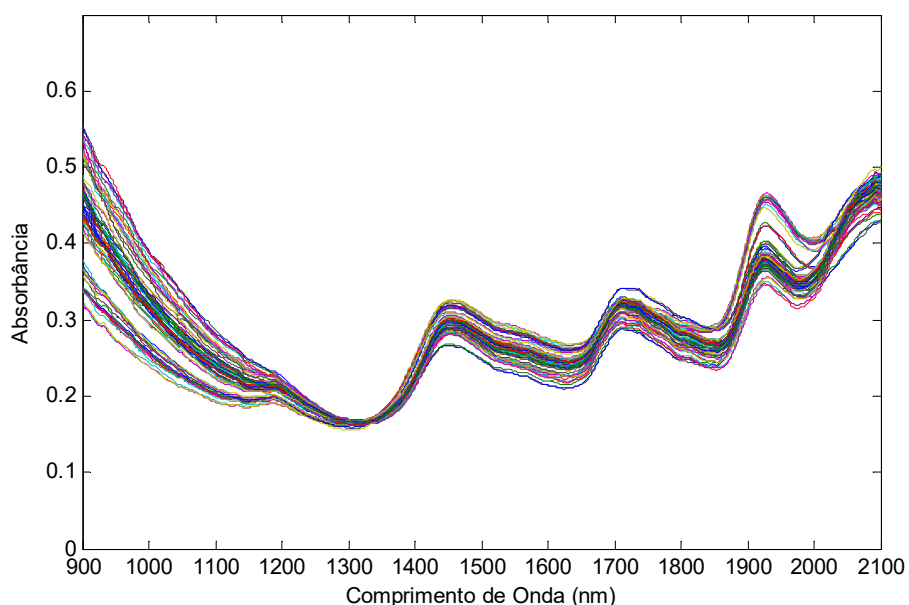


Figura 19 – Espectros NIR após pré-processamento MSC.

A Análise por Componentes Principais (PCA) foi realizada para observação geral do comportamento dos dados, onde duas componentes principais foram

escolhidas para o modelo por explicarem juntas 99,04% da variância, sendo que a componente principal 1 (PC1) explica 91,80% e a componente principal 2 (PC2) explica 7,24%. Na figura 20, é apresentado o gráfico de PC1 contra a PC2.

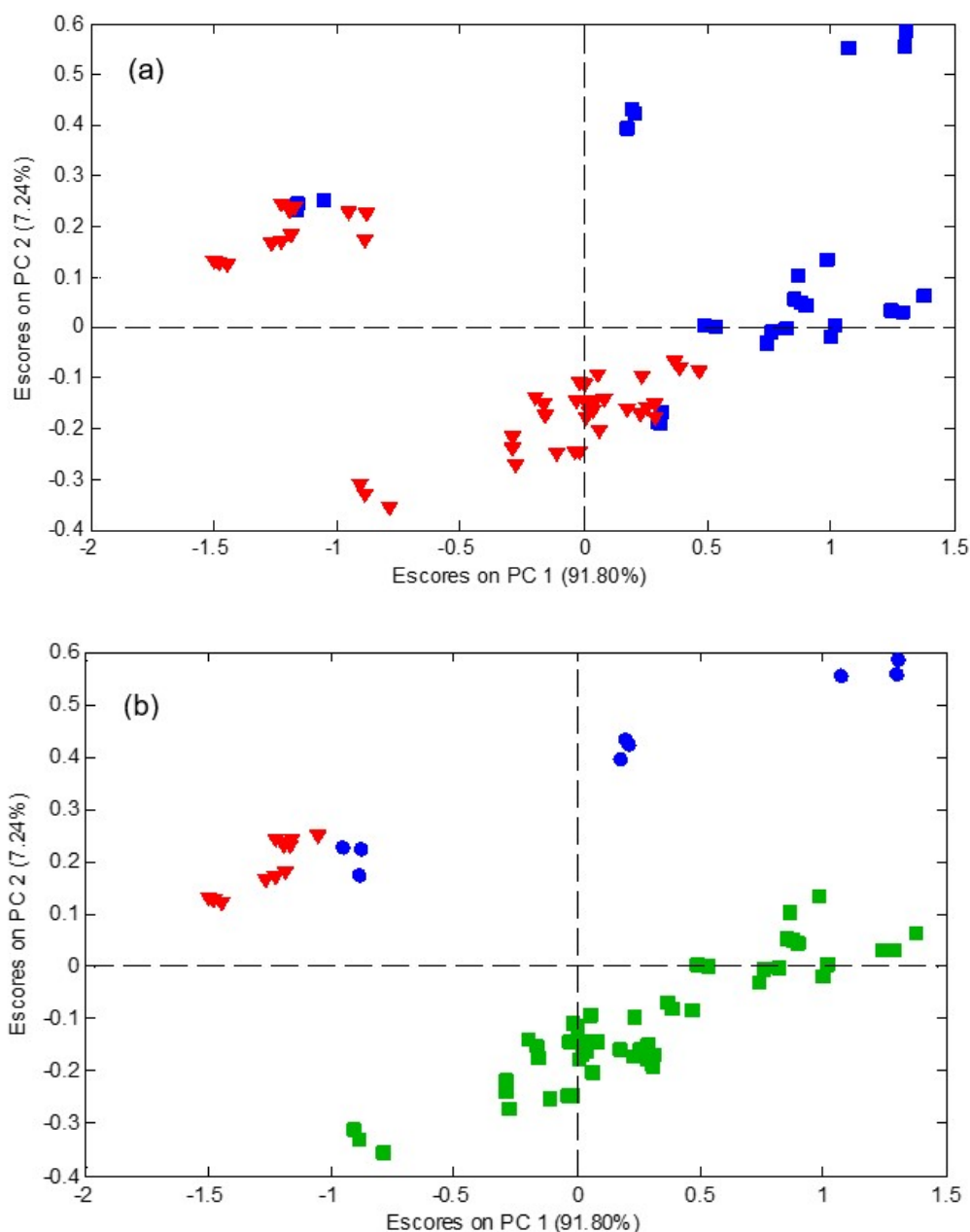


Figura 20 – PCA dos dados espectrais, PC1xPC2, variância explicada 99,04%. (a) Diferentes Intensidades (▼ – Menos Intenso e ■ – Mais Intenso), (b) Diferentes Marcas (▼ – Espresso Blend, ● – Mitsuo Nakao e ■ – Nespresso).

Na PC1, pode-se observar uma possível separação entre cafés de diferentes intensidades, onde os cafés menos intensos estão localizados na região mais negativa

e os mais intensos na região positiva de PC1, com exceção de algumas amostras (figura 20a). Esta diferença de intensidade ocorre devido a diferenças entre as torrações dos cafés, principalmente, mas também pela origem e espécie dos grãos que causam modificações na composição. Já na PC2 podemos observar uma possível separação entre as diferentes marcas, onde a marca Nespresso encontra-se na região negativa e as demais marcas na região positiva de PC2 (figura20b). Esta diferença pode ser devido a diversos motivos, por exemplo, tipo de acondicionamento e granulometria do pó. As cápsulas da Nespresso são mais resistentes ocorrendo pouca ou nenhuma degradação dos cafés, diferente das cápsulas da EspressoBlend e MitsuoNakao que permitem a passagem de substâncias, podendo ocorrer perdas. Quanto à granulometria, os cafés Nespresso possuem pó mais fino e homogêneo, com a maioria do pó retido na peneira de 60 mesh, diferente das demais, conforme pode ser observado na tabela13.

Tabela 13 – Granulometria entre as diferentes marcas de café.

| Peneira (Mesh / abertura em mm) | Massa Retida Marca Nespresso | Massa retida Marca Mitsuo Nakao | Massa retida Marca Espresso Blend |
|--|-------------------------------------|--|--|
| 20 / 0,85 | 0,0% | 5,9% | 2,2% |
| 35 / 0,42 | 28,5% | 59,9% | 68,8% |
| 60 / 0,25 | 63,3% | 27,7% | 22,9% |
| 100 / 0,15 | 6,7% | 4,8% | 3,9% |
| Fundo | 0,0% | 1,7% | 1,2% |

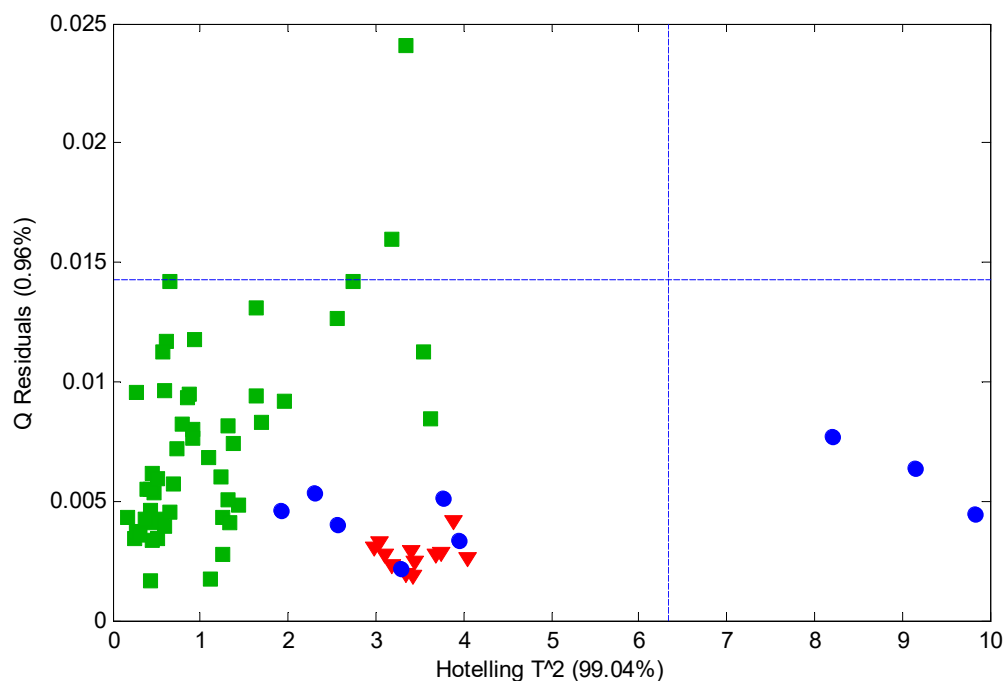


Figura 21 – Gráfico T^2 de Hotelling x Resíduos Q para o modelo de PCA.

Analisando o gráfico de T^2 de Hotelling contra Resíduos Q (figura 21), é possível observar um ponto mais acima no gráfico correspondente a uma replicata dos espectros da amostra Nespresso Bukeela. É possível observar também que uma das amostras, Mitsuo Nakao Mundo Novo, se encontra mais a direita do gráfico, indicando que ela possui grande influência para este modelo de PCA. Como nenhum dos pontos teve alto valor de Resíduos Q e ao mesmo tempo alto valor de T^2 de Hotelling, não foi retirado nenhum dado da análise exploratória.

Através da análise de PCA podemos inferir que a análise por espectroscopia no infravermelho próximo pode ser utilizada para análises de cafés, já que foi possível identificar separações por marcas e também por intensidade das amostras.

5.6. MODELOS DE REGRESSÃO PARA OS ATRIBUTOS SENSORIAIS E PARA ÁCIDO CLOROGÊNICO E ÁCIDO CÍTRICO POR PLS E PLSDA

Para a construção dos modelos de regressão foram utilizados os valores obtidos de cada análise e os 72 espectros NIR provenientes das 24 amostras de café. Os dados foram divididos em dois conjuntos, calibração e validação, pelo método de

Kennard-Stone, de forma a garantir a presença das amostras mais representativas no conjunto de calibração (KENNARD e STONE, 1969). Na formação do conjunto de calibração foram selecionados 50 espectros e os 22 espectros restantes foram utilizados para formar o conjunto de validação externa. A validação cruzada, para a escolha do número de variáveis latentes através do menor valor de RMSECV, foi realizada pelo método *leave-one-out*. A seleção de variáveis para cada modelo foi realizada a partir do método OPS, utilizando a matriz de dados tratada por MSC, pois os modelos sem a seleção de variáveis apresentaram erros elevados. A seleção de variáveis é essencial, pois a sobreposição das informações fornecidas pelo infravermelho próximo dificulta a seleção visual e neste método, as variáveis mais preditivas são identificadas em ordem decrescente a partir de uma estratégia de validação cruzada, e então é selecionado um subconjunto reduzido de variáveis (TEÓFILO, MARTINS e FERREIRA, 2008). Em todos os modelos PLS foram testados os pré-tratamentos: primeira derivada, segunda derivada, MSC e SNV, seguidos da centralização dos dados na média, e a partir dos menores valores de RMSEC e RMSEP, e maiores valores de coeficientes de correlação, foi escolhido o melhor pré-tratamento para cada modelo. Foi realizada a detecção de amostras anômalas (*outliers*) a partir do gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student*. As amostras anômalas consistem em observações diferentes do restante dos dados podendo afetar a precisão do modelo, a *leverage* é uma medida do afastamento da amostra em relação à média dos dados, e o resíduo de *Student* é a medida dos resíduos de cada amostra (RIBEIRO, FERREIRA e AUGUSTO, 2009).

5.6.1. Modelo PLS e PLS-DA para o atributo sensorial acidez

Para a construção do modelo PLS para o atributo sensorial acidez foram selecionadas 300 variáveis correspondentes a 28 regiões destacadas nos espectros originais, na figura 22.

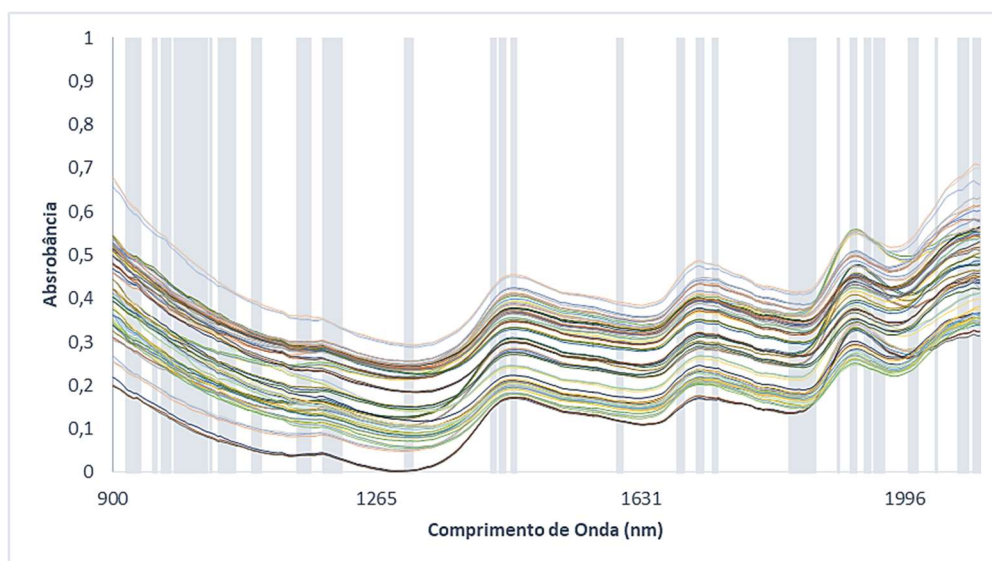


Figura 22 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para o atributo acidez.

Para maior aproveitamento dos dados, foi elaborada uma tabela com as 28 regiões selecionadas para o atributo acidez (tabela 14). Algumas das regiões escolhidas pelo método OPS podem ser relacionadas com bandas de absorção características de acidez, como as bandas na região de 900, 1200 e 1700 nm que são de terceiro, segundo e primeiro sobretom, respectivamente, de ligações de C-H (regiões 1, 2, 11, 12, 18, 19 e 20), na região de 960 e 1440 nm que estão relacionadas com segundo e primeiro sobretom de ligações de O-H (regiões 2, 3, 4, 15 e 16), na região de 2000 nm que estão relacionadas com bandas de combinação de ligações de O-H (regiões 27 e 28) e segundo sobretom de ligações COOH (regiões 23, 24 e 25), característica de ácidos carboxílicos e ésteres (SIESLER, 2007; RIBEIRO, FERREIRA e SALVA, 2011). Estas regiões citadas acima podem estar relacionadas à presença de ácidos como ácido fosfórico, ácidos clorogênicos, ácido quínico e ácidos orgânicos alifáticos que contribuem para a acidez da bebida. Porém, embora ainda não seja claro quais os compostos são responsáveis pela acidez percebida, sabe-se que os ácidos cítrico, málico, acético, quínico e clorogênicos são os ácidos em maior quantidade no grão de café, e pode ser responsável pela acidez sensorial (SANTOS, LOPO, *et al.*, 2016).

Tabela 14 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para o atributo sensorial acidez.

| Regiões selecionadas | Comprimento de onda (nm) | Vibrações correspondentes |
|-----------------------------|---------------------------------|--|
| 1 | 920 – 928 | 3° sobretom de CH, CH ₂ |
| 2 | 932 – 937 | 3° sobretom de CH, CH ₂ e 2° sobretom de OH |
| 3 | 956 – 959 | 2° sobretom de OH |
| 4 | 968 – 979 | 2° sobretom de OH, ArOH |
| 5 | 986 – 1004 | 2° sobretom de OH de H ₂ O |
| 6 | 1007 – 1016 | 2° sobretom de NH |
| 7 | 1021 – 1029 | 2° sobretom de NH |
| 8 | 1035 – 1036 | 2° sobretom de NH |
| 9 | 1048 – 1069 | 2° sobretom de NH |
| 10 | 1093 – 1104 | 2° sobretom de ArCH |
| 11 | 1156 – 1172 | 2° sobretom de CH ₂ e CH ₃ |
| 12 | 1197 – 1215 | 2° sobretom de CH e CH ₂ |
| 13 | 1305 – 1315 | - |
| 14 | 1425 – 1429 | 1° sobretom de ArOH e CH ₂ |
| 15 | 1437 – 1442 | 1° sobretom de CH, OH e CONH ₂ |
| 16 | 1453 – 1457 | 1° sobretom de OH, CH e CONHR |
| 17 | 1599 – 1605 | 1° sobretom de ArCH |
| 18 | 1682 – 1690 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e CH ₃ |
| 19 | 1709 – 1717 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e CH ₃ |
| 20 | 1731 – 1736 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e SH |
| 21 | 1838 – 1871 | 1° sobretom de RCO ₂ H |
| 22 | 1904 – 1905 | 1° sobretom de POH e RCO ₂ H e 2° sobretom de C=O |
| 23 | 1922 – 1929 | 1° sobretom de OH, RCO ₂ R e CONH ₂ e 2° sobretom de C=O |
| 24 | 1942 – 1948 | 1° sobretom de OH, RCO ₂ R e CONH ₂ e 2° sobretom de C=O |

| | | |
|-----------|-------------|--|
| 25 | 1955 – 1967 | 1° sobretom de OH, RCO ₂ R e CONH ₂ e 2° sobretom de C=O |
| 26 | 2003 – 2013 | - |
| 27 | 2071 – 2084 | Bandas de combinação de OH e CONH ₂ |
| 28 | 2092 – 2100 | Bandas de combinação de OH e CONH ₂ |

FONTE: (CONLEY, 1966; WORKMAN e WEYER, 2008).

A escolha do melhor pré-tratamento foi feita de acordo com os parâmetros de RMSEC e RMSEP, sendo que, quanto menores os valores, maior a precisão do modelo. Os resultados obtidos para cada pré-tratamento estão descritos na tabela 15.

Tabela 15 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para o atributo sensorial acidez.

| Pré-tratamento | VL | RMSEC | r_c | RMSEP | r_v |
|-----------------------|-----------|--------------|----------------------|--------------|----------------------|
| Nenhum | 10 | 0,134 | 0,956 | 0,204 | 0,782 |
| 1ª Derivada | 5 | 0,184 | 0,915 | 0,204 | 0,799 |
| 2ª Derivada | 6 | 0,153 | 0,942 | 0,198 | 0,840 |
| MSC | 7 | 0,141 | 0,951 | 0,194 | 0,809 |
| SNV | 5 | 0,192 | 0,908 | 0,222 | 0,754 |

MSC: correção multiplicativa de sinal; SNV: padronização normal de sinal; VL: variável latente; RMSEC: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de calibração; r_c: coeficiente de correlação da calibração; RMSEP: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros da validação; r_v: coeficiente de correlação de validação.

Os modelos pré-tratados com as derivadas apresentaram os menores valores de RMSEC, porém os valores de RMSEP foram maiores, assim como o número de VL. Dessa forma, foi escolhido o modelo que utilizou o pré-tratamento MSC, pois apresentou o menor número de VL, e o menor RMSEP. O número de variáveis latentes foi escolhido baseado no menor valor de RMSECV, conforme apresentado na figura 23.

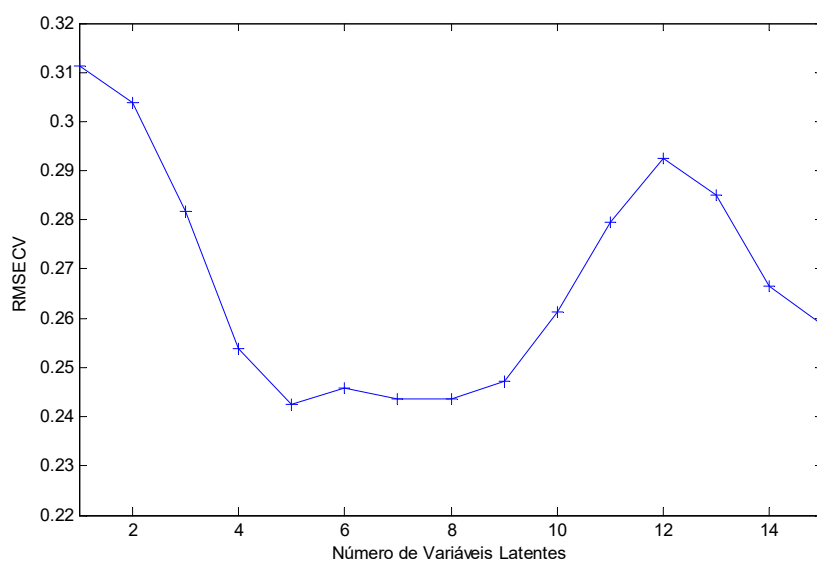


Figura 23 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo pré-tratado com MSC para o atributo sensorial acidez.

Na detecção de amostras anômalas pelo gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* (figura 24), nenhuma das amostras apresentou alto valor de *leverage* e alto resíduo de *Student* simultaneamente e, portanto, não foi necessária a retirada de amostras. Foi utilizado o limite de confiança de 95%.

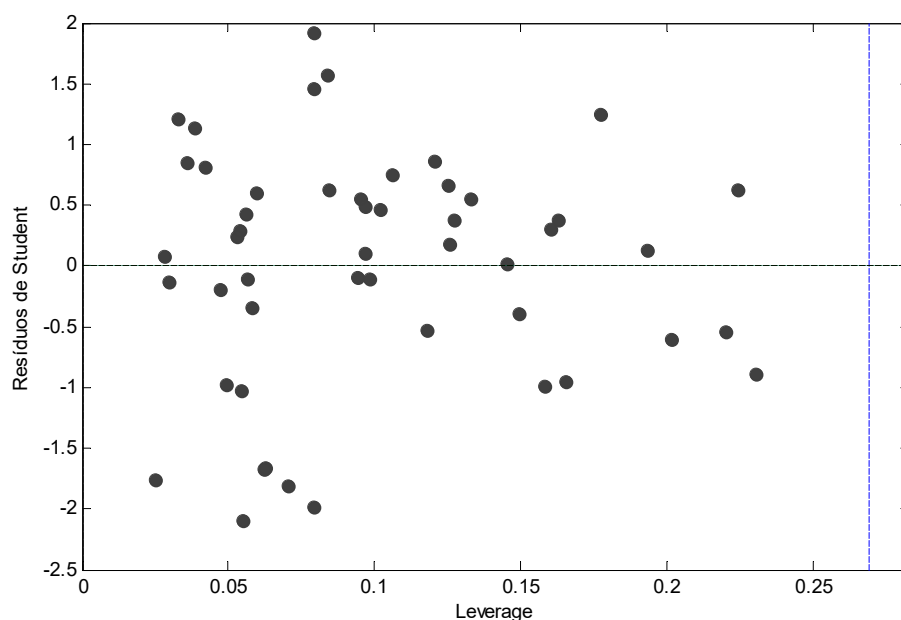


Figura 24 – Gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* para o modelo pré-tratado com MSC para o atributo sensorial acidez.

A correlação entre os dados experimentais e os dados previstos é mostrada na figura 25, no gráfico dos valores experimentais contra os valores previstos. Conforme pode ser observado o modelo apresentou boa correlação entre os dados, com algumas amostras do conjunto de validação menos correlacionadas.

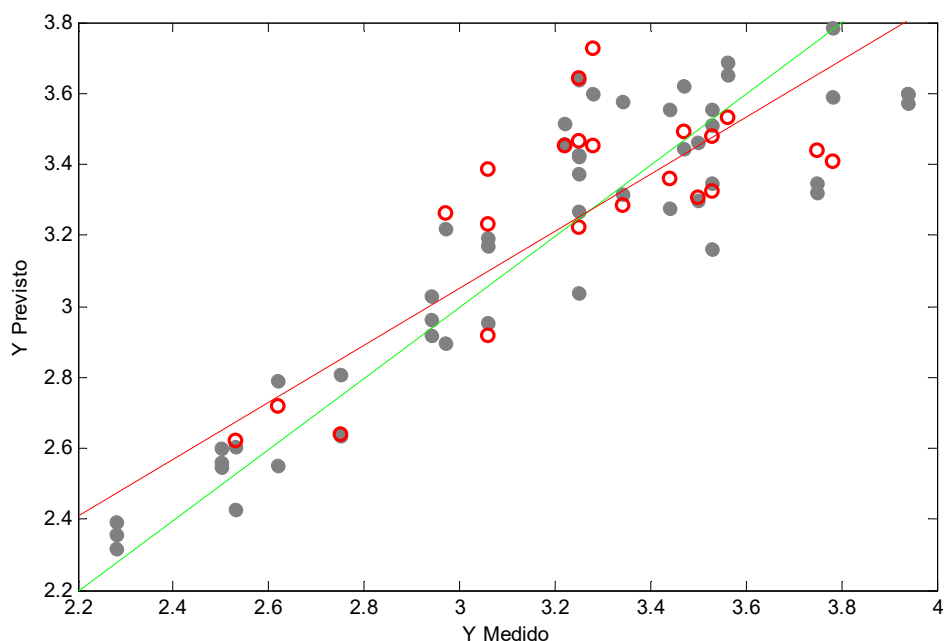


Figura 25 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo pré-tratado com MSC para o atributo sensorial acidez (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação).

O modelo PLS-DA foi utilizado para classificar as amostras de acordo com a avaliação dos provadores, sendo que a menor nota obtida neste atributo foi de 2,28 e a maior nota de 3,94. Conforme a escala avaliada, foram definidas três classes para o modelo: “acidez desagradável” (notas de 2,28 a 2,75), “indiferente” (notas de 2,75 a 3,25) e “acidez agradável” (notas de 3,25 a 3,94). Diferente do PLS, o número de variáveis latentes é escolhido a partir do menor valor de erro de classificação (CVCE) e não pelo menor valor de RMSECV.

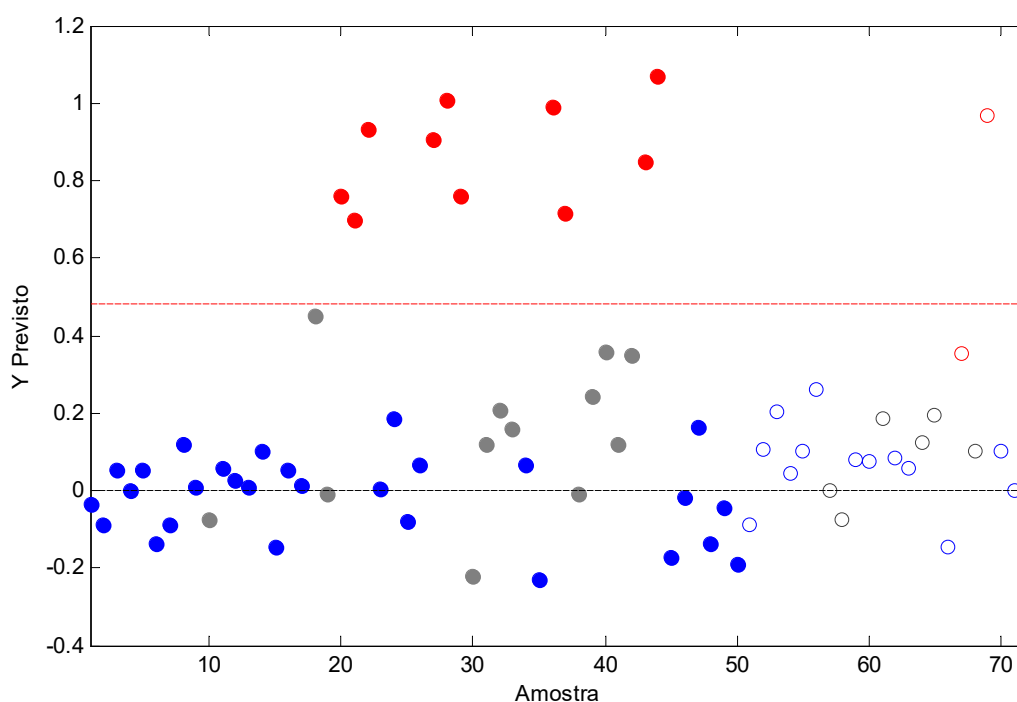


Figura 26 – Gráfico dos valores previstos para o atributo acidez. Conjunto de treinamento: acidez desagradável (●), indiferente (●) e acidez agradável (●). Conjunto de teste: acidez desagradável (○), indiferente (○) e acidez agradável (○).

Para este modelo foram utilizadas quatro variáveis latentes, os parâmetros estatísticos indicaram valores de sensibilidade e especificidade de 1,00 para o conjunto de treinamento e bons valores de coeficientes de correlação ($r_c = 0,915$ e $r_v = 0,758$). O gráfico das amostras contra os valores previstos é apresentado na figura 26, e através dela é possível observar a separação das classes de forma correta, onde ocorreu a separação das amostras de acidez agradável das amostras de acidez desagradável, e as amostras classificadas como indiferente estão presentes nos dois grupos.

5.6.2. Modelo PLS e PLS-DA para o atributo sensorial aroma

Para a construção do modelo PLS para o atributo sensorial aroma foram selecionadas 130 variáveis correspondentes a 15 regiões destacadas nos espectros originais, na figura 27.

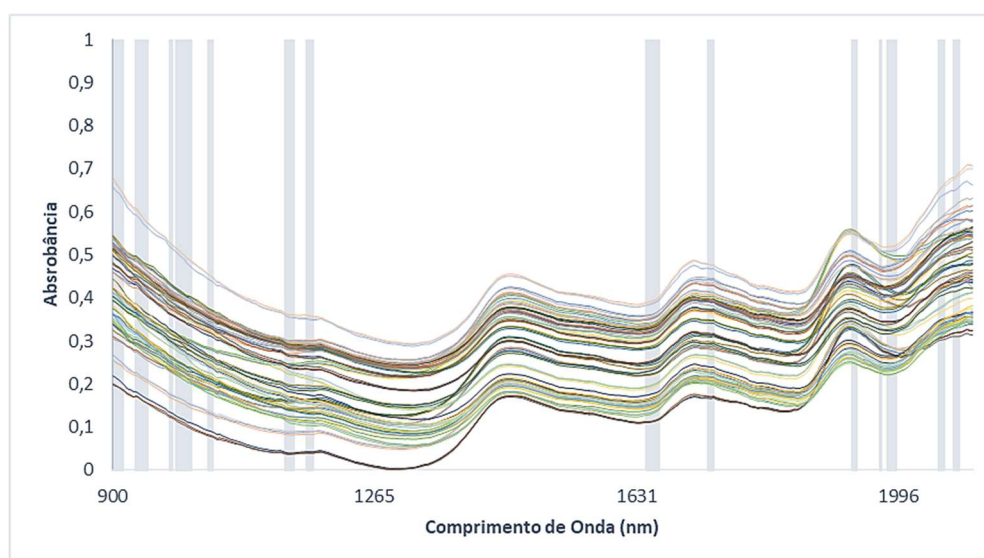


Figura 27 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para o atributo aroma.

As regiões selecionadas para o atributo aroma correspondem a diversas ligações e compostos, como ligações de O-H, C-H, e N-H, que podem estar relacionadas com a presença de carboidratos, proteínas, lipídios, ácidos e outros, de forma que o atributo aroma pode ser influenciado sensorialmente por uma variedade de substâncias presente no café. Ribeiro *et al.* (2009), destaca algumas regiões como, em 1430 nm relacionada com sacarose e carboidratos, em 1480 nm relacionada com ácidos clorogênicos e fenóis, e em 1700 nm relacionada com lipídios, mostrando a influência de todos os compostos no aroma. Para maior aproveitamento dos dados foi elaborada uma tabela com as 15 regiões selecionadas para o atributo aroma (tabela 16).

Tabela 16 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para o atributo sensorial aroma.

| Regiões selecionadas | Comprimento de onda (nm) | Vibrações correspondentes |
|----------------------|--------------------------|--|
| 1 | 920 – 928 | 3° sobretom de CH, CH ₂ |
| 2 | 931 – 934 | 3° sobretom de CH, CH ₂ e 2° sobretom de OH |
| 3 | 953 – 967 | 2° sobretom de OH, ArOH |
| 4 | 1000 – 1002 | 2° sobretom de NH |
| 5 | 1010 - 1029 | 2° sobretom de NH |

| | | |
|----|-------------|--|
| 6 | 1054 - 1059 | 2° sobretom de NH |
| 7 | 1162 - 1172 | 2° sobretom de CH ₂ e CH ₃ |
| 8 | 1191 – 1198 | 2° sobretom de CH e CH ₂ |
| 9 | 1665 - 1681 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e CH ₃ |
| 10 | 1752 – 1757 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e SH |
| 11 | 1953 – 1958 | 1° sobretom de OH, RCO ₂ R e CONH ₂ e 2° sobretom de C=O |
| 12 | 1991 – 1992 | - |
| 13 | 2002 – 2012 | - |
| 14 | 2074 – 2079 | Bandas de combinação de OH |
| 15 | 2095 - 2100 | Bandas de combinação de OH |

FONTE: (CONLEY, 1966; WORKMAN e WEYER, 2008).

A escolha do melhor pré-tratamento foi feita de acordo com os parâmetros de RMSEC e RMSEP, sendo que, quanto menores os valores, maior a precisão do modelo. Os resultados obtidos para cada pré-tratamento estão descritos da tabela 17.

Tabela 17 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para o atributo sensorial aroma.

| Pré-tratamento | VL | RMSEC | r _c | RMSEP | r _v |
|--------------------|----------|--------------|----------------|--------------|----------------|
| Nenhum | 7 | 0,128 | 0,904 | 0,199 | 0,730 |
| 1ª Derivada | 6 | 0,121 | 0,915 | 0,191 | 0,752 |
| 2ª Derivada | 10 | 0,101 | 0,941 | 0,185 | 0,769 |
| MSC | 6 | 0,125 | 0,909 | 0,215 | 0,686 |
| SNV | 6 | 0,130 | 0,902 | 0,215 | 0,679 |

MSC: correção multiplicativa de sinal; SNV: padronização normal de sinal; VL: variável latente; RMSEC: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de calibração; r_c: coeficiente de correlação da calibração; RMSEP: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros da validação; r_v: coeficiente de correlação de validação.

O modelo sem nenhum pré-tratamento, apenas com os dados centrados na média apresentou menores valores de RMSEC e RMSEP, e maiores valores de coeficientes de correlação, sendo este o modelo escolhido. O número de variáveis latentes foi escolhido baseado no menor valor de RMSECV, conforme apresentado na figura 28.

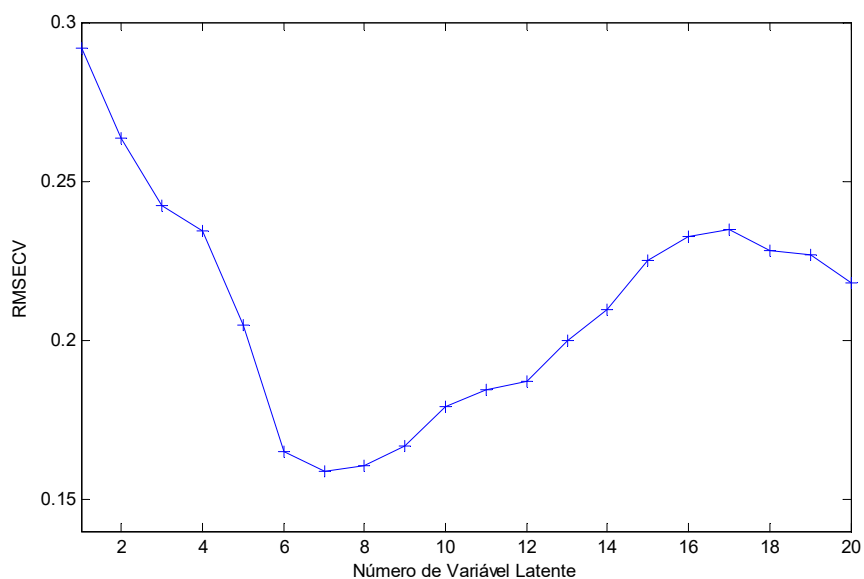


Figura 28 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo sem pré-tratamento para o atributo sensorial aroma.

Na detecção de amostras anômalas pelo gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* (figura 29), nenhuma das amostras apresentou alto valor de *leverage* e alto resíduo de *Student* simultaneamente e, portanto, não foi necessária a retirada de amostras. Foi utilizado o limite de confiança de 95%.

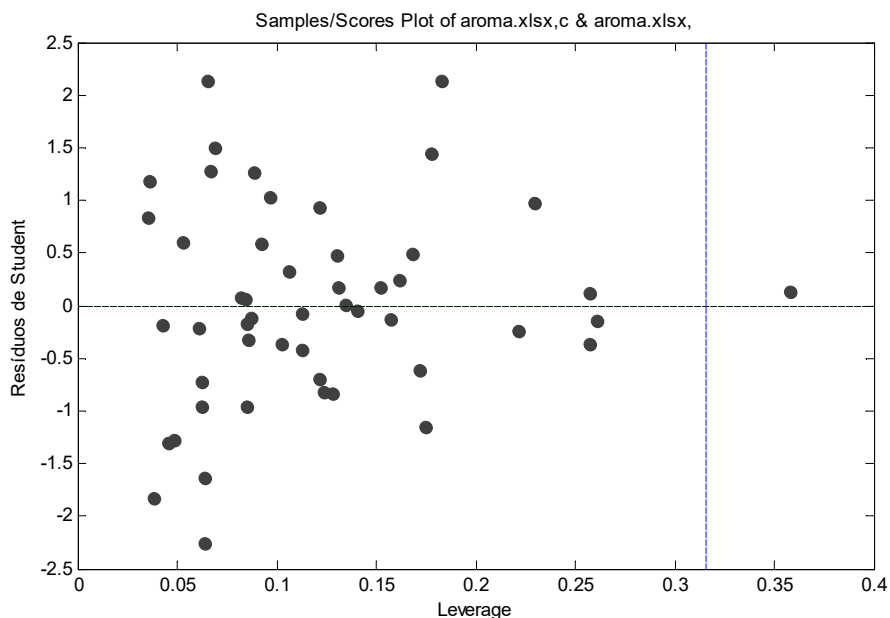


Figura 29 – Gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* para o modelo sem nenhum pré-tratamento para o atributo sensorial aroma.

A correlação entre os dados experimentais e os dados previstos é mostrada na figura 30, no gráfico dos valores experimentais contra os valores previstos. Conforme pode ser observado o modelo apresentou boa correlação entre os dados.

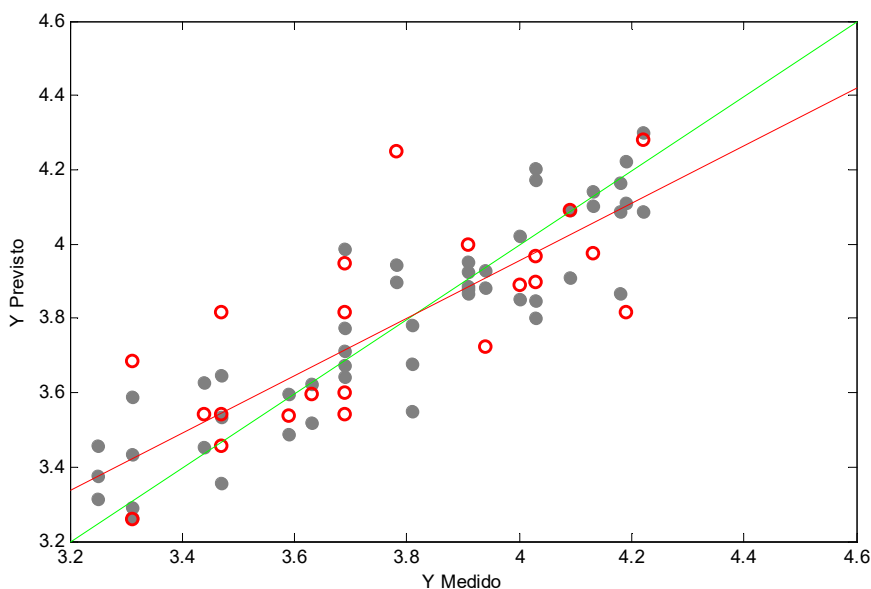


Figura 30 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo sem nenhum pré-tratamento para o atributo sensorial aroma (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação).

O modelo PLS-DA foi utilizado para classificar as amostras de acordo com a avaliação dos provadores, sendo que a menor nota obtida neste atributo foi de 3,25 e a maior nota de 4,22. Conforme a escala avaliada, foram definidas apenas duas classes para o modelo: “aroma pouco intenso e agradável” (notas até 3,7) e “aroma intenso e agradável” (notas maiores que 3,7). Diferente do PLS, o número de variáveis latentes é escolhido a partir do menor valor de erro de classificação (CVCE) e não pelo menor valor de RMSECV.

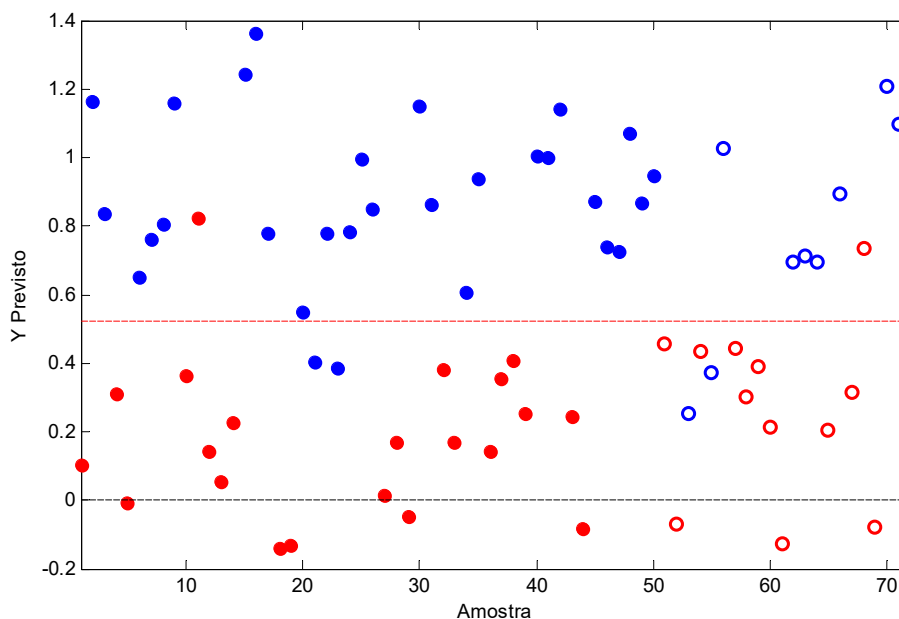


Figura 31 – Gráfico dos valores previstos para as classes: aroma intenso e agradável (●) e aroma pouco intenso e agradável (○); (● – conjunto de treinamento e ● – conjunto de teste).

Para este modelo foram utilizadas sete variáveis latentes, os parâmetros estatísticos indicaram valores de sensibilidade de 0,931 e especificidade de 0,952 para o conjunto de treinamento e bons valores de coeficientes de correlação ($r_c = 0,836$ e $r_v = 0,696$). O gráfico das amostras contra os valores previstos é apresentado na figura 31, e através dela é possível observar a separação das classes, com algumas amostras do conjunto de validação sendo classificadas erradas, o que pode ser a causa de um baixo valor de r_v .

5.6.3. Modelo PLS e PLS-DA para o atributo sensorial sabor

Para a construção do modelo PLS para o atributo sensorial sabor foram selecionadas 150 variáveis correspondentes a 18 regiões destacadas nos espectros originais, na figura 32.

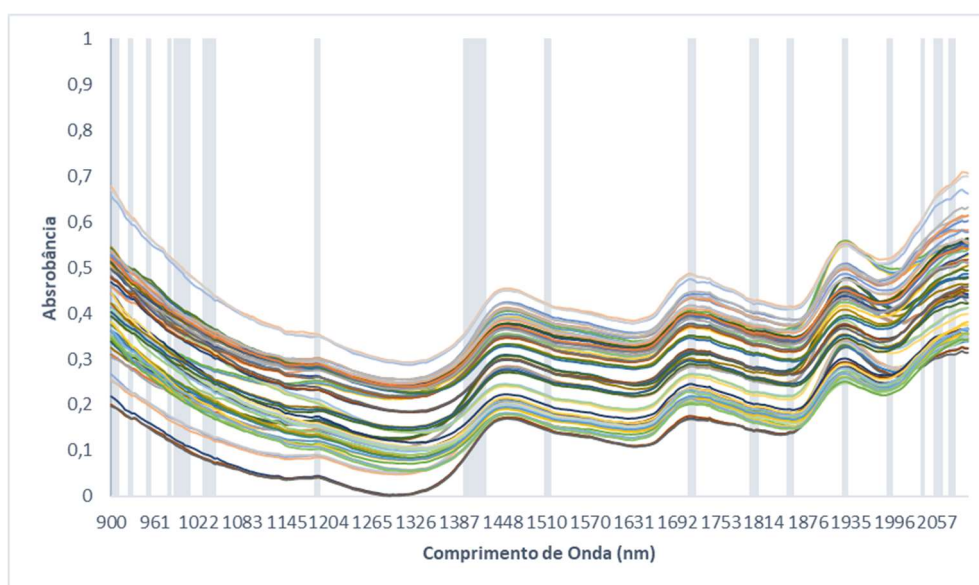


Figura 32 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para o atributo sabor.

As regiões selecionadas para o atributo sabor correspondem a diversas ligações e compostos, e assim como o atributo aroma pode ser influenciado sensorialmente por uma variedade de substâncias presentes no café, como proteínas, carboidratos, ácidos e lipídios. Para maior aproveitamento dos dados foi elaborada uma tabela com as 18 regiões selecionadas para o atributo aroma (tabela 18).

Tabela 18 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para o atributo sensorial sabor.

| Regiões selecionadas | Comprimento de onda (nm) | Vibrações correspondentes |
|----------------------|--------------------------|--|
| 1 | 919 – 928 | 3° sobretom de CH, CH ₂ |
| 2 | 945 – 948 | 3° sobretom de CH, CH ₂ e 2° sobretom de OH |
| 3 | 970 – 973 | 2° sobretom de OH, ArOH |
| 4 | 999 – 1001 | 2° sobretom de OH de H ₂ O |
| 5 | 1008 – 1017 | 2° sobretom de NH |
| 6 | 1021 – 1028 | 2° sobretom de NH |
| 7 | 1049 – 1064 | 2° sobretom de NH |
| 8 | 1205 – 1209 | 2° sobretom de CH e CH ₂ |
| 9 | 1414 – 1442 | 1° sobretom de ArOH e CH ₂ |
| 10 | 1527 – 1533 | 1° sobretom de NH |

| | | |
|----|-------------|--|
| 11 | 1729 – 1735 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e SH |
| 12 | 1815 – 1823 | 1° sobretom de RCO ₂ H |
| 13 | 1867 – 1873 | 1° sobretom de RCO ₂ H |
| 14 | 1945 – 1949 | 1° sobretom de OH, RCO ₂ R e CONH ₂ e 2° sobretom de C=O |
| 15 | 2007 – 2012 | - |
| 16 | 2054 – 2056 | Bandas de combinação de OH |
| 17 | 2072 – 2081 | Bandas de combinação de OH |
| 18 | 2094 – 2100 | Bandas de combinação de OH e CONH ₂ |

FONTE: (CONLEY, 1966; WORKMAN e WEYER, 2008).

A escolha do melhor pré-tratamento foi feita de acordo com os parâmetros de RMSEC e RMSEP, sendo que, quanto menores os valores, maior a precisão do modelo. Os resultados obtidos para cada pré-tratamento estão descritos da tabela 19.

Tabela 19 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para o atributo sensorial sabor.

| Pré-tratamento | VL | RMSEC | r _c | RMSEP | r _v |
|----------------|----------|--------------|----------------|--------------|----------------|
| Nenhum | 6 | 0,268 | 0,917 | 0,328 | 0,848 |
| 1ª Derivada | 5 | 0,245 | 0,932 | 0,394 | 0,767 |
| 2ª Derivada | 6 | 0,236 | 0,936 | 0,380 | 0,792 |
| MSC | 6 | 0,221 | 0,944 | 0,362 | 0,811 |
| SNV | 6 | 0,226 | 0,942 | 0,362 | 0,809 |

MSC: correção multiplicativa de sinal; SNV: padronização normal de sinal; VL: variável latente; RMSEC: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de calibração; r_c: coeficiente de correlação da calibração; RMSEP: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros da validação; r_v: coeficiente de correlação de validação.

O modelo escolhido foi o pré-tratado com SNV e centrados na média, que apesar de não possuir o menor valor de RMSEC, ele possui o menor valor de RMSEP com um baixo número de variáveis latentes, e bons valores de coeficientes de correlação. O número de variáveis latentes foi escolhido baseado no menor valor de RMSECV, conforme apresentado na figura 33.

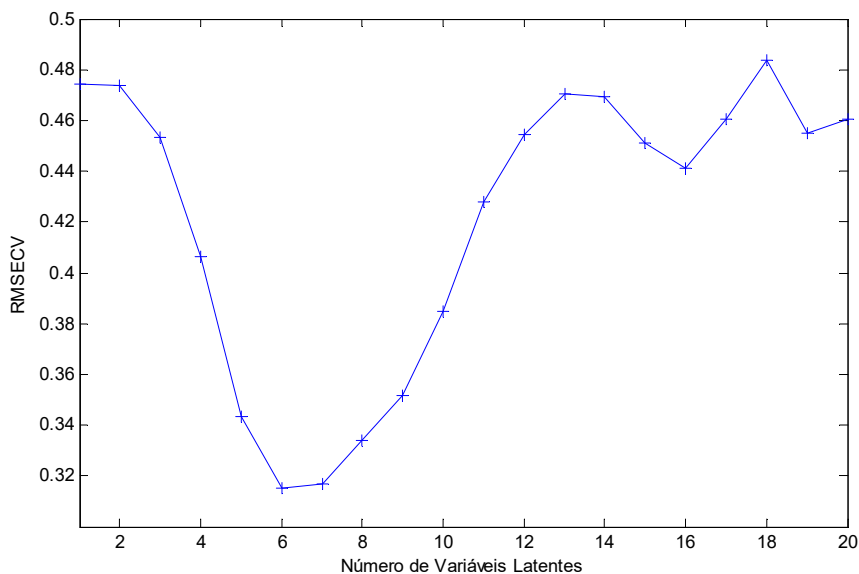


Figura 33 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo com o pré-tratamento SNV para o atributo sensorial sabor.

Na detecção de amostras anômalas pelo gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* (figura 34), duas amostras apresentaram alto valor de *leverage* e resíduo de *Student* simultaneamente e, portanto, foram retiradas do modelo. Foi utilizado o limite de confiança de 95%.

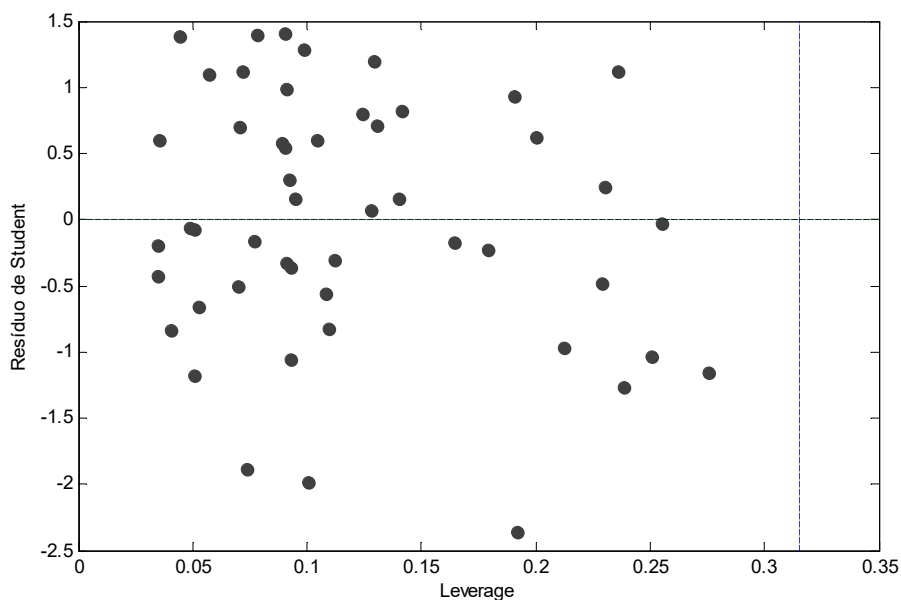


Figura 34 – Gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* para o modelo com o pré-tratamento SNV para o atributo sensorial sabor.

A correlação entre os dados experimentais e os dados previstos é mostrada na figura 35, no gráfico dos valores experimentais contra os valores previstos. Conforme pode ser observado o modelo apresentou boa correlação entre os dados.

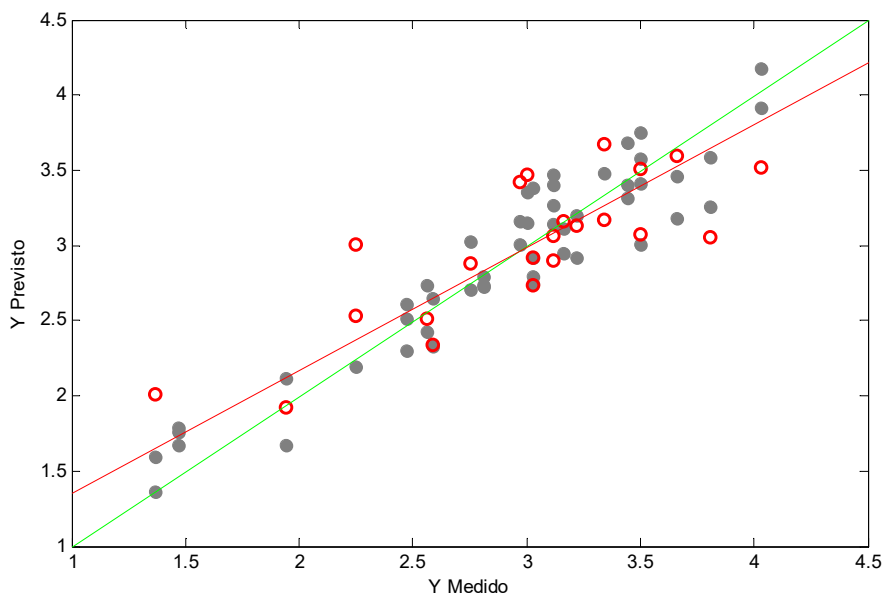


Figura 35 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo pré-tratado com SNV para o atributo sensorial sabor (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação).

O modelo PLS-DA foi utilizado para classificar as amostras de acordo com a avaliação dos provadores, sendo que a menor nota obtida neste atributo foi de 1,37 e a maior nota de 4,03. Conforme a escala avaliada, foram definidas três classes para o modelo: “sabor desagradável” (notas menores que 2,75), “sabor indiferente” (notas de 2,75 a 3,25) e “sabor agradável” (notas maiores que 3,25). Diferente do PLS, o número de variáveis latentes é escolhido a partir do menor valor de erro de classificação (CVCE) e não pelo menor valor de RMSECV.

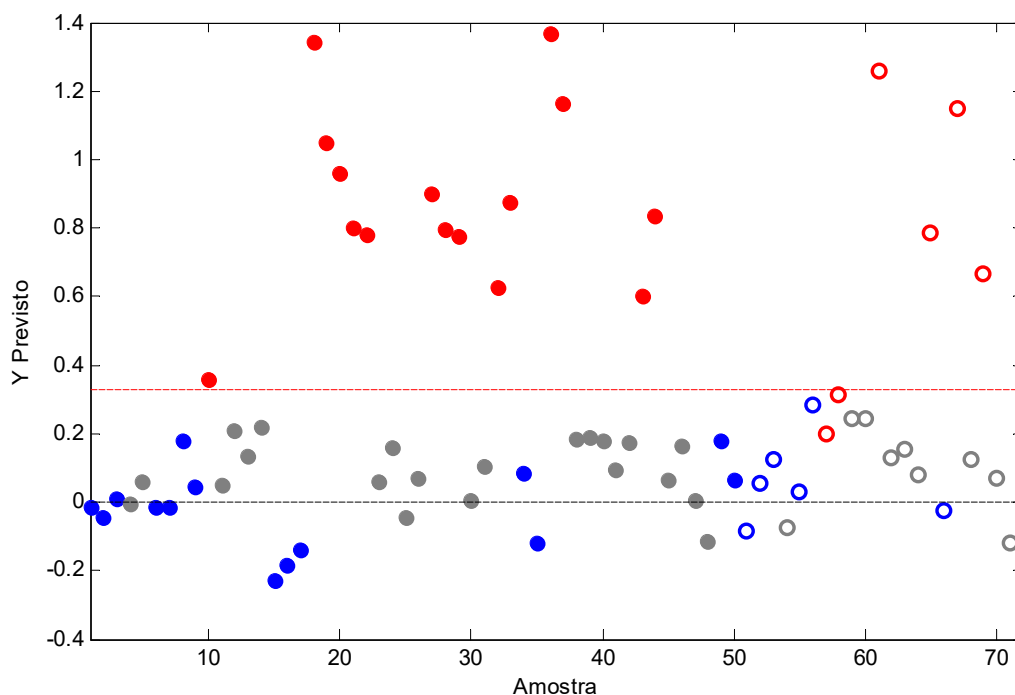


Figura 36 – Gráfico dos valores previstos para o atributo sabor. Conjunto de treinamento: sabor desagradável (●), indiferente (●) e sabor agradável (●). Conjunto de teste: sabor desagradável (○), indiferente (○) e sabor agradável (○).

Para este modelo foram utilizadas cinco variáveis latentes, os parâmetros estatísticos indicaram valores de sensibilidade de 0,933 e especificidade de 1,000 para o conjunto de treinamento e bons valores de coeficientes de correlação ($r_c = 0,912$ e $r_v = 0,785$). O gráfico das amostras contra os valores previstos é apresentado na figura 36, e através dela é possível observar a separação das classes de forma correta, onde ocorreu a separação das amostras de acidez desagradável, e as amostras classificadas como indiferente estão presentes nos dois grupos.

5.6.4. Modelo PLS e PLS-DA para ácido clorogênico

Para a construção do modelo PLS para o ácido clorogênico foram selecionadas 150 variáveis correspondentes a 18 regiões destacadas nos espectros originais, na figura 37.

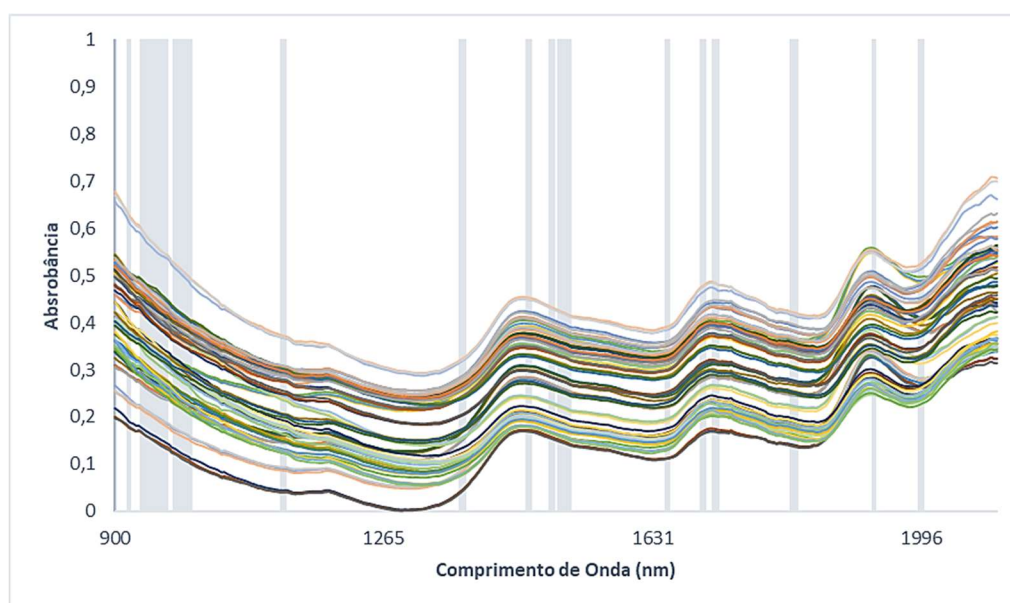


Figura 37 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para ácido clorogênico.

As regiões selecionadas podem ser associadas com bandas de absorção características do ácido clorogênico, como as bandas na região 900 a 950 nm relacionadas ao terceiro sobretom de ligações de C-H e ao segundo sobretom de ligações de O-H (regiões 1, 2, 3 e 4), de 1200 e 1700 nm que são de segundo e primeiro sobretom, respectivamente, de ligações de C-H (regiões 8, 13, 14 e 15), na região de 1440 nm que estão relacionadas com primeiro sobretom de ligações de O-H (região 9), na região de 2000 nm que estão relacionadas com bandas de combinação de ligações de O-H e segundo sobretom de ligações COOH (regiões 17 e 18) (SIESLER, 2007; RIBEIRO, FERREIRA e SALVA, 2011). Barbin (2014) identifica bandas nas regiões de 1400 - 1600nm (regiões 9, 10, 11 e 12), 1900 – 1950 nm e 2100 nm (regiões 17 e 18) como referentes a ácidos clorogênicos. Para maior aproveitamento dos dados foi elaborada uma tabela com as 18 regiões selecionadas para o atributo aroma (tabela 20).

Tabela 20 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para ácido clorogênico.

| Regiões selecionadas | Comprimento de onda (nm) | Vibrações correspondentes |
|----------------------|--------------------------|--|
| 1 | 914 – 918 | 3° sobretom de CH, CH ₂ |
| 2 | 928 – 938 | 3° sobretom de CH, CH ₂ e 2° sobretom de OH |

| | | |
|----|-------------|--|
| 3 | 946 – 949 | 3° sobretom de CH, CH ₂ e 2° sobretom de OH |
| 4 | 967 – 969 | 2° sobretom de OH, ArOH |
| 5 | 985 - 1006 | 2° sobretom de OH de H ₂ O |
| 6 | 1010 - 1019 | 2° sobretom de NH |
| 7 | 1030 - 1052 | 2° sobretom de NH |
| 8 | 1175 – 1180 | 2° sobretom de CH ₂ e CH ₃ |
| 9 | 1419 - 1425 | 1° sobretom de ArOH e CH ₂ |
| 10 | 1510 – 1514 | 1° sobretom de NH |
| 11 | 1541 – 1545 | 1° sobretom de NH |
| 12 | 1552 – 1568 | 1° sobretom de ArCH |
| 13 | 1699 – 1702 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e CH ₃ |
| 14 | 1746 – 1751 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e SH |
| 15 | 1763 – 1769 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e SH |
| 16 | 1869 – 1876 | 1° sobretom de RCO ₂ H |
| 17 | 1981 – 1982 | 1° sobretom de OH, RCO ₂ R e CONH ₂ e 2° sobretom de C=O |
| 18 | 2043 – 2047 | Bandas de combinação de OH |

FONTE: (CONLEY, 1966; WORKMAN e WEYER, 2008).

A escolha do melhor pré-tratamento foi feita de acordo com os parâmetros de RMSEC e RMSEP, sendo que, quanto menores os valores, maior a precisão do modelo. Os resultados obtidos para cada pré-tratamento estão descritos da tabela 21.

Tabela 21 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para ácido clorogênico.

| Pré-tratamento | VL | RMSEC | r _c | RMSEP | r _v |
|----------------|----------|--------------|----------------|--------------|----------------|
| Nenhum | 6 | 0,038 | 0,976 | 0,038 | 0,941 |
| 1ª Derivada | 6 | 0,037 | 0,977 | 0,056 | 0,952 |
| 2ª Derivada | 8 | 0,036 | 0,978 | 0,065 | 0,934 |
| MSC | 4 | 0,044 | 0,968 | 0,050 | 0,963 |
| SNV | 5 | 0,035 | 0,979 | 0,048 | 0,962 |

MSC: correção multiplicativa de sinal; SNV: padronização normal de sinal; VL: variável latente; RMSEC: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de calibração; r_c: coeficiente de correlação da calibração; RMSEP: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros da validação; r_v: coeficiente de correlação de validação.

O modelo escolhido foi o pré-tratado com SNV e centrados na média, que apesar de não possuir o menor valor de RMSEC, ele possui o menor valor de RMSEP com sete variáveis latentes, e bons valores de coeficientes de correlação. O número de variáveis latentes foi escolhido baseado no menor valor de RMSECV, conforme apresentado na figura 38.

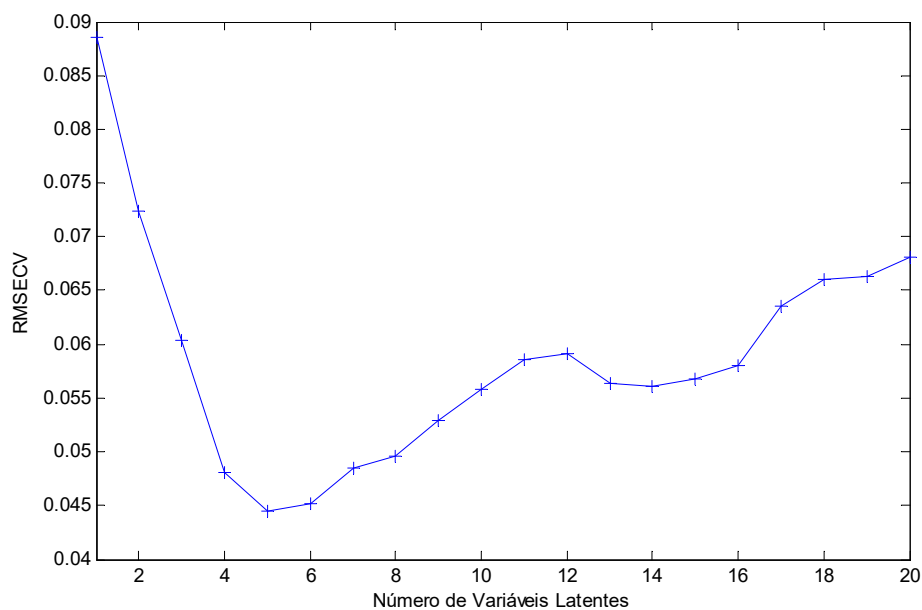


Figura 38 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo com o pré-tratamento SNV para ácido clorogênico.

Na detecção de amostras anômalas pelo gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* (figura 39), nenhuma das amostras apresentou alto valor de *leverage* e alto resíduo de *Student* simultaneamente e, portanto, não foi necessária a retirada de amostras. Foi utilizado o limite de confiança de 95%.

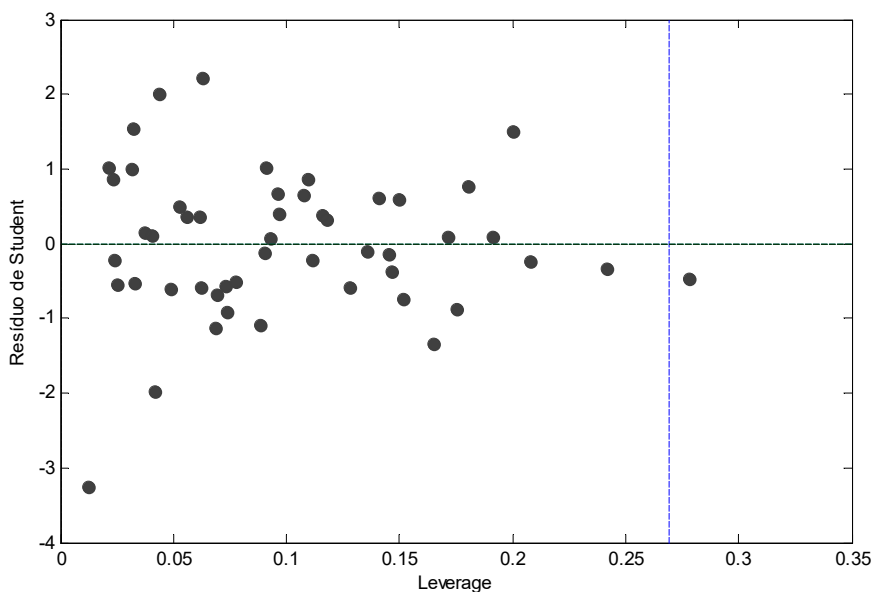


Figura 39 – Gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* para o modelo com pré-tratamento SNV para ácido clorogênico.

A correlação entre os dados experimentais e os dados previstos é mostrada na figura 40, no gráfico dos valores experimentais contra os valores previstos. Conforme pode ser observado o modelo apresentou boa correlação entre os dados.

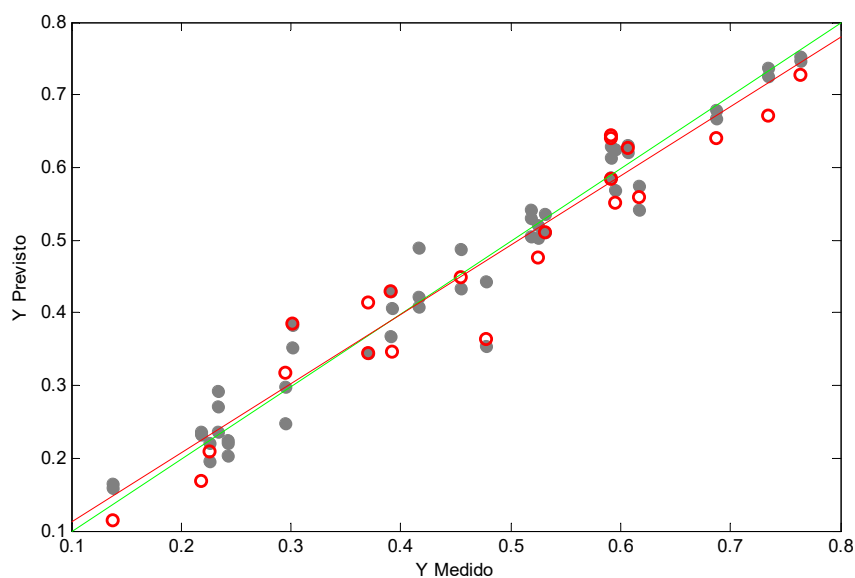


Figura 40 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo pré-tratado com SNV para ácido clorogênico (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação).

O modelo PLS-DA não foi utilizado para o ácido clorogênico, pois os resultados obtidos com o modelo PLS não justificam a utilização do PLS-DA.

5.6.5. Modelo PLS e PLS-DA para ácido cítrico

Para a construção do modelo PLS para o ácido cítrico foram selecionadas 210 variáveis correspondentes a 27 regiões destacadas nos espectros originais, na figura 42.

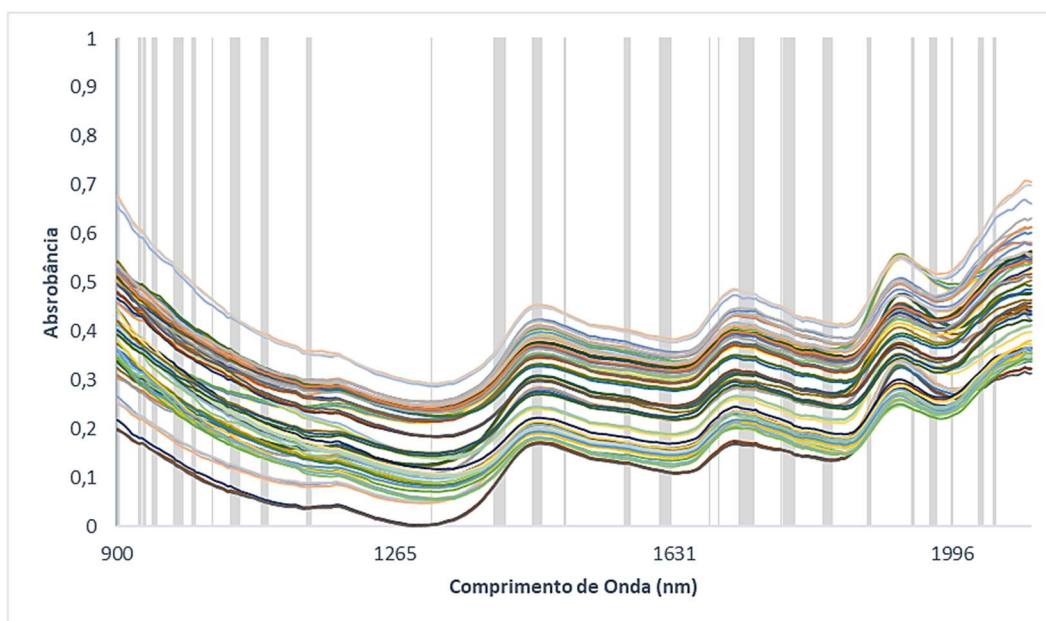


Figura 41 – Variáveis selecionadas pelo método OPS para construção do modelo de regressão para ácido cítrico.

Para maior aproveitamento dos dados foi elaborada uma tabela com as 26 regiões selecionadas para o atributo aroma (tabela 22). As regiões selecionadas podem ser associadas com bandas de absorção características de ácidos, entre eles o ácido cítrico, como as bandas na região 900 a 950 nm relacionadas ao terceiro sobretom de ligações de C-H e ao segundo sobretom de ligações de O-H (regiões 1, 2 e 3), de 1200 e 1700 nm que são de segundo e primeiro sobretom, respectivamente, de ligações de C-H (regiões 9, 17, 18 e 19), na região de 1440 nm que estão relacionadas com primeiro sobretom de ligações de O-H (regiões 12 e 13), na região de 1900 nm que estão relacionadas com bandas de combinação de ligações de O-H e segundo sobretom de ligações COOH (regiões 21, 22 e 23), característica de ácidos carboxílicos e ésteres (SIESLER, 2007; RIBEIRO, FERREIRA e SALVA, 2011).

Tabela 22 – Regiões dos espectros selecionadas pelo método OPS para ácido cítrico.

| Regiões selecionadas | Comprimento de onda (nm) | Vibrações correspondentes |
|-----------------------------|---------------------------------|--|
| 1 | 900 – 902 | 3° sobretom de CH, CH ₂ |
| 2 | 927 – 936 | 3° sobretom de CH, CH ₂ e 2° sobretom de OH |
| 3 | 946 – 952 | 2° sobretom de OH |
| 4 | 974 – 986 | 2° sobretom de OH, ArOH |
| 5 | 998 – 1003 | 2° sobretom de OH de H ₂ O |
| 6 | 1025 | 2° sobretom de NH |
| 7 | 1049 – 1061 | 2° sobretom de NH |
| 8 | 1088 – 1097 | 2° sobretom de ArCH |
| 9 | 1149 – 1154 | 2° sobretom de CH ₂ e CH ₃ |
| 10 | 1313 | - |
| 11 | 1394 – 1409 | 1° sobretom de ArOH e CH ₂ |
| 12 | 1445 – 1457 | 1° sobretom de CH, OH e CONH ₂ |
| 13 | 1486 – 1488 | 1° sobretom de OH, CH e CONHR |
| 14 | 1565 – 1573 | 1° sobretom de ArCH |
| 15 | 1612 – 1626 | 1° sobretom de ArCH |
| 16 | 1677 – 1678 | 1° sobretom de ArCH |
| 17 | 1689 - 1690 | 1° sobretom de CH, CH ₂ e CH ₃ |
| 18 | 1716 – 1735 | 1° sobretom de CH, CH ₂ |
| 19 | 1771 – 1789 | 1° sobretom de CH |
| 20 | 1827 – 1839 | 1° sobretom de RCO ₂ H |
| 21 | 1885 – 1889 | 1° sobretom de RCO ₂ H |
| 22 | 1942 – 1945 | 1° sobretom de OH, RCO ₂ R e CONH ₂ e 2° sobretom de C=O |
| 23 | 1967 – 1976 | 1° sobretom de OH, RCO ₂ R e CONH ₂ e 2° sobretom de C=O |
| 24 | 1995 – 1997 | - |
| 25 | 2031 – 2036 | - |
| 26 | 2050 – 2053 | Bandas de combinação de OH e CONH ₂ |

FONTE: (CONLEY, 1966; WORKMAN e WEYER, 2008).

A escolha do melhor pré-tratamento foi feita de acordo com os parâmetros de RMSEC e RMSEP, sendo que, quanto menores os valores, maior a precisão do modelo. Os resultados obtidos para cada pré-tratamento estão descritos da tabela 23.

Tabela 23 – Resultados dos modelos PLS com diferentes pré-tratamentos para ácido cítrico.

| Pré-tratamento | VL | RMSEC | r_c | RMSEP | r_v |
|----------------|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Nenhum | 5 | 0,128 | 0,656 | 0,147 | 0,564 |
| 1ª Derivada | 4 | 0,137 | 0,592 | 0,143 | 0,586 |
| 2ª Derivada | 5 | 0,133 | 0,622 | 0,133 | 0,649 |
| MSC | 4 | 0,145 | 0,518 | 0,139 | 0,593 |
| SNV | 5 | 0,145 | 0,519 | 0,138 | 0,602 |

MSC: correção multiplicativa de sinal; SNV: padronização normal de sinal; VL: variável latente; RMSEC: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de calibração; r_c : coeficiente de correlação da calibração; RMSEP: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros da validação; r_v : coeficiente de correlação de validação.

O modelo escolhido foi o pré-tratado com MSC e centrados na média, que apesar de não possuir o menor valor de RMSEC, ele possui o menor valor de RMSEP com nove variáveis latentes, e bons valores de coeficientes de correlação. O modelo sem nenhum pré-tratamento apresentou menor valor de RMSEC, porém possui alto número de variáveis latentes. O número de variáveis latentes foi escolhido baseado no menor valor de RMSECV, conforme apresentado na figura 43.

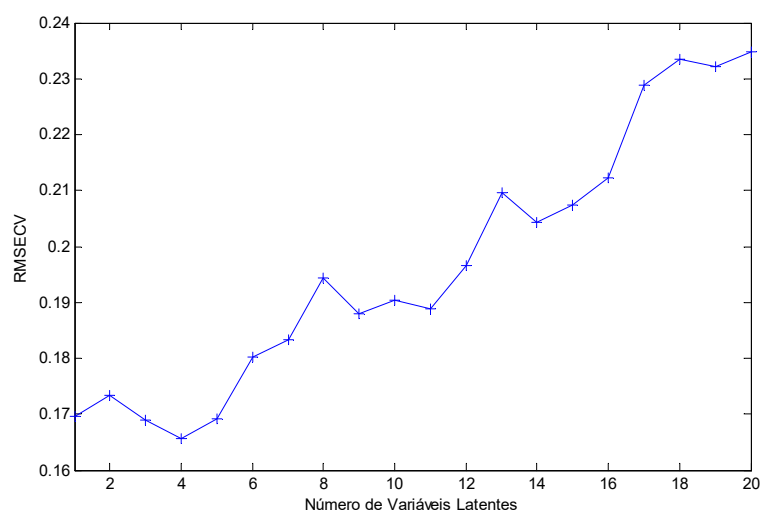


Figura 42 – Gráfico do número de VL contra RMSECV, obtido pelo modelo com o pré-tratamento MSC para ácido cítrico.

Na detecção de amostras anômalas pelo gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* (figura 44), uma amostra apresentou alto valor de *leverage* e resíduo de *Student* simultaneamente e duas amostras do conjunto de validação apresentaram altos valores de resíduos Q e T^2 de Hotelling, portanto, foram retiradas três amostras. Foi utilizado o limite de confiança de 95%. No modelo criado com a retirada das três amostras anômalas, foi repetido a retirada de mais duas amostras que apresentaram comportamento diferente das amostras restantes.

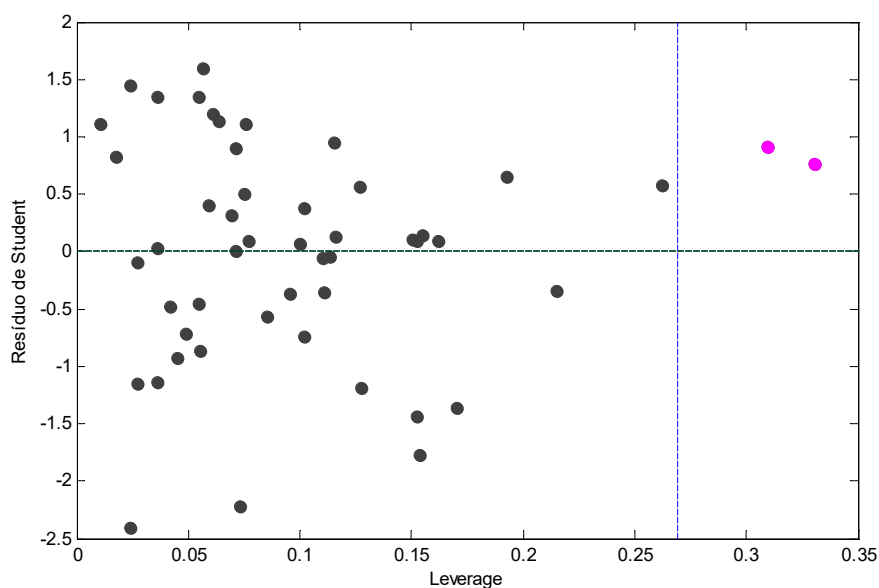


Figura 43 – Gráfico de *leverage* contra resíduo de *Student* para o modelo com o pré-tratamento MSC para ácido cítrico.

O novo modelo, com a retirada das amostras anômalas apresentou valores de RMSEC de 0,142 e RMSEP de 0,136, e valores de r_c de 0,509 e r_v de 0,569, com quatro variáveis latentes. A correlação entre os dados experimentais e os dados previstos é apresentada na figura 45, no gráfico dos valores experimentais contra os valores previstos. Conforme pode ser observado o modelo não apresentou correlação entre os dados tão boa quanto os modelos anteriores, principalmente com as amostras do conjunto de validação.

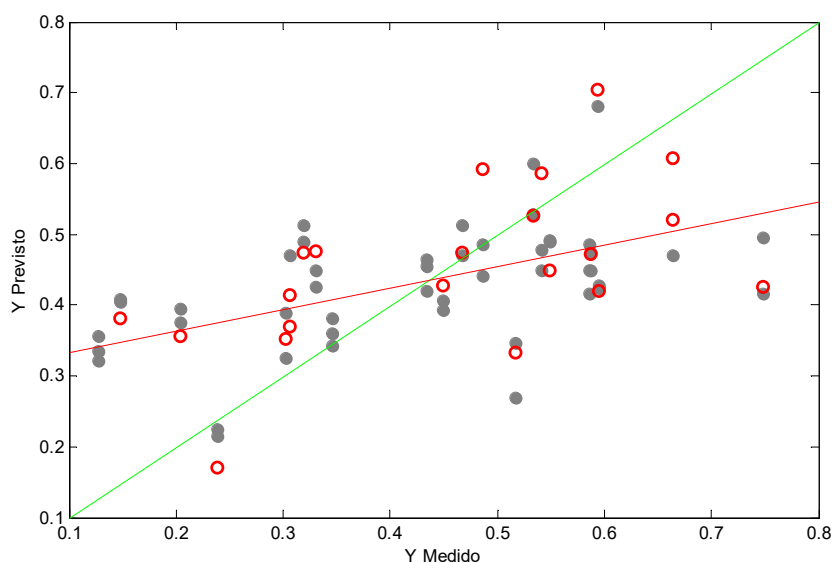


Figura 44 – Gráfico de valores experimentais contra valores previstos para o modelo pré-tratado com MSC para ácido cítrico (● – conjunto de calibração, ○ – conjunto de validação).

O modelo PLS-DA não foi utilizado para o ácido cítrico, pois os resultados obtidos com o modelo PLS não justificam a utilização do PLS-DA.

5.6.6. Comparação entre os modelos

Na tabela 24 está demonstrada a comparação entre os modelos criados. A partir da tabela, pode-se observar que o melhor modelo encontrado foi para o ácido clorogênico.

Tabela 24 – Comparação entre os modelos PLS criados.

| Modelo | Pré-tratamento | VL | RMSEC | r_c | RMSEP | r_v |
|--------------------------|----------------|----|-------|-------|-------|-------|
| Atributo acidez | MSC | 7 | 0,141 | 0,951 | 0,194 | 0,809 |
| Atributo aroma | Nenhum | 7 | 0,128 | 0,904 | 0,199 | 0,730 |
| Atributo sabor | SNV | 6 | 0,226 | 0,942 | 0,362 | 0,809 |
| Ácido Clorogênico | SNV | 5 | 0,035 | 0,979 | 0,048 | 0,962 |
| Ácido Cítrico | MSC | 4 | 0,137 | 0,518 | 0,139 | 0,593 |

MSC: correção multiplicativa de sinal; SNV: padronização normal de sinal; VL: variável latente; RMSEC: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de calibração; r_c : coeficiente de correlação da calibração; RMSEP: raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros da validação; r_v : coeficiente de correlação de validação.

Dessa forma, é possível inferir que a análise por espectroscopia NIR foi eficiente na quantificação e qualificação de ácido clorogênico em cafés comercializados em cápsulas. Além disso, o modelo encontrado através da análise cromatográfica deste composto foi melhor do que os modelos obtidos para classificação dos cafés pelos atributos sensoriais e pelo ácido cítrico. Este resultado pode indicar a precisão da análise por NIRS, já que a análise de referência feita por HPLC possui resultados confiáveis, mas também pode indicar incoerência na avaliação por meio dos provadores na análise sensorial, o que pode ocorrer pelo fato de terem sido treinados, mas não serem profissionais, ou pela subjetividade atribuída normalmente a análise sensorial realizada por provadores humanos. Foi observado também uma relação entre as amostras que receberam notas maiores com as amostras de maior concentração de ácido clorogênico, de forma que o modelo criado para este composto pode ser utilizado para inferir as notas sensoriais.

O potencial para utilização da espectroscopia NIR para análises de qualidade de café é grande, uma vez que é uma técnica simples e barata, não exigindo preparo de amostras, e podendo ser realizada em qualquer local por ser um equipamento pequeno e de fácil manuseio. Além disso, com o crescimento dos estudos sobre a quimiometria, a dificuldade de interpretação dos resultados obtidos pelo NIRS vem sendo solucionada, contribuindo ainda mais para sua utilização.

6. CONCLUSÃO

A análise exploratória dos espectros NIR, por PCA, promoveu uma separação entre as diferentes marcas de cafés analisadas, e também entre as diferentes intensidades descritas pelos fabricantes. Pela análise visual dos espectros foi possível identificar regiões e bandas características de ligações de CH e OH, principalmente, e outras, além da identificação visual de um espectro característico de amostras de café. A quantificação de ácido clorogênico (5-ACQ) e ácido cítrico por meio da cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada, apesar de que os métodos para análise de ácidos carboxílicos por HPLC ainda não serem bem estabelecidos. Os modelos PLS e PLS-DA, com a utilização de diferentes pré-tratamentos, foram criados para quantificação e classificação, respectivamente, para os atributos acidez, aroma e sabor analisados por provadores treinados, e para os compostos 5-ACQ e ácido cítrico. Os melhores modelos obtidos foram para quantificação e classificação de 5-ACQ apresentando boa correlação entre os dados, enquanto os modelos para os atributos sensoriais apresentaram uma boa correlação, porém, algumas amostras foram classificadas erradas, e para o composto ácido cítrico não foi possível obter um bom modelo o que sugere a não detecção deste composto pela espectroscopia NIR. Pela comparação dos modelos obtidos, foi possível observar o potencial em utilizar do modelo PLS-DA de ácido clorogênico para classificação das amostras de café quanto ao atributo acidez, mostrando que este composto está diretamente relacionado a acidez percebida pelos consumidores, e que a espectroscopia NIR é capaz diferenciá-lo entre as amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIC, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIA DE CAFÉ. **Café continua com elevada penetração e presença firme nos lares brasileiros, com crescimento acentuado do consumo em cápsulas.** [S.I.]. 2016.

AGNOLETTI, B. Z. et al. **Avaliação das propriedades físico-químicas de café arábica (*Coffea arabica*) e conilon (*Coffea canephora*) classificados quanto à qualidade da bebida.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - UFES. Alegre - ES, p. 110. 2015.

ALUKA, P. et al. The diversity of green bean biochemical compounds in robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) as evaluated by near infrared spectroscopy. **American Journal of Experimental Agriculture**, v. 12 (2), p. 1-13, 2016.

ÁLVARES, R. C.; RESENDE, P. D.; SILVINO, J. L. **Diagnóstico de Falhas em Pára-raios Utilizando Termografia.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) - UFMG. Belo Horizonte, p. 119. 2008.

ALVES, S. T. et al. Metodologia para análise simultânea de ácido nicotínico, trigonelina, ácido clorogênico e caféina em café torrado por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 29 (6), p. 1164-1168, 2006.

AOAC, A. O. O. A. C. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry.** -. [S.I.]. 2012.

BARBIN, D. F. et al. Application of infrared spectral techniques on quality and compositional attributes of coffee: An overview. **Food Research International**, v. 61, p. 23-32, 2014.

BLANC, M. Les acides carboxyliques du café - mise au point et résultats de différentes déterminations. **Association Scientifique Internationale du Café - ASIC, 8^o Colloque**, Abidjan, 1977. 73-78.

BOTELHO, B. G.; SENA, M. M. **Desenvolvimento e validação de métodos para análise direta de alimentos usando ferramentas quimiométricas, espectroscopia no infravermelho e imagens digitais.** Tese (Doutorado em Ciências) - UFMG. Belo Horizonte, p. 136. 2014.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 11 de junho de 2003. Dispõe de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru.** Brasília, p. 12. 2003.

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of near-infrared analysis.** 3. ed. London: CRC Press - Taylor & Francis Group, v. 35, 2007.

CARNEIREIRO, A. P. C.; FRANCA, A. S. **Classification and quantification of defective and non-defective coffees by FTIR and NIR spectroscopy.** Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - UFMG. Belo Horizonte. 2013.

CARVALHO, V. D. et al. Efeito do tipo de colheita e local de cultivo na composição físico-química e química do grão beneficiado de café. **Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Maringá, 1989. 23-24.

CHAGAS, S. J. D. R. **Caracterização química e qualitativa de cafés de alguns municípios de três regiões produtoras de Minas Gerais.** Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - UFLA. Lavras, p. 83. 1994.

CIOLA, R. **Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho: HPLC.** 1. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1998.

CLARKE, R. J. Water and Mineral contents. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee: chemistry.** [S.l.]: New York: Elsevier Applied Science, v. 1, 1985. Cap. 2, p. 42-81.

CLIFFORD, M. N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: CLIFFORD, M. N.; WILSON, K. C. **Coffee Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage.** London & Sidney: Beckernham (Kent): Croom helm, 1985. Cap. 13, p. 305-374.

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, v. 26 (2), p. 375-384, 2002.

CONLEY, R. T. **Infrared Spectroscopy.** Boston: Allyn and Bacon, 1966.

DIBY, L. et al. Tea, Coffe and Cocoa. In: _____ **Encyclopedia of Applied Plant Sciences.** 2a. ed. USA: Elsevier, v. 3, 2017. p. 420-425.

EUGÊNIO, M. H. A.; PEREIRA, R. G. F. A. **Blends de cafés arábica e conilon: avaliações físicas, químicas e sensoriais**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - UFLA. Lavras - MG, p. 111. 2010.

FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, v. 98, p. 373-380, 2006.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: Conceitos, Métodos e Aplicações**. Campinas, SP: Unicamp, 2015.

FILHO, T. L. et al. Características físico-químicas de bebidas de café tipo expresso preparadas a partir de blends de café arábica e conilon. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 62 (4), p. 333-339, 2015.

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

FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Potential uses of fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) in food processing and engineering. In: SIEGLER, B. C. **Food Engineering**. [S.l.]: Nova Science Publishers, Inc., 2011. Cap. 4, p. 211-257.

FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. D. Coffee. In: FRANCA, A. S.; NOLLET, L. **Spectroscopic Methods in Food Analysis**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, v. 1, 2017. Cap. 19, p. 487-510.

GENISHEVA, Z. et al. New PLS analysis approach to wine volatile compounds characterization by near infrared spectroscopy (NIR). **Food Chemistry**, v. 246, p. 172-178, 2018.

GLOESS, A. N. et al. Comparison of nine common coffee extraction methods: instrumental and sensory analysis. **Eur Food Res Technol**, v. 236, p. 607-627, 2013.

HUANG, Y.; LU, R.; CHEN, K. Prediction of firmness parameters of tomatoes by portable visible and near-infrared spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 222, p. 185-198, 2018.

ICO, I. C. O. Exports of all forms of coffee by all exporting countries, 2017. Disponível em: <<http://www.ico.org/>>. Acesso em: 2017.

JHAM, G. N. et al. Comparison of GC and HPLC for the quantification of organic acids in coffee. **Phytochemical Analysis**, v. 13, p. 99-104, 2002.

JIANG, H.; CHEN, Q. Chemometric models for the quantitative descriptive sensory properties of green tea (*Camellia sinensis* L.) using fourier transform near infrared (FT-NIR) spectrsocopy. **Food Anal. Methods**, v. 8, p. 954-962, 2015.

KENNARD, R. W.; STONE, L. A. Computer Aided Design of Experiments. **Techometrics**, v. 11, p. 137-148, 1969.

KOWALSKI, B. R. Chemometrics: Views and Propositions. **J. Chem. Inf. Comp. Sci.**, v. 15, p. 201-203, 1975.

LEÃO, D. P. **Farinhas de casca de pequi: caracterização físico-química, perfil de fenólicos, antioxidantes e avaliação do potencial como fonte de pectina via extração por micro-ondas**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - UFMG. Belo Horizonte, p. 129. 2017.

LIMA, L. L. D. A. et al. Otimização e validação de método para determinação de ácidos orgânicos em vinhos por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 33 (5), p. 1186-1189, 2010.

LIMA, M. S. B. D.; MOURA, M. D. F. V.; SILVA, H. E. B. **Utilização da espectroscopia no infravermelho próximo para o controle de qualidade do camarão (*Litopenaeus Vannamei*)**. Tese (Doutorado em Química) - UFRN. Natal, RN, p. 104. 2015.

LOPES, G. R. et al. Carbohydrate content, dietary fibre and melanoidins: composition of espresso from single-dose coffee capsules. **Food Reserach International**, 2016.

LOPES, L. M. V.; PEREIRA, R. G. F. A. **Avaliação da qualidade de grãos crus e torrados de cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - UFLA. Lavras, p. 103. 2000.

MADEIRA, T. B. et al. Espectroscopia de infravermelho próximo e quimiometria: potencial para controle de qualidade de cafés. **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, Curitiba - PR, 24 a 26 Junho 2015.

MAIER, H. G. Les Acides du Café. **Café Cacao Thé**, v. 31 (1), p. 49-58, 1987.

MARETTO, C.; STURION, G. L. **Cafés da espécie Coffea arabica L. produzidos no Circuito das Águas Paulista: caracterização física, química e sensorial.** Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, p. 141. 2016.

MARQUES, T. V.; BERTAZZOLI, R. **Desenvolvimento e validação de método analítico empregando DLLME e HPLC/UV para determinação de benzodiazepínicos em amostra de água.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - UNICAMP. Campinas, SP. 2014.

MARQUETTI, I. et al. Partial least square with discriminant analysis and near infrared spectroscopy for evaluation of geographic and genotypic origin of arabica coffee. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 121, p. 313-319, 2016.

MARTINEZ, H. E. P. et al. Zinc supplementation, production and quality of coffee beans. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 60 (2), p. 293-299, 2013.

MARTINS, A. L. **História do Café.** 2a. ed. São Paulo: Contexto, 2012.

MASSON, M. et al. Beyond sensory characteristics, how can we identify subjective dimensions? A comparison of six qualitative methods relative to a case study on coffee cups. **Food Quality and Preference**, v. 47, p. 156-165, 2016.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V. **Sensory Evaluation Techniques.** 4. ed. [S.l.]: CRC Press - Taylor & Francis Group, 2006.

MENDES, L. C.; MENEZES, H. C. **Estudos para determinação das melhores formulações de blends de café arábica (C. arábica) com café robusta (C. canephora Conilon) para uso no setor de cafés torrados e moídos espresso.** Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2005.

MORRIS, J. Why espresso? Explaining changes in European coffee preferences from a production of culture perspective. **European Review of History**, v. 20 (5), p. 881-901, 2013.

MOSCETTI, R. et al. Real-time monitoring of organic apple (var. Gala) during hot-air drying using near-infrared spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 222, p. 139-150, 2018.

OLIVEIRA, L. S. D.; FRANCA, A. S. Applications of Near Infrared Spectroscopy (NIRS) in Food Quality Evaluation. In: MEDINA, D. A.; LAINE, A. M. **Food Quality: Control, Analysis and Consumer Concerns**. New York: Nova Publishers, 2011. Cap. 3, p. 131-179.

PEISINO, F. M. et al. Caracterização e avaliação de pH, acidez titulável e extrato aquoso de cafés finos por estratos de altitude. **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, Curitiba - PR, 24 a 26 Junho 2015.

PEREIRA, M. C. et al. Multivariate analysis of sensory characteristics of coffee grains (*Coffea arabica* L.) in the region of upper Paranaíba. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 32 (4), p. 635-641, 2010.

PEREIRA, M. C.; SOUZA, S. M. C. **Características químicas, físico-químicas e sensorial de genótipos de grãos de café (*Coffea arabica* L.)**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - UFLA. Lavras - MG, p. 101. 2008.

PIMENTA, C. J.; VIVLELA, R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras-MG. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, n. Especial, p. 1481-1491, Dezembro 2002.

PORTO, C. et al. Study on the physical and physicochemical changes in coffee beans during roasting. Note 2. **Italian Journal of Food Science**, v. 3, p. 197-207, 1991.

RAMOS, R. R.; MENDES, M. A. **Desenvolvimento de uma metodologia de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para análise SARA de petróleo**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 84. 2014.

REIS, N.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. D. **Avaliação de adulteração em café torrado e moído por espectroscopia no infravermelho médio e ressonância magnética nuclear**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - UFMG. Belo Horizonte. 2016.

RIBEIRO, J. S.; FERREIRA, M. M. C.; AUGUSTO, F. **Previsão de diferentes atributos sensoriais ligados à qualidade do café arábica brasileiro utilizando-se métodos analíticos distintos e ferramentas quimiométricas**. Tese (Doutorado em Ciências) - UNICAMP. Campinas, p. 354. 2009.

RIBEIRO, J. S.; FERREIRA, M. M. C.; SALVA, T. J. G. Chemometric models for the quantitative descriptive sensory analysis of Arabica coffee beverages using near infrared spectroscopy. **Talanta**, v. 83, p. 1352-1358, 2011.

SALAMANCA, A. C. et al. Extraction of espresso coffee by using gradient of temperature. Effect on physicochemical and sensorial characteristics of espresso. **Food Chemistry**, v. 214, p. 622-630, 2017.

SANTOS, J. R. et al. Exploiting near infrared spectroscopy as an analytical tool for on-line monitoring of acidity during coffee roasting. **Food Control**, v. 60, p. 408-415, 2016.

SANTOS, J. R. et al. In-line monitoring of the coffee roasting process with near infrared spectroscopy: Measurement of sucrose and colour. **Food Chemistry**, v. 208, p. 103-110, 2016.

SANTOS, M. C. S.; MELO, W. C. **Utilização da espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e quimiometria na identificação de café torrado e moído adulterado**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - UFLA. Lavras, p. 65. 2005.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M. J. E. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. **Anal. Chem.**, v. 36, p. 1627-1639, 1964.

SCAA - SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. **Protocolo para análise sensorial de café**. TSC-SCAA (Comitê de Normas Técnicas da SCAA). [S.l.], p. 13. 2008.

SHAN, J. et al. Chlorogenic acid (CGA) determination in roasted coffee beans by Near Infrared (NIR) spectroscopy. **Engineering in Agriculture, Environment and Food**, v. 7, p. 139-142, 2014.

SIESLER, H. W. Basic Principles of Near-Infrared Spectroscopy. In: _____ **Handbook of Near-Infrared Analysis**. [S.l.]: [s.n.], 2007. p. 7-19.

SILVA , P. P. M. D.; SPOTO, M. H. F. **Conservação de polap de juçara (*Euterpe edulis*) submetida à radiação gama, pasteurização, liofilização e atomização.** Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo. Piracicaba, p. 259. 2013.

SILVERSTEIN, M. R.; WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 6. ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos, 1998. 490 p.

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**, Lavras, v. 30 (1), p. 112-117, 2006.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NEIMAM, T. A. **Princípios de Análise Instrumental.** 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. **Fundamentals of Analytical Chemistry.** 5. ed. [S.l.]: [s.n.], 1988. 894 p.

SMITH, A. W. Introduction. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee: chemistry.** [S.l.]: New York: Elsevier Applied Science, v. 1, 1985. Cap. 1, p. 1-41.

SOUZA, R. M. N. D. et al. Teores de compostos bioativos em cafés torrados e moídos comerciais. **Química Nova**, v. 33 (4), p. 885-890, 2010.

STEEN, I. et al. Influence of serving temperature on flavour perception and release of Bourbon Caturra coffee. **Food Chemistry**, v. 219, p. 61-68, 2017.

STONE , H. et al. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, v. 28 (11), p. 24-34, 1974.

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices.** [S.l.]: New York: Academic Press, 1993. 338 p.

TEIXEIRA, O. R.; PASSOS, F. R.; MENDES, F. Q. Qualidade físico-química e microscópica de 14 marcas comerciais de café torrado e moído. **Coffe Science**, Lavras, v. 11 (3), p. 395-402, 2016.

TEÓFILO, R. F.; MARTINS, J. P. A.; FERREIRA, M. M. C. Sorting variables by using informative vectors as a strategy for feature selection in multivariate regression. **Journal of Chemometrics**, v. 23 (1), p. 32-48, 2008.

TOLESSA, K. et al. Prediction of specialty coffee cup quality based on near infrared spectra of green coffee beans. **Talanta**, v. 150, p. 367-374, 2016.

WANG , X. et al. Effects of capsule parameters on coffee extraction in single-serve brewer. **Food Research International**, v. 89, p. 797-805, 2016.

WOODMAN, J. S. Carboxylic Acids. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee: Chemistry**. London and New York: Elsevier Applied Science, v. 1, 1985. Cap. 8.

WORKMAN, J.; WEYER, L. Practical Guide to Interpretive Near-Infrared Spectroscopy. **Angew. Chem. Int.** , v. 47, p. 4628-4629, 2008.

YANG, Y. et al. Rapid classification of intact chicken breast fillets by predicting principal component score of quality traits with visible/near-Infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 244, p. 184-189, 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.

APÊNDICE

APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO PRELIMINAR PARA ANÁLISE SENSORIAL

ANÁLISE SENSORIAL DE CAFÉ ESPRESSO

Questionário Preliminar

Você está sendo convidado a participar de uma análise sensorial de cafés em cápsula, como um provador treinado. A pesquisa será realizada em duas etapas: treinamento e análise sensorial. Para participar é necessário ter disponibilidade para provar os cafés por um período de 2 meses, com a frequência de 2 a 3 vezes por semana em sessões de 1 hora. Os horários das sessões serão discutidos com o grupo selecionado. Favor responder ao questionário abaixo, e em caso de dúvida entrar em contato com o responsável.

Informações Pessoais:

Nome: _____ Sexo: () M () F

Idade: _____ E-mail: _____

Telefone: _____

1. Há algum dia da semana (segunda a sexta) que você não estará disponível regularmente? _____
2. Você possui:
 - a. Diabetes: _____
 - b. Hipoglicemia: _____
 - c. Alergia a alimentos: _____
 - d. Hipertensão: _____
 - e. Doenças bucais: _____
3. Você toma algum medicamento que poderia afetar sua capacidade em perceber odores e sabores?

4. Você está em alguma dieta restritiva? Se sim, explique.

5. Você consome café regularmente?

6. Com que frequência você consome café?

- a. Diariamente ()
- b. Duas a três vezes por semana ()
- c. Menos de duas vezes por semana ()
- d. Nenhuma vez por semana ()

7. Quais alimentos você não pode ingerir?

8. Quais alimentos você não gosta de ingerir?

9. Classifique a sua habilidade para perceber aromas e sabores:

a. Aroma

() Alta () Média () Baixa

b. Sabor

() Alta () Média () Baixa

10. Como você descreve a diferença entre sabor e aroma?

11. Descreva alguns dos sabores notáveis em castanhas.

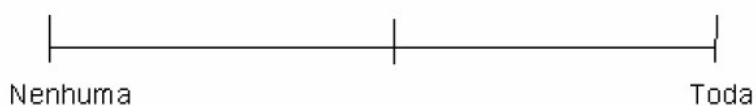
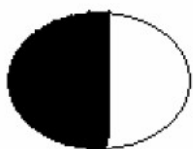
12. Descreva alguns dos sabores notáveis em refrigerante tipo cola.

13. Descreva alguns dos sabores notáveis em café.

14. Descreva alguns sabores notáveis em chocolate.

15. Marque na linha ao lado de cada figura, um trecho que indique a proporção da figura que foi hachurada (utilize apenas sua capacidade visual)

Exemplos:

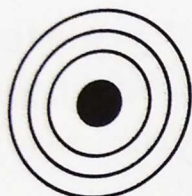


1.



None |-----| All

2.

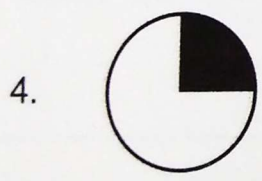


None |-----| All

3.



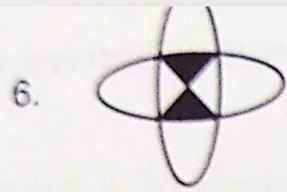
None |-----| All



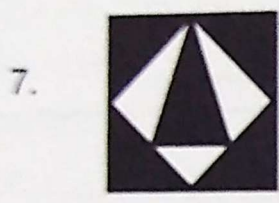
None |-----| All



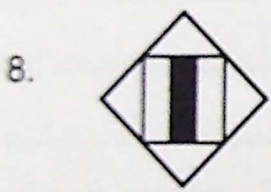
None |-----| All



None |-----| All



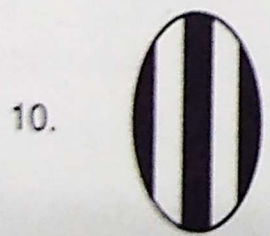
None |-----| All



None |-----| All



None |-----| All



None |-----| All

APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu _____, RG _____, sexo _____, estado civil _____, idade ____ anos, residente na _____, n° _____, bairro _____, cidade _____, CEP _____, telefone _____, e-mail _____,

Declaro ter sido esclarecido sobre os seguintes pontos:

1. O projeto de pesquisa é intitulado “Métodos de avaliação de qualidade de cafés torrados e moídos: comparação entre análise sensorial e espectroscopia na faixa do infravermelho médio”;
2. O projeto tem por finalidade utilizar a espectroscopia no infravermelho e a análise sensorial para diferenciar cafés comercializados em cápsulas de diferentes marcas e origem, por suas características de acidez;
3. Como voluntário deste estudo, terei que participar do teste descritivo de cafés em cápsula e informar o resultado conforme ficha apropriada;
4. Precisaréi comparecer ao local informado para a realização dos testes sensoriais;
5. A minha participação como voluntário na análise sensorial terá duração de até 1 mês e meio, com frequência de 2 a 3 vezes por semana (12 sessões);
6. Os riscos ou desconfortos aos quais estarei submetido ao participar dessa pesquisa são mínimos;
7. Não terei nenhuma despesa ao participar desse estudo;
8. Meu nome será mantido em sigilo, assegurando assim minha privacidade.
9. Poderei me recusar a participar ou retirar meu consentimento a qualquer momento da realização da pesquisa, sem nenhum prejuízo ou penalização;
10. Para qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos, poderei entrar em contato com o pesquisador responsável (**Mariana Helena Cardoso Costa, tel. (31) 98910-7520, e-mail maricardoso.ae@gmail.com**);
11. Para notificação de qualquer situação, relacionada com a ética, que não puder ser esclarecida pelos pesquisadores deverei entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa 5093 - Centro Universitário de Belo Horizonte/UNI-BH, pelo telefone (31) 3319-9254.

Diante dos esclarecimentos prestados, declaro que é de livre e espontânea vontade que estou participando como voluntário da pesquisa. Declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas.

Belo Horizonte, ____ de _____ de 2017.

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE C – FICHAS DE AVALIAÇÃO UTILIZADA NOS TESTES SENSORIAIS

FICHA 1 – TESTE DE CORRESPONDÊNCIA.

Nome: _____

Você está recebendo dois conjuntos de amostras. O primeiro conjunto contém 4 amostras, prove-as da esquerda para a direita e descreva cada amostra. O segundo conjunto contém 8 amostras com características idênticas ao primeiro conjunto. Prove-as da esquerda para a direita e identifique a qual amostra do primeiro conjunto ela pertence. OBS: não é obrigatório ingerir as amostras.

| <u>Primeiro Conjunto</u> | <u>Descrição</u> | <u>Segundo Conjunto</u> |
|--------------------------|------------------|-------------------------|
| _____ | _____ | _____ |
| _____ | _____ | _____ |
| _____ | _____ | _____ |
| _____ | _____ | _____ |

FICHA 2 – TESTE DE DETECÇÃO.

Nome: _____

Você está recebendo três amostras codificadas aleatoriamente. Prove-as da esquerda para a direita e circule a amostra que difere das demais. OBS: não é obrigatório ingerir.

| | | | |
|----|-------|-------|-------|
| 1) | _____ | _____ | _____ |
| 2) | _____ | _____ | _____ |
| 3) | _____ | _____ | _____ |
| 4) | _____ | _____ | _____ |
| 5) | _____ | _____ | _____ |
| 6) | _____ | _____ | _____ |

FICHA 3 – TESTE DE RANQUEAMENTO.

Nome: _____

Você está recebendo quatro amostras codificadas aleatoriamente. Prove-as da esquerda para a direita e ordene de forma crescente de acordo com a intensidade observada. OBS: não é obrigatório ingerir.

Menos Intenso Mais intenso

Comentário: _____

FICHA 4 – FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DE CAFÉ

| | | |
|--|--|---|
| <p>Nome:</p> <p>Classifique a amostra de acordo com a escala a seguir para os atributos aroma, sabor e acidez.</p> <p>Código da amostra: _____</p> | | |
| <p>Aroma 1() 2() 3() 4() 5()</p> | <p>Sabor 1() 2() 3() 4() 5()</p> | <p>Acidez 1() 2() 3() 4() 5()</p> |
| <p>Descritores: Cereal, Chocolate, Amêndoas, Floral, Frutado, Condimentado. Outro:</p> | <p>Descritores: Cereal, Chocolate, Amêndoas, Caramelo, Floral, Frutado, Amadeirado, Condimentado. Outro:</p> | |